






Universitat Autònoma de Barcelona

**ADVERTIMENT.** L'accés als continguts d'aquesta tesi queda condicionat a l'acceptació de les condicions d'ús establertes per la següent llicència Creative Commons:  [http://cat.creativecommons.org/?page\\_id=184](http://cat.creativecommons.org/?page_id=184)

**ADVERTENCIA.** El acceso a los contenidos de esta tesis queda condicionado a la aceptación de las condiciones de uso establecidas por la siguiente licencia Creative Commons:  <http://es.creativecommons.org/blog/licencias/>

**WARNING.** The access to the contents of this doctoral thesis it is limited to the acceptance of the use conditions set by the following Creative Commons license:  <https://creativecommons.org/licenses/?lang=en>



**Universitat Autònoma de Barcelona**

**Validez de las pruebas de diagnóstico rápido y de Ensayo por Inmunoabsorción Ligado a Enzimas (ELISA) para detectar la infección crónica por *Trypanosoma cruzi***

**Sandra Helena Suescún Carrero**



**Universitat Autònoma de Barcelona**

**TESIS DOCTORAL**

**Validez de las pruebas de diagnóstico rápido y de Ensayo por Inmunoabsorción Ligado a Enzimas (ELISA) para detectar la infección crónica por *Trypanosoma cruzi***

**Sandra Helena Suescún Carrero**

Trabajo realizado bajo la dirección de

**Dr. Lluís Armadans Gil**

Tutora:

Dra. María Esteve

**Departamento de Pediatría, de Obstetricia y Ginecología y de Medicina Preventiva y Salud Pública**

**Programa de Doctorado en metodología de la investigación biomédica y salud pública**

**UNIVERSITAT AUTÓNOMA DE BARCELONA**

Barcelona, 2021

## **Memoria para aspirar al Grado de Doctor**

**Bajo la dirección de:**

**Dr. Lluís Armadans Gil**

**Director de Tesis**

Servicio de Medicina Preventiva

Hospital Universitari Vall d'Hebron

Universitat Autònoma de Barcelona

Barcelona

## **Autorización del Director de Tesis**

**Dr. Lluís Armadans Gil**

## **CERTIFICA**

Que el presente trabajo de investigación titulado: “**Validez de las pruebas de diagnóstico rápido y de Ensayo por Inmunoabsorción Ligado a Enzimas ELISA) para detectar la infección crónica por *Trypanosoma cruzi*** y, presentado por la doctoranda Sandra Helena Suescún Carrero, para optar al grado de doctor en metodología de la investigación biomédica y salud pública, ha sido realizado bajo mi dirección y cumple las condiciones exigidas para ser presentado y defendido como Tesis Doctoral ante el tribunal que corresponda.

Y para que quede constancia a los efectos oportunos, firmo la presente en Barcelona, 2021.

Dr. Lluís Armadans Gil

**Dedicatoria**

*a Isabella, Alejandra y Edward*

## **AGRADECIMIENTOS**

A mi familia por el apoyo brindado durante el tiempo de la realización del doctorado, por el acompañamiento en el desarrollo del trabajo, a mi esposo por la guía en las salidas de campo. A mis hijas que son el motor de mi vida, por la ayuda en el proceso y la enseñanza que desde sus conocimientos ellas me brindaron.

Al Dr. Lluís Armadans, por toda la asesoría, ayuda y orientación a lo largo de las diferentes etapas del desarrollo del proyecto, mi agradecimiento por su amabilidad y comprensión. A la Dra. María Esteve Pardo por su orientación y tutoría en el desarrollo del doctorado.

A los pacientes que participaron en el proyecto porque sin ellos no se hubiera podido desarrollar el trabajo que es importante para el diagnóstico de esta enfermedad que en algunas zonas endémicas esta olvidada.

## ABREVIATURAS

- **BNZ:** Benznidazol
- **CDP:** Detect Plus InBios
- **CSP:** Chagas Stat-Pak
- **DIC:** Deviance Information Criterion
- **DOR:** Odds ratio diagnóstica
- **DTU:** Unidades de Tipificación Discreta
- **EA:** Efectos aleatorios
- **EC:** Enfermedad de Chagas
- **ELISA:** Enzimoimmunoanálisis
- **GS:** Gold standar
- **GSI:** Gold standar imperfect
- **HAI:** Hemaglutinación indirecta
- **IC:** Intervalo de confianza
- **IFI:** Inmunofluorescencia indirecta
- **LDSP:** Laboratorio Departamental de Salud Pública
- **MQC:** Material para Control de Calidad
- **NFX:** Nifurtimox
- **OMS:** Organización Mundial de la Salud.
- **PDR's:** Pruebas de diagnóstico rápido
- **QUADAS-2:** Quality Assessment of Diagnostic Accuracy Studies-2
- **SROC:** Summary ROC curves
- **WB:** Western-blot



## ÍNDICE

<b>1. INTRODUCCIÓN</b> .....	<b>15</b>
1.1 <i>Trypanosoma cruzi</i> .....	16
1.2 Vías de transmisión .....	18
1.3 Patogenia .....	18
1.4 Manifestaciones clínicas.....	19
1.5. Epidemiología .....	19
1.6. Diagnóstico.....	21
1.6.1. Diagnóstico parasitológico .....	22
1.6.2. Diagnóstico serológico .....	22
1.6.2.1 Métodos convencionales.....	23
1.6.2.2. Métodos no convencionales .....	24
1.6.2.3. Pruebas rápidas .....	25
1.6.3 Diagnóstico molecular .....	25
1.7 Tratamiento.....	27
1.8 Control .....	27
<b>2. JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS</b> .....	<b>29</b>
2.1. Justificación del estudio .....	30
2.2. Objetivos capítulo 1 .....	31
2.2.1. Objetivo general: .....	31
2.2.2. Objetivos específicos:.....	31
2.3. Objetivos capítulo 2: .....	31
2.3.1. Objetivo general: .....	32
2.3.2. Objetivos específicos:.....	32
<b>3. MÉTODOS</b> .....	<b>33</b>
3.1. Capítulo 1:.....	34
3.1.1. Estrategia de búsqueda .....	34
3.1.2. Selección de estudios .....	34
3.1.3. Extracción de datos. ....	35
3.1.4. Evaluación de la calidad metodológica .....	36

3.1.5. Análisis de datos .....	36
3.2. Capítulo 2:.....	38
3.2.1. Diseño del estudio, ubicación y muestreo de los participantes. ....	38
3.2.2. Pruebas serológicas convencionales y Pruebas de Diagnóstico Rápido (PDRs) .....	39
3.2.3. Análisis de datos .....	40
3.2.4. Aspectos éticos .....	40
<b>4. RESULTADOS .....</b>	<b>42</b>
4.1. Capítulo 1:.....	43
4.1.1. Selección de Estudios.....	43
4.1.2. Características de los estudios .....	44
4.1.3. Evaluación de la calidad metodológica .....	67
4.1.4. Sensibilidad y Especificidad de las pruebas ELISA.....	69
4.1.6. Sensibilidad y Especificidad de las pruebas PDR .....	71
4.1.8. Sensibilidad y especificidad de acuerdo a subgrupos .....	74
4.1.9. Heterogeneidad .....	75
4.1.5. Análisis de observaciones influyentes .....	77
4.1.10. Sesgo de publicación .....	78
4.2. Capítulo 2:.....	79
4.2.1. Flujo y características demográficas de los participantes .....	79
4.2.2. Evaluación de las Pruebas serológicas convencionales .....	82
4.2.3. Evaluación de las PDRs .....	83
<b>5. DISCUSIÓN .....</b>	<b>85</b>
5.1. Capítulo 1:.....	86
5.2. Capítulo 2:.....	90
<b>6. CONCLUSIONES.....</b>	<b>96</b>
6.1. Capítulo 1:.....	97
6.2. Capítulo 2:.....	97
<b>7. BIBLIOGRAFÍA.....</b>	<b>99</b>
<b>ANEXOS.....</b>	<b>114</b>

## RESUMEN

### Capítulo 1:

El objetivo del trabajo fue determinar la validez diagnóstica de las PDR's y del ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas (ELISA) entre individuos que presentan sospecha de enfermedad de Chagas. Se realizó una búsqueda en las bases de datos PubMed, LILACS, WOS y SCOPUS. Se incluyeron artículos con tipo de estudio comparativos y no comparativos en idioma inglés, español o portugués. Se empleó un análisis de subgrupos y una metarregresión para identificar las fuentes de heterogeneidad. La herramienta QUADAS-2 se utilizó para evaluar la calidad de los estudios y el test de asimetría de Deeks para evaluar el sesgo de publicación. Los resultados se expresaron gráficamente trazando las estimaciones de sensibilidad y especificidad e intervalos de confianza (IC) 95% con forest-plots. Se incluyeron 43 estudios, 27 evaluaron pruebas ELISA, 14 PDR y dos evaluaron los dos tipos de pruebas. La sensibilidad y la especificidad combinadas de las ELISA fue 99% (IC95% 98 – 99) y 98% (IC95% 97 – 99) y de las PDR`s 95% (IC95% 94 - 97) y 97% (IC95% 96 – 98) respectivamente. En el test ELISA, las estimaciones de la sensibilidad por subgrupos fueron similares, el subgrupo de bajo riesgo de sesgo fue el que presentó una menor especificidad y el de zona no endémica el que presentó reportó la mayor. En las PDR la especificidad fue mayor para el diseño comparativo que para el no comparativo, y la sensibilidad fue mayor para el subgrupo de diseño no comparativo que para el de diseño comparativo. Se detectó sesgo de publicación para las pruebas ELISA (p-valor<0.01), pero no para las PDR (p-valor=0.64). La prueba ELISA y PDR son tests diagnósticos con una validez elevada para el diagnóstico de la EC crónico, y presentan una excelente utilidad diagnóstica para la detección precoz de infección por T cruzi.

## Capítulo 2:

El objetivo del trabajo fue evaluar la validez diagnóstica de dos pruebas de diagnóstico rápido (PDR's) en pacientes con sospecha de enfermedad de Chagas crónica. Se presenta un estudio prospectivo, los criterios de inclusión fueron ser mayor de 3 años de edad, haber firmado el consentimiento informado y como criterio de exclusión haber recibido tratamiento previamente para la infección de *T. cruzi*. La población de estudio fueron los participantes que asistieron a las actividades de cribado realizadas en zona rural y urbana en el departamento de Boyacá, Colombia. A todos los participantes se les realizó dos PDR's: Chagas Detect Plus InBios CDP y Chagas Stat-Pak CSP y como estándar de referencia los test ELISA Chagas III GrupoBios y Chagas ELISA IgG+IgM I Vircell. En caso de resultados discordantes en las dos pruebas de ELISA, se realizó indirect immunofluorescence. Se incluyeron 305 personas (38 pacientes con leishmaniasis), de los cuales 215 fueron negativos para *T. cruzi* y 90 positivos según el estándar de referencia. La sensibilidad de las PDR's fue 100% (CI 95% 95.9 – 100), la especificidad de CDP 99,1% (CI 95% 96.6 – 99.8) y de CSP 100% (CI 95% 98.3 – 100). La concordancia de CDP fue de 99.5% y la de CSP 100% con un valor de Kappa ( $k=99.1$ ; CI 95% 92.6-99.8%) y ( $k=100$ ; CI 95% 94.3-100) respectivamente. No presentaron reacción cruzada con las muestras de pacientes positivos para leishmaniasis. Los hallazgos del presente estudio muestran los excelentes resultados de las PDR's en cuanto a validez, seguridad y reproducibilidad. Los resultados obtenidos respaldan la recomendación de utilizar estas pruebas en el contexto epidemiológico colombiano en áreas endémicas, en las que no se tienen o son escasas las instalaciones de laboratorio para realizar el diagnóstico por pruebas convencionales y ayudar a diagnosticar la enfermedad y así mejorar el acceso al tratamiento lo antes posible.

## ABSTRACT

### Capítulo 1:

The objective of the work was to determine the diagnostic validity of the PDR's and the enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) among individuals with suspected Chagas disease. A search was carried out in the PubMed, LILACS, WOS and SCOPUS databases. Comparative and non-comparative study type articles were included in English, Spanish or Portuguese. Subgroup analysis and meta-regression were used to identify sources of heterogeneity. The QUADAS-2 tool was used to assess the quality of the studies and the Deeks asymmetry test to assess publication bias. The results were expressed graphically by plotting the estimates of sensitivity and specificity and 95% confidence intervals (CI) with forest-plots. Forty-three studies were included, 27 evaluated ELISA tests, 14 PDRs and two evaluated both types of tests. The combined sensitivity and specificity of the ELISAs was 99% (95% CI 98-99) and 98% (95% CI 97-99) and of the PDR's 95% (95% CI 94-97) and 97% (95% CI 96-98) respectively. In the ELISA test, the sensitivity estimates by subgroups were similar, the subgroup at low risk of bias was the one with the lowest specificity and the non-endemic area the one with the highest. In the PDRs, the specificity was higher for the comparative design than for the non-comparative design, and the sensitivity was higher for the non-comparative design subgroup than for the comparative design. Publication bias was detected for the ELISA tests ( $p$ -value  $<0.01$ ), but not for the PDRs ( $p$ -value = 0.64). The ELISA and PDR tests are highly valid diagnostic tests for the diagnosis of chronic CD, and have excellent diagnostic utility for the early detection of *T. cruzi* infection.

## Capítulo 2:

The objective of the work was to evaluate the diagnostic validity of two rapid diagnostic tests (PDR's) in patients with suspected chronic Chagas disease. A prospective study is presented; the inclusion criteria were being over 3 years of age, having signed the informed consent and as exclusion criteria having previously received treatment for *T. cruzi* infection. The study population was the participants who attended the screening activities carried out in rural and urban areas in the department of Boyacá, Colombia. Two PDRs were performed on all participants: Chagas Detect Plus InBios CDP and Chagas Stat-Pak CSP and as a reference standard the Chagas III GrupoBios ELISA and Chagas ELISA IgG + IgM I Vircell tests. In case of discordant results in the two ELISA tests, indirect immunofluorescence was performed. 305 people (38 patients with leishmaniasis) were included, of which 215 were negative for *T. cruzi* and 90 positive according to the reference standard. The sensitivity of the PDR's was 100% (CI 95% 95.9-100), the specificity of CDP 99.1% (CI 95% 96.6-99.8) and CSP 100% (CI 95% 98.3-100). The agreement of CDP was 99.5% and that of CSP 100% with a Kappa value ( $k = 99.1$ ; CI 95% 92.6-99.8%) and ( $k = 100$ ; CI 95% 94.3-100) respectively. They did not cross-react with the samples from patients positive for leishmaniasis. The findings of the present study show the excellent results of the PDR's in terms of validity, safety and reproducibility. The results obtained support the recommendation to use these tests in the Colombian epidemiological context in endemic areas, where there are no or few laboratory facilities to perform the diagnosis by conventional tests and help diagnose the disease and thus improve access to treatment as soon as possible.

## **PRESENTACIÓN**

El documento de esta Tesis Doctoral está estructurado siguiendo las directrices de la normativa de las Consideraciones para la elaboración de la tesis doctoral aprobadas el 28 de septiembre de 2017 por la Comissió Acadèmica de Medicina y modificadas en 31 de enero de 2019, en lo que respecta a los criterios formales y criterios de contenido especificados, y recogidos en tanto en el Artículo 358 formato de la tesis doctoral (artículo modificado por acuerdo del Consejo de Gobierno de 19 de marzo de 2015) de la normativa del RD99/2011, del programa de doctorado de la Universitat Autònoma de Barcelona.

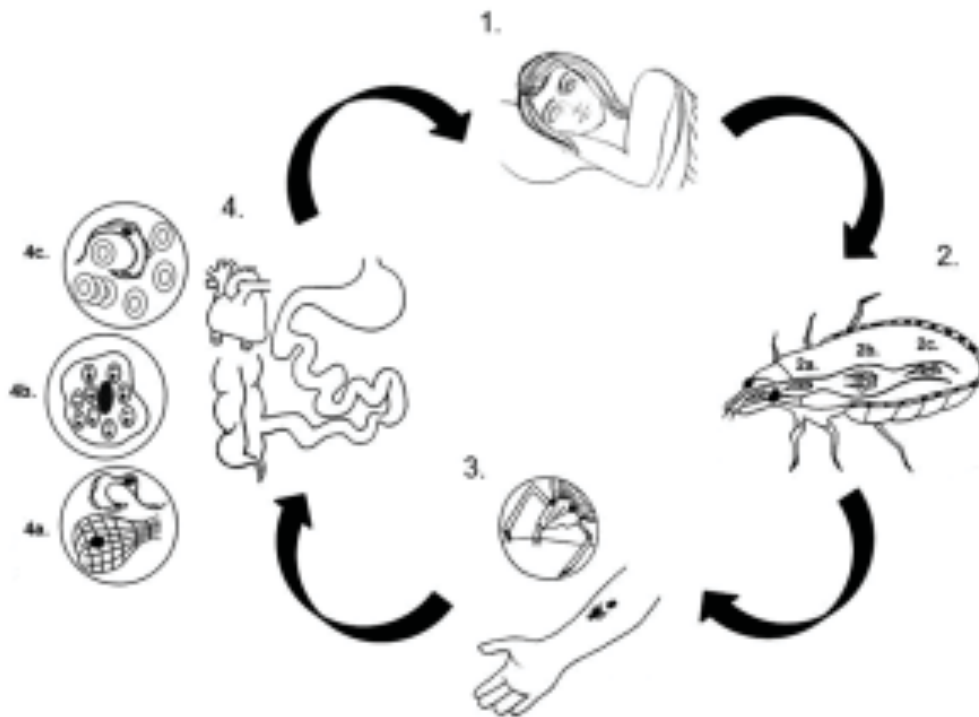
Los resultados de este trabajo han sido objeto de presentación en forma oral en el 5ta Reunión Colombiana de Leishmaniasis y enfermedad de Chagas y el XVII Simposio PECET: Avances en la investigación de enfermedades tropicales, celebrado en Medellín, Colombia 4-7 de agosto de 2020 (anexo) y semana de la investigación de la Universidad de Boyacá celebrado en Tunja, Colombia 7-11 de septiembre de 2020 (anexo). La publicación en la revista PLoS Neglected Tropical Diseases 2021. 10.1371/journal.pntd.0009483 (anexo).

## 1. INTRODUCCIÓN



## 1.1 *Trypanosoma cruzi*

La tripanosomiasis americana o enfermedad de Chagas EC es causada por el parásito *Trypanosoma cruzi* (*T. cruzi*), que es un protozoo flagelado. Se clasifica entre el subfilo Mastigophora, orden Kinetoplastida, se caracteriza por tener una organela en la mitocondria de la célula que se conoce como cinetoplasto. Pertenece a la familia Trypanosomatidae, dentro de la cual se encuentra el subgénero *Schyzotrypanum* (1). Los trypanosomátidos presentan ciclos de vida complejos con diferentes estadios de desarrollo que se alternan entre hospederos vertebrados e invertebrados. El ciclo de vida de *T. cruzi* (Figura 1) presenta varias formas evolutivas en los hospederos mamíferos y en los triatominos vectores: tripomastigote, amastigote y epimastigote. El tripomastigota metacíclico (en el vector) o hemático (en el huésped vertebrado) se describe con forma de “C” pequeña (16-20  $\mu\text{m}$ ) con un gran kinetoplasto cerca del extremo posterior, y una corta membrana ondulante con flagelo libre. La forma amastigota (1,5-4,0  $\mu\text{m}$ ) se presenta dentro de las células del hospedero mamífero, en la cual el parásito se divide por fisión binaria. Los epimastigotes corresponden a la forma de reproducción dentro del vector y en medios de cultivos axénicos y además de poseer un mayor tamaño (35-40  $\mu\text{m}$ ) que los tripomastigotes, el kinetoplasto se encuentra situado anterior al núcleo (2).



**Figura 1. Ciclo de vida**

1. Los huéspedes definitivos son los animales vertebrados salvajes, domésticos, y los humanos. 2. Los vectores son los insectos conocidos como “pitos” quienes contraen los tripomastigotes circulantes en sangre al picar a los huéspedes infectados con la enfermedad de Chagas. En el tubo digestivo del insecto se hallan los tripomastigotes (2a), epimastigotes (2b), y en el recto y las deposiciones se encuentran los tripomastigotes metacíclicos que son la forma infectante para los vertebrados (2c). 3. El humano adquiere la infección con las deposiciones del vector, que quedan en piel o mucosas mientras ocurre la picadura. 4. Los parásitos intracelulares afectan diferentes tejidos como el corazón y el tracto gastrointestinal. La infección comienza con los tripomastigotes metacíclicos (4a), los cuales se multiplican intracelularmente convirtiéndose en amastigotes (4b), y luego aparecen tripomastigotes circulando en sangre periférica infectantes para el vector (4c). Figura extraída de (3)

Dentro de su amplia variabilidad *T cruzi* ha sido dividido en seis unidades discretas de tipificación (*Discreet Typing Units*, DTU): TcI, TcII, TcIII, TcIV, TcV y TcVI (4,5). Además, se han descrito nuevos genotipos como el Tc Bat, asociado con murciélagos en Brasil, Panamá y Colombia (6,7). La DTU Tc I se encuentra más ampliamente distribuida tanto en el ciclo selvático como en el doméstico. La infección en humanos por Tc I ocurre principalmente en América Central y se esta asociado a mayor daño cardiaco (8). Tc II, Tc V y Tc VI son las causantes de EC humana en la región del cono sur. Tc II predomina en la zona este y central de Brasil, Tc V en Argentina, Bolivia y Paraguay, y Tc VI en el Gran Chaco. Por su parte, Tc III y Tc IV se encuentran mayoritariamente en el ciclo selvático y la infección en humanos es excepcional (5).

## 1.2 Vías de transmisión

El *T. cruzi* puede ser transmitido de varias formas, pero principalmente se da por transmisión vectorial por el contacto de la piel y/o las mucosas con heces de triatomíneos infectados, que al picar depositan sobre el huésped materia fecal que porta tripomastigotes metacíclicos, los cuales pueden ingresar por rascado a través de los orificios de la picadura o por discontinuidad en la piel; además por las conjuntivas oculares y/o nasales. Otras formas de transmisión son: la vía oral, que ocurre por el consumo de alimentos o bebidas contaminados en la mayor parte de los casos con heces de triatomíneos infectados, la transmisión transfusional, que ocurre por la presencia de tripomastigotes vivos e infectantes en la sangre de donantes, la transmisión accidental, por punción u otro tipo de contacto con material contaminado con el parásito y la forma congénita, que ocurre por el paso del parásito a través de la placenta hacia el feto (9).

## 1.3 Patogenia

La patogénesis de la EC tiene un gran componente de factores inmunológicos. En la fase aguda el daño orgánico se debe a la acción directa del parásito en los tejidos y a la respuesta inflamatoria aguda del huésped (10). Los amastigotes de *T. cruzi* se reproducen dentro de diferentes células. La lesión inflamatoria, que se desarrolla en la puerta de entrada se conoce con el nombre de chagoma (3).

Pasada la fase aguda se presenta una respuesta inmune que lleva a la disminución de la parasitemia y localiza la infección en algunos focos selectivos, esto constituye la fase de latencia en la cual el paciente es asintomático, independiente de las alteraciones que inician en los plexos parasimpáticos del corazón y del tubo digestivo. Este periodo va desde el final de la fase aguda, hasta la aparición de los primeros síntomas de la fase crónica (3).

La fase crónica se caracteriza por parasitemia reducida y lesiones típicas en el corazón o en el tubo digestivo, el compromiso más importante es la cardiopatía chagásica. La evidencia científica sugiere que la respuesta inmune inflamatoria del huésped junto con la virulencia y el tropismo de la DTU por el tejido son los dos determinantes más importantes de progresión (9).

#### 1.4 Manifestaciones clínicas

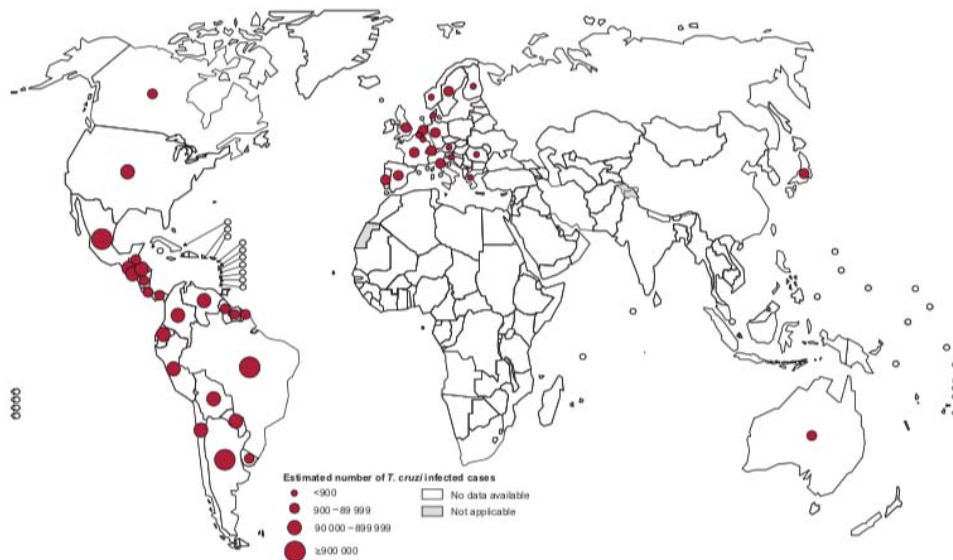
En la historia natural de la enfermedad de Chagas (EC) se presentan dos fases: aguda y crónica. En la fase aguda, los individuos que no reciben tratamiento específico evolucionan a la fase crónica de la infección. En esta fase, del 50 al 70% de las personas con la infección no desarrollarán afectación orgánica alguna, y pueden permanecer en este estado durante el resto de sus vidas (forma indeterminada de la infección) (3). La clínica se inicia entre 7 y 10 días tras la infección por *T.cruzi*, y consiste normalmente en síntomas leves e inespecíficos que se asemejan a un cuadro gripal (fiebre, malestar general, hepatoesplenomegalia) (11). En raras ocasiones se aprecia una zona de inflamación cutánea (chancro) o un edema palpebral unilateral e indoloro (signo de Romaña) que indica el lugar de inoculación. Aunque esta fase pasa inadvertida en la mayoría de los casos, entre 1-5% de los pacientes desarrollan cuadros clínicos graves como la miocarditis, pericarditis o meningoencefalitis (9).

Sin embargo, transcurridos en ocasiones 20–30 años o más, el 30–50% de los individuos presentará alteraciones principalmente cardíacas o compromiso de vísceras huecas, especialmente en esófago y colon, aunque esta forma digestiva es poco frecuente en algunos países, estas manifestaciones clínicas les puede ocasionar una importante morbilidad e incluso en algunos casos la muerte (3).

#### 1.5. Epidemiología

Desde el punto de vista epidemiológico a nivel regional, la EC es uno de los principales

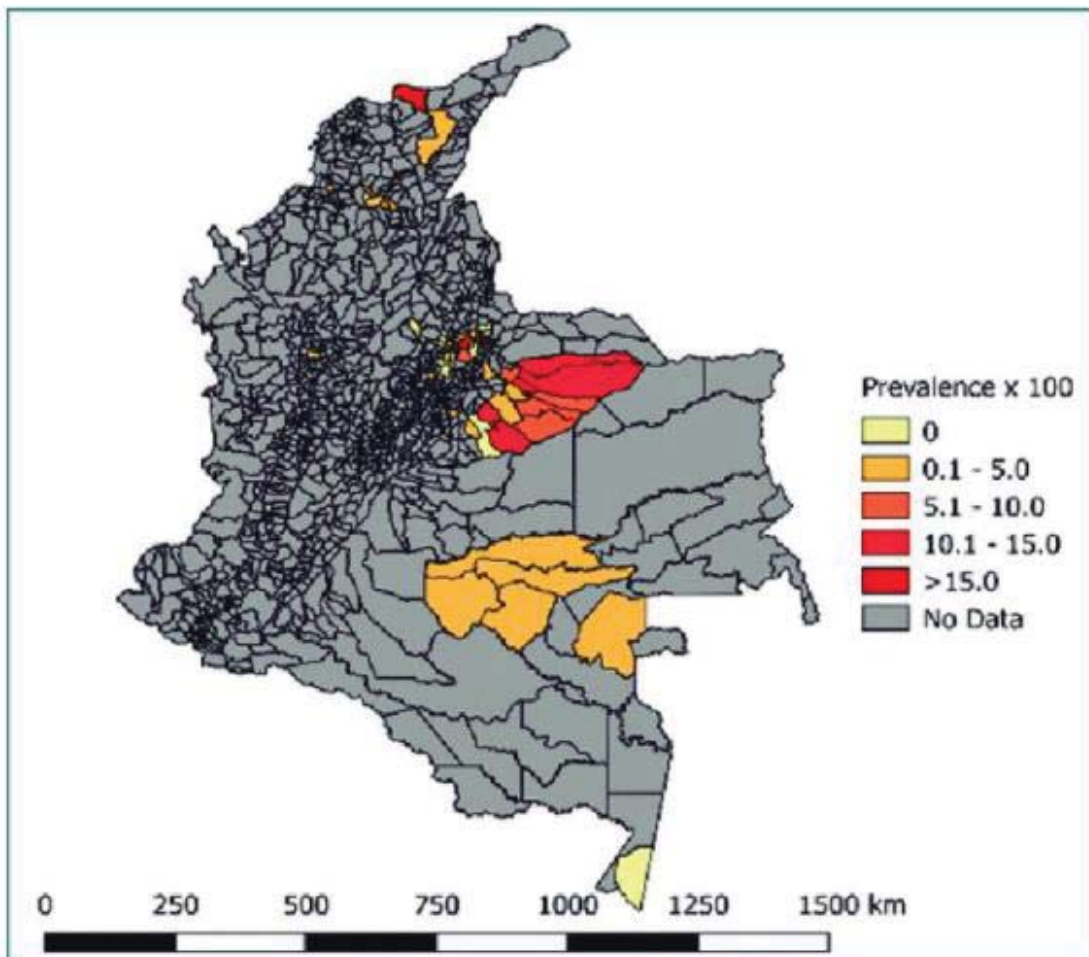
problemas de salud pública que afecta a la población latinoamericana. Según la Organización Mundial de la Salud OMS, hay entre 6 y 7 millones de personas infectadas con el parásito en el mundo en zonas endémicas de 21 países de América Latina y 52 millones viven en zonas de riesgo de transmisión de vectores (12). Es la tercera infección parasitaria más común en el mundo, es una enfermedad emergente en España, Estados Unidos y otros países no endémicos (13) (Figura 2). En las Américas hasta el 99% de los casos de EC y más del 90% en Europa están sin diagnosticar (14). Colombia enfrenta varias barreras para el diagnóstico de la infección por *T. cruzi*; solo el 1.2% de la población en riesgo ha sido examinada, mientras que 0.3 a 0.4% de los casos han recibido tratamiento etiológico (15).



**Figura 2. Distribución de la enfermedad de Chagas en el mundo (16)**

En Colombia la prevalencia se reporta entre 700.000 y 1´200.000 habitantes infectados y 8´000.000 individuos en riesgo de adquirir la infección (17–19) . Los departamentos con mayor endemia son Santander, Norte de Santander, Cundinamarca, Boyacá, Casanare y Arauca y más recientemente en comunidades de la Sierra Nevada de Santa Marta (17,19,20) (Figura 3). La infección por *T. cruzi* se ha detectado

adicionalmente a lo largo del valle del río Magdalena, en la región del Catatumbo, el piedemonte de los Llanos Orientales y la Serranía de la Macarena (19,20). En estudios realizados en diferentes departamentos de Colombia se han reportado las siguientes prevalencias, Sierra Nevada de Santa Marta 36,9% (20); Casanare 16,9% (21), Boyacá 7,8% (22), Santander 3,2% (23) y Guaviare 2,07; Vaupés 0,79% y Amazonas con 0,09% (24).



**Figura 3. Distribución de la prevalencia de la Enfermedad de Chagas en Colombia (25)**

### 1.6. Diagnóstico

### 1.6.1. Diagnóstico parasitológico

Durante la fase aguda de la infección, los parásitos circulantes en sangre son abundantes y los métodos directos son los más adecuados. El diagnóstico directo está encaminado a detectar la presencia directa del parásito o bien la presencia de biomoléculas relacionadas con este. Existen diferentes técnicas basadas en la observación directa de formas móviles de tripomastigote como son la observación microscópica en fresco, gota gruesa, técnicas de concentración como el método de Strout (26). Cuando la parasitemia es baja, como como es el caso de la fase crónica, es posible recurrir a métodos de amplificación biológica como el hemocultivo o el xenodiagnóstico (27) (Figura 4).

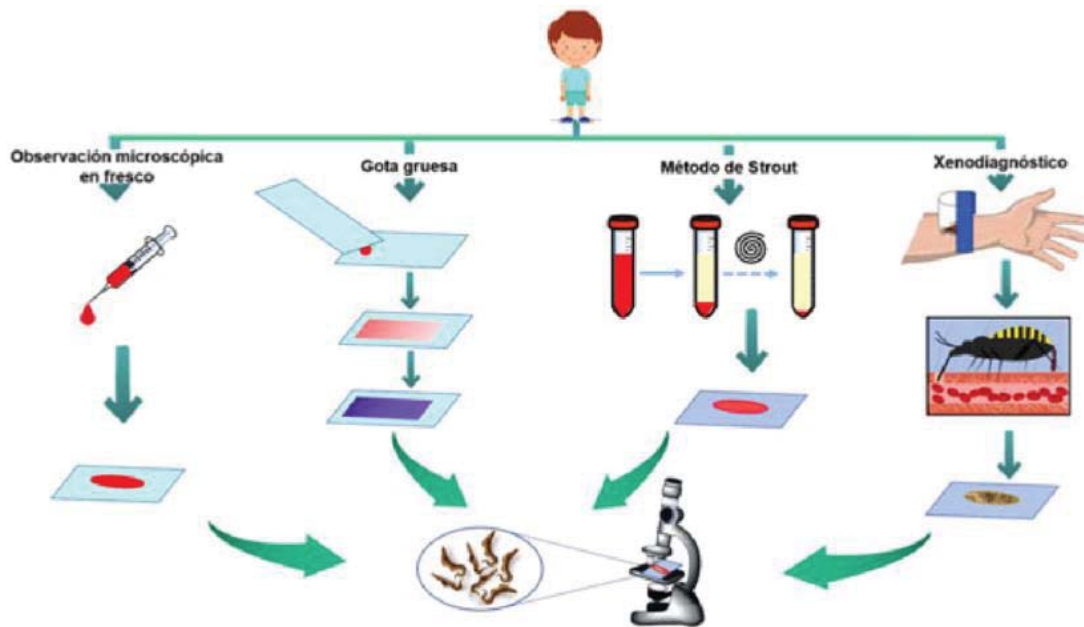


Figura 4. Métodos de diagnóstico directo de 'T. cruzi. Figura extraída de (26).

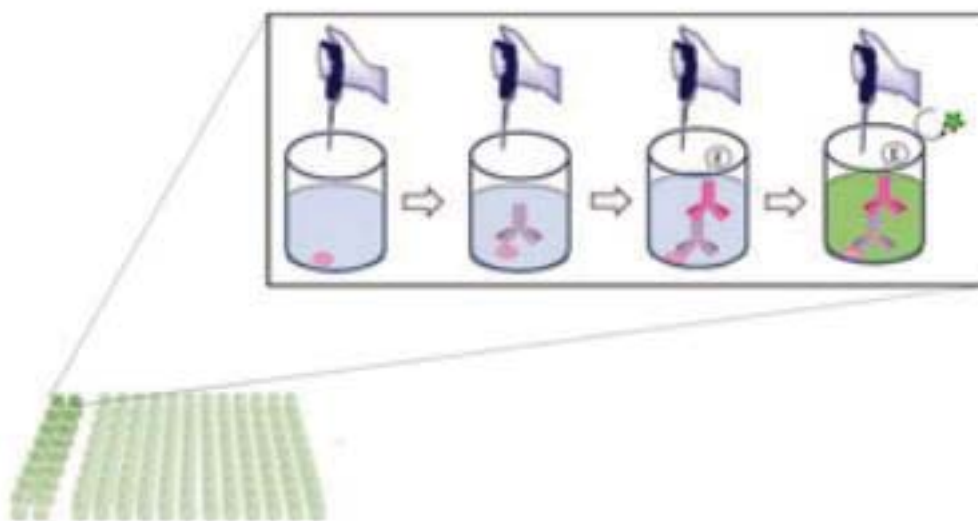
### 1.6.2. Diagnóstico serológico

El diagnóstico serológico en la fase crónica de la EC, está basado en la detección de anticuerpos circulantes mediante reacciones convencionales por medio de ensayos de inmunodiagnóstico que se clasifican dependiendo de si emplean lisado de parásito completo (convencionales), o si incluyen antígenos recombinantes o péptidos

sintéticos (no convencionales). Las pruebas rápidas también se emplean en circunstancias especiales. Todas estas pruebas están diseñadas para encontrar anticuerpos IgG, que están presentes en grandes concentraciones y muestran una alta afinidad (28).

### 1.6.2.1 Métodos convencionales

Los métodos más utilizados son el ensayo por inmunoadsorción ligado a enzima (ELISA), Inmunofluorescencia Indirecta (IFI) y Hemaglutinación Indirecta (HA) (29). La IFI detecta anticuerpos específicos frente a antígenos de membrana y la HAI detecta anticuerpos que reaccionan frente a antígenos subcelulares por lo que presentan una diferente cronología en cuanto a la positividad (30). Por su parte el ELISA convencional, aunque ofrece más flexibilidad en cuanto a su composición, suele usar extracto total del parásito como antígeno. La IFI es de interpretación subjetiva y operador dependiente, y la HAI presenta una baja sensibilidad por lo que el ELISA se considera la técnica más adecuada por su alta sensibilidad y su capacidad de automatización (31) (Figura 5).



**Figura 5. Prueba de ELISA. Figura extraída de (26)**



A falta de una técnica lo suficientemente sensible y específica para el diagnóstico de la EC, la OMS acepta como parámetro de diagnóstico de laboratorio los resultados positivos en dos pruebas basadas en principios inmunológicos diferentes y en casos discordantes una tercera prueba, esto debido a la diferencia antigénica de la composición de los métodos (32,33).

Actualmente en Colombia el algoritmo de diagnóstico serológico incluye el uso de dos pruebas de ELISA en serie, de diferente principio y diversos tipos de antígeno (antígenos totales, péptidos sintéticos o recombinantes) con una alta sensibilidad y especificidad (29). Estas pruebas de laboratorio requieren personal cualificado, así como equipos e infraestructura que no están disponibles en la mayoría de las zonas donde la enfermedad es endémica, además que los resultados pueden demorarse por varias semanas debido a razones logísticas y operacionales. La falta de acceso al diagnóstico es, por lo tanto, uno de los principales obstáculos para el inicio del tratamiento de la EC (34).

#### 1.6.2.2. Métodos no convencionales

Existen una serie de pruebas recientes basadas en diferentes metodologías que se han empleado para el diagnóstico serológico de la enfermedad de Chagas. El más empleado es la quimioluminiscencia, que está disponible comercialmente y se utiliza en muchos bancos de sangre (Chemiluminescent Microparticle Immuno Assay, CMIA). La sensibilidad es de alrededor del 100%, pero la especificidad puede ser menor, por lo que es fundamental utilizar este tipo de prueba junto con una convencional, por lo que pueden servir en un contexto de combinación de pruebas diagnósticas (35).

Otras pruebas no convencionales son RIPA (radioinmunoensayo de glucoproteínas de 72 y 90 KDa), es la técnica confirmatoria de referencia en los Estados Unidos, las pruebas de Western blot (TESA-blot) utiliza antígenos de excreción-secreción de tripomastigote de la cepa Y de *T. cruzi* y demuestra ser una herramienta útil tanto en

infección aguda y congénita, como en confirmación en caso de serología discordante, con tasas de sensibilidad y especificidad cercanas al 100% en área endémica, los ensayos líticos que incluyen citometría de flujo (no comercialmente disponible) (28). El Western-blot in-house (WB-IH) desarrollado por Riera y colaboradores utiliza un extracto total de epimastigotes de *T. cruzi* (cepa de Maracay) cultivado en medio de LIT (36). Otro método propuesto recientemente es el Multi-cruzi test (InfYnity Biomarkers, Lyon, France) basado en impresión multiplexada dentro de microplacas ELISA de 96 pocillos cada uno incluyendo una matriz de doce antígenos (37).

### 1.6.2.3. Pruebas rápidas

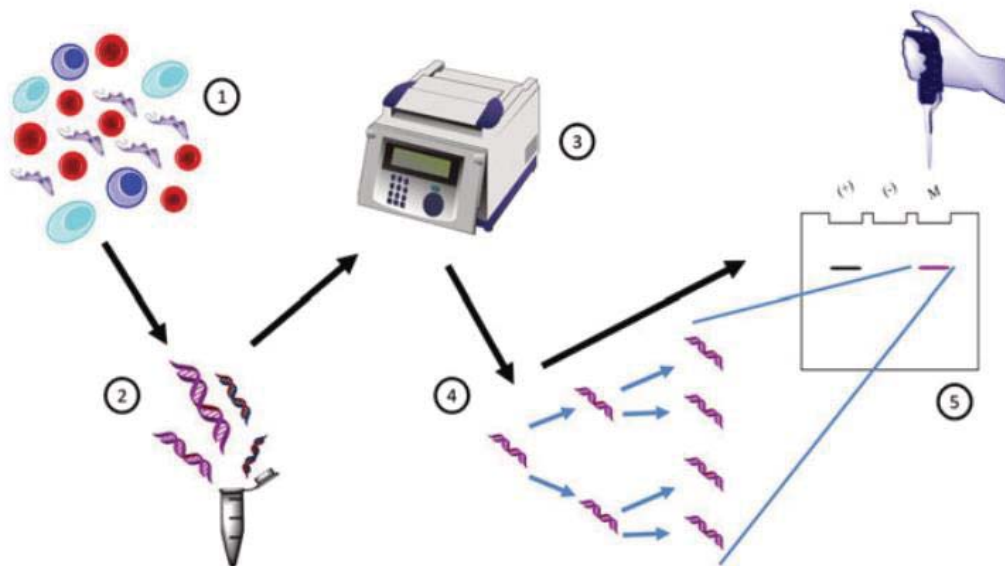
Existen varias PDR's pueden ser cualitativas o semicuantitativas. Se basan en diferentes principios de prueba: inmunocromatografía, aglutinación de partículas, inmunofiltración e inmunodot, basadas en antígenos diferentes; algunas utilizan un antígeno multi-epítipo y otras emplean una combinación de proteínas recombinantes para detectar la infección por *T.cruzi*, son fáciles de realizar, emplean cantidades mínimas de muestra (sangre total), proporcionan resultados rápidos, no requieren de personal de laboratorio especializado, equipos eléctricos (38) Se han realizado estudios en diversos países en los que han evaluado pruebas rápidas obteniendo resultados diferentes en la sensibilidad y especificidad de acuerdo al país, siendo importantes factores como la variación geográfica (que podría estar relacionada con las diferentes cepas del parásito), incidencia, tasa de transmisión y prevalencia de la enfermedad (39,40)

### 1.6.3 Diagnóstico molecular

El diagnóstico molecular se utiliza fundamentalmente para: (i) el diagnóstico precoz de la transmisión congénita cuando la presencia de anticuerpos maternos puede llevar a resultados falsos positivos y la microscopía no tiene suficiente sensibilidad (ii) el diagnóstico de infección por transmisión oral (iii) la detección temprana de infección en

receptores de órganos provenientes de donantes con EC, (iv) la monitorización de la reactivación por inmunodepresión en pacientes crónicamente infectados y (v) la evaluación de la respuesta al tratamiento, ya que la seroreversión serológica en pacientes tratados puede tardar años (41).

En las últimas décadas, la detección de ADN de *T. cruzi* en sangre periférica mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) se ha utilizado cada vez más. Las dianas más utilizadas son la región variable del ADN del minicírculo del kinetoplasto, secuencias repetidas en el ADN satélite o genes del ARN ribosomal (41) (Figura 6). Otro método molecular es la amplificación isotérmica de ADN mediada por asas (LAMP), es capaz de amplificar grandes cantidades de ADN dentro de los 30 a 60 min de incubación a 60-65 °C, empleando un diseño complejo de secuencias de cebadores y ADN polimerasa de Bst de desplazamiento de cadena (28).



**Figura 6. Diagnóstico molecular por PCR de 'T. cruzi'.** 1) toma de muestra sanguínea o tejido; 2) aislamiento del ADN total; 3) generación de copias de ADN específicas del parásito; 4-5) análisis de los resultados mediante electroforesis usando muestras de referencia (positivas y negativas). Figura extraída de (26).

## 1.7 Tratamiento

El tratamiento etiológico utilizado en la EC en humanos son los fármacos Benznidazol (BNZ) y Nifurtimox (NFX). Las tasas de respuesta terapéutica están en función sobre todo de la fase de la enfermedad y de la zona geográfica. En la fase aguda de la enfermedad ambos medicamentos presentan una aceptable tasa de curación, entre el 65 y el 80% de los pacientes, llegando a tasas por encima del 95% en casos de transmisión congénita tratados de manera precoz. En los casos de infección crónica se consiguen tasas de curación entre el 15 y el 40%, aunque con un grado de evidencia mucho menor (42,43).

Una de las limitaciones que presenta el tratamiento son los efectos adversos que experimentan los pacientes: con el BNZ, las principales son náuseas, cefalea, anorexia, las reacciones que más inducen a su abandono son las derivadas de la hipersensibilidad cutánea; y con el NFX anorexia, vómito, pérdida de peso y algunas veces, trastornos neuropsiquiátricos (44).

## 1.8 Control

Originalmente (hace más de 9000 años) *T. cruzi* solo afectaba a los animales salvajes; fue después cuando se propagó a los animales domésticos y los seres humanos. Existe un gran número de animales silvestres que sirven de reservorio de *T. cruzi* en las Américas, esto hace más difícil poder erradicar la EC. Los objetivos de control consisten en eliminar la transmisión y lograr que la población infectada y enferma tenga acceso temprano a la atención de salud.

No hay vacuna contra la enfermedad de Chagas. *T. cruzi* puede infectar a muchas especies de triatomíneos, la gran mayoría de los cuales se encuentran en la Región de las Américas. El control de vectores ha sido el método más eficaz de prevención en esta región. El cribado de la sangre es necesario para prevenir la infección por

transfusiones sanguíneas y el trasplante de órganos y para aumentar la detección y el cuidado de la población afectada en todo el mundo (12).

Según la zona geográfica, la OMS recomienda los siguientes métodos de prevención y control: (i) rociamiento de las casas y sus alrededores con insecticidas de acción residual, (ii) mejora de las viviendas y su limpieza para prevenir la infestación por el vector, (iii) medidas preventivas personales, como el empleo de mosquiteros; buenas prácticas higiénicas en la preparación, el transporte, el almacenamiento y el consumo de los alimentos, (iv) desarrollo de actividades de información, educación y comunicación contextualizadas para los diferentes actores y escenarios sobre las medidas preventivas y los instrumentos de vigilancia, (v) cribado de la sangre donada, (vi) pruebas de cribado en órganos, tejidos o células donados y en los receptores de estos, (vii) acceso al diagnóstico y el tratamiento para las personas en las que esté indicado o recomendado el tratamiento antiparasitario, especialmente los niños y las mujeres en edad fecunda antes del embarazo (viii) cribado de los recién nacidos y otros hijos de madres infectadas que no hayan recibido antes tratamiento antiparasitario para diagnosticarlos y tratarlos precozmente (12).

## 2. JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS

## 2.1. Justificación del estudio

La tripanosomiasis americana o EC es causada por el parásito *Trypanosoma cruzi* (*T. cruzi*), un microorganismo endémico en América Latina y transmitido por vectores de diversas especies de la subfamilia Triatominae (1). En las Américas hasta el 99% de los casos de EC y más del 90% en Europa están sin diagnosticar (14). Colombia enfrenta varias barreras para el diagnóstico y el tratamiento de la infección por *T. cruzi*; solo el 1,2% de la población en riesgo ha sido examinada, mientras que 0,3 a 0,4% de los casos han recibido tratamiento etiológico (15). El diagnóstico serológico en la fase crónica de la EC, está basado en la detección de anticuerpos circulantes mediante reacciones convencionales por medio de ensayos de inmunodiagnóstico tales como, ensayo por inmunoadsorción ligado a enzima (ELISA), Inmunofluorescencia Indirecta (IFI), Hemaglutinación Indirecta (HAI), quimioluminiscencia (ChLIA) y Western blot/Inmunoblot (29).

La OMS acepta como parámetro de diagnóstico de laboratorio los resultados positivos en dos pruebas basadas en principios inmunológicos diferentes y en casos discordantes una tercera prueba (32,33). Actualmente en Colombia el algoritmo de diagnóstico serológico incluye el uso de dos pruebas de ELISA en serie, de diferente principio y diversos tipos de antígeno (antígenos totales, péptidos sintéticos o recombinantes) con una alta sensibilidad y especificidad (29). Estas pruebas de laboratorio requieren personal cualificado, así como equipos e infraestructura que no están disponibles en la mayoría de las zonas donde la enfermedad es endémica, además que los resultados pueden demorarse por varias semanas debido a razones logísticas y operacionales. La falta de acceso al diagnóstico es, por lo tanto, uno de los principales obstáculos para el inicio del tratamiento de la EC (34).

En el año 2007, en diversos foros científicos y en el 2010 en la 63ª Asamblea Mundial de la Salud, se expresó la necesidad urgente de nuevas herramientas de diagnóstico simplificadas, idealmente a través de las PDR's, para la detección de la infección por

T. cruzi / EC; la disminución del sub diagnóstico en áreas remotas donde el diagnóstico no es accesible por técnicas convencionales y la necesidad de tratamientos oportunos (45) . Las PDR's presentan diferentes ventajas para la realización del diagnóstico de la EC como la no refrigeración, emplear poca cantidad de muestra (sangre total) y la obtención de resultados rápidos entre otros, esto hace que estas pruebas sean útiles en zonas endémicas rurales y rurales dispersas en las cuales no se tienen facilidades de realizar el diagnóstico de la EC.

Por lo anterior es importante conocer la eficacia, en términos de sensibilidad y especificidad, de estas pruebas en el contexto epidemiológico colombiano, para ampliar los programas de diagnóstico y permitir el acceso al tratamiento de forma más rápida, evitando que el paciente desarrolle alteraciones cardiacas.

## 2.2. Objetivos capítulo 1

### 2.2.1. Objetivo general:

Determinar la validez diagnóstica de las PDR y el ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas (ELISA) entre individuos que presentan sospecha de EC crónica

### 2.2.2. Objetivos específicos:

1. Estimar, a partir de los estudios publicados, la sensibilidad y especificidad de las pruebas de ELISA y PDR para el diagnóstico de la EC crónica.
2. Evaluar la calidad de los estudios sobre la validez de las pruebas de ELISA y PDR para el diagnóstico de la EC crónica.
3. Evaluar la sensibilidad y especificidad de las pruebas de ELISA y PDR para el diagnóstico de la EC crónica, según subgrupos definidos en los estudios
4. Estudiar el sesgo de publicación de los estudios sobre la validez de las pruebas de ELISA y PDR para el diagnóstico de la EC crónica.

## 2.3. Objetivos capítulo 2:



### 2.3.1. Objetivo general:

Evaluar la validez diagnóstica de dos pruebas de diagnóstico rápido (PDRs) en pacientes con sospecha de EC crónica.

### 2.3.2. Objetivos específicos:

1. Estimar los índices diagnósticos de validez de dos pruebas de diagnóstico rápido en suero, utilizando como pruebas de referencia una prueba de ensayo de inmunoabsorción enzimático (ELISA) de antígenos totales y una prueba de ELISA de Antígenos recombinantes
2. Establecer la concordancia entre las dos pruebas de diagnóstico rápido, la prueba de ensayo de inmunoabsorción enzimático (ELISA) de antígenos totales y la prueba de ELISA de antígenos recombinantes.
3. Evaluar la reactividad cruzada con sueros de pacientes con evidencia serológica de leishmaniasis

### 3. MÉTODOS

### 3.1. Capítulo 1:

#### 3.1.1. Estrategia de búsqueda

Esta revisión sistemática y metanálisis se llevó a cabo de acuerdo con las directrices PRISMA (Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analysis) (46). Se utilizó la estrategia estándar de búsqueda descrita en el Manual The Joanna Briggs Institute JBI en el que se incluyeron tres pasos: una búsqueda limitada inicial para identificar palabras clave relevantes y términos de indexación; seguida de una búsqueda exhaustiva en las bases de datos incluidas (PUBMED/MEDLINE; SCOPUS; ISIWeb/Web of Science y LILACS). Se realizó contacto por correo electrónico con los principales autores de los artículos incluidos para indagar sobre datos faltantes o plantear inquietudes con respecto a los estudios (47). Las búsquedas se realizaron entre mayo de 2020 a agosto de 2020, en las cuatro bases de datos seleccionadas, en la estrategia de búsqueda se combinaron los siguientes términos: ("Chagas Disease"[MeSH] OR "Trypanosoma cruzi"[MeSH]) AND (ELISA OR (enzyme AND linked AND assay) OR rapid diagnosis test OR (rapid AND diagnosis AND test))) AND (sensitiv\*[Title/ Abstract] OR sensitivity and specificity[MeSH Terms] OR diagnos\*[Title/Abstract] OR diagnosis[MeSH:noexp] OR diagnostic\*[MeSH:noexp] OR diagnosis, differential [MeSH:noexp] OR diagnosis Subheading:noexp] OR "Reproducibility of Results"[Mesh] reliability OR reproducibility).

#### 3.1.2. Selección de estudios

Dos revisores (SHSC-LXRL), evaluaron de forma independiente y enmascarada, los títulos y resúmenes de los artículos. Los desacuerdos se resolvieron por consenso. Los resúmenes fueron seleccionados para la evaluación de texto completo si sus objetivos eran: estimar la sensibilidad o la especificidad de las PDR y ELISA para la enfermedad de Chagas crónica; estimar la validez de ELISA o PDR para la

enfermedad de Chagas crónica; estimar cualquier medida de validez para ELISA o PDR para la enfermedad de Chagas crónica, como la razón de verosimilitud, la precisión, la tasa de error, el DOR, el área bajo la curva ROC o los valores predictivos; la variabilidad (confiabilidad) dentro de la prueba de una PDR o ELISA para la enfermedad de Chagas crónica. También se verificó el cumplimiento de los criterios de selección establecidos: artículos de diseños como comparativos y no comparativos en idioma inglés, español o portugués; estándares de referencia adecuados para el diagnóstico de EC; solo se incluyeron resúmenes con voluntarios humanos y con muestras de seres humanos, y que no indicaran que las pruebas estuvieran en un escenario de verificación de curación; o estudios relacionadas exclusivamente con infección aguda o recién nacidos, finalmente tampoco se incluyeron estudios con datos mixtos de pacientes con infección aguda y crónica.

### 3.1.3. Extracción de datos.

Dos autores (SHSC-LXRL)) realizaron en forma independiente la extracción de los siguientes datos: autor/es, año de publicación, prueba índice, prueba de referencia, periodo de estudio, país de implementación, tipo de participantes y sensibilidad y especificidad, diseño del estudio (clínico comparativo o tipo “caso-control”, en el que se incluyen un grupo de pacientes diagnosticados de la enfermedad y un grupo de pacientes sin este diagnóstico, *versus* diseño no comparativo, en el que a una serie consecutiva y representativa de pacientes con sospecha de la enfermedad se les aplica la prueba a evaluar y la prueba de referencia.

finalmente se extrajeron los hallazgos más relevantes, esta información se registró en una hoja de cálculo electrónica en Excel, proceso que fue verificado por un tercer autor (CSC), con enmascaramiento frente a los resultados de los demás autores.

### 3.1.4. Evaluación de la calidad metodológica

Tres autores (SHSC-LXLR-CSC) realizaron la evaluación de la calidad metodológica y el riesgo de sesgo de los estudios incluidos, de manera ciega e independiente mediante la herramienta QUADAS-2 (Quality Assessment of Diagnostic Accuracy Studies-2) (48), que comprende cuatro dominios: selección de pacientes, que aborda el riesgo de sesgo de selección (forma en que se seleccionaron los pacientes para el estudio); prueba índice, (que valora aborda el riesgo de sesgo debido a la forma como se realizó e interpretó la prueba índice); prueba de referencia (riesgo de sesgo debido a la forma en que se realizó e interpretó la prueba de referencia); y flujo y tiempo, que investiga el riesgo de sesgo atribuible al orden en que se realizaron las pruebas de índice y de referencia en el estudio (si hay una demora prolongada entre la realización de las dos pruebas, el estado del paciente puede cambiar y, por lo tanto, afectar los resultados de la prueba posterior). Cada dominio se evaluó en términos de riesgo de sesgo, y los primeros 3 dominios también se evalúan en términos de aplicabilidad.

### 3.1.5. Análisis de datos

El análisis estadístico se basó en una descripción de los estudios seleccionados. La sensibilidad y especificidad fue modelada de forma bivariada con modelos de efectos aleatorios (EA) binomial-normal, y con suposición de Gold standard (GS) o de Gold standard imperfecto (GSI). Los modelos con GS fueron ajustados con enfoque Bayesiano y clásico, y el modelo GSI sólo con enfoque Bayesiano.

Se evaluaron seis posibles modelos para GS de acuerdo al tipo de distribución que sigue el RE (normal o mixtura de normal) y el tipo de link (logit, cloglog y probit). La selección del mejor modelo fue realizada de acuerdo al deviance information criterion (DIC), menor con al menos dos puntos de diferencia, para los modelos Bayesianos, y con el Likelihood Ratio Test (LRT) para los modelos clásicos. El modelo con un DIC menor fue el que se consideró con mejor ajuste. Los análisis se realizaron con los

softwares R 1.3 (bamdit::plotcompare y meta4diag::meta regresión) (49), Stata 15 (metandi) (50), midas y JAGS. La especificación del modelo con mejor ajuste (en bamdit metadiag) fue reproducido de la manera más similar en el resto de los paquetes (meta4diag: Binomial-normal con probit, y metandi e IGS: Binomial-normal con logit) para facilitar las comparaciones.

Los resultados de los estudios se expresaron gráficamente con las estimaciones de sensibilidad y especificidad y sus intervalos de confianza (IC) del 95% a través de gráficos forest-plots, y espacio ROC). La heterogeneidad fue explorada con el  $I^2$  bivariado (51).

Se realizaron meta-regresiones con los posibles modificadores de la validez diagnóstica con los modelos Bayesianos (bamdit plotcompare y meta4diag meta regresión). Las variables consideradas de interés como moderadores de la validez fueron: diseño de estudio (clínico comparativo o no comparativo), área de estudio (endémica o no endémica), tipo de muestra (suero o sangre completa), riesgo del estudio (bajo o alto riesgo de sesgo), tipo de prueba (comercial o "in house"). Todas las variables fueron categorizadas a dos niveles para facilitar la comparación de las regiones predictivas y las estimaciones de precisión. Se efectuó un análisis de sensibilidad excluyendo los valores atípicos influyentes. Los estudios influyentes fueron revisados de acuerdo con el supuesto de que el intervalo de la distribución posterior del peso de los estudios debía incluir al uno. El sesgo de publicación se evaluó con el test de asimetría del funnel plot de Deeks, el cual se consideró de alto riesgo de sesgo con un valor de  $p < 0,1$  (52). Todos los modelos ajustados asumieron que los sub-estudios eran independientes.

Los forest plots y los gráficos SROC (summary ROC curves) fueron realizados con el programa DTAPlots de R.

El protocolo se registró en PROSPERO, registro prospectivo internacional de protocolos de revisión sistemática (número de registro CRD42020186588).

## 3.2. Capítulo 2:

### 3.2.1. Diseño del estudio, ubicación y muestreo de los participantes.

Se desarrollo un estudio observacional transversal con enmascaramiento, los criterios de inclusión fueron ser mayor de 3 años de edad y haber firmado el consentimiento informado y como criterio de exclusión haber recibido tratamiento previamente para la infección de *T. cruzi*. El estudio se implementó en áreas urbanas y rurales de siete municipios del departamento de Boyacá, de los cuales cinco: Soatá, Tipacoque, Chitaraque, Monquirá y Miraflores son zonas endémicas para la infección por *T. cruzi* y dos municipios Otanche y San Pablo de Borbur endémicos para Leishmaniasis, pero no para *T. cruzi*. El departamento de Boyacá tiene una población de 1.278.000 personas (664.560 hombres y 613.440 mujeres) (53). El cálculo del tamaño de la muestra se realizó con el programa GRANMO (54): para estimar con una precisión del 5% y un nivel de confianza del 95%, una sensibilidad y especificidad del 90% (40), el tamaño de la muestra necesario fue de 305 sujetos.

La población de estudio fueron los participantes que asistieron a las actividades de tamizaje de campo realizadas en zona rural y urbana de los siete municipios incluidos en el estudio. El trabajo de campo fue previamente planeado con un equipo de soporte en cada una de las zonas que se encargó de las actividades de información y educación. Las personas fueron convocadas por medio de los técnicos del programa de vectores de la Secretaría de Salud de Boyacá, entre junio de 2019 y noviembre de 2019, los cuales se inscribían para la participación en el estudio, por iniciativa propia. Se les explico de forma detallada el estudio; se realizó la firma del consentimiento informado; se obtuvo sangre total mediante punción en el dedo para la realización de las PDR implementadas en terreno. En la misma visita se realizó una extracción de 5

ml de sangre por punción venosa para el aislamiento del suero que fueron transportadas al Laboratorio Departamental de Salud Pública de Boyacá (LDSP) para luego realizar las pruebas de ELISA y de Inmunofluorescencia Indirecta IFI si se necesitaba, de acuerdo al algoritmo diagnóstico para la EC autorizado en Colombia.

### 3.2.2. Pruebas serológicas convencionales y Pruebas de Diagnóstico Rápido (PDRs)

La estrategia diagnóstica de referencia utilizada en el presente estudio se ha basado en las pruebas serológicas convencionales sugeridas por el Laboratorio Nacional de Referencia de Parasitología del Instituto Nacional de Salud INS de Colombia (55), y que se usan de forma rutinaria dentro del programa de vigilancia de EC en el LDSP. Todas las muestras se analizaron con el test ELISA Chagas III GrupoBios® [sensibilidad informada, 100%; especificidad, 100%] (56) y con la prueba Chagas ELISA IgG+IgM I Vircell® [sensibilidad informada, 100%; especificidad, 98%] (57,58). En caso de resultados discordantes en las dos pruebas de ELISA, se realizó IFA (59) que utiliza como antígeno (epimastigotes de *T. cruzi* cepas DTU TcI colombianas, cuando el resultado en esta técnica era positivo se consideraba caso confirmado. Las pruebas se realizaron en muestra de suero siguiendo las instrucciones del fabricante en el LDSP, el cual cumple con controles de calidad internos del método, con material para control de calidad MQC y con controles de calidad externos y ensayos de aptitud realizados por el INS y por Proasecal. Los resultados de las pruebas se interpretaron como positivos o negativos.

Existen varias PDR para detectar la infección por *T. cruzi*, que presentan las ventajas descritas anteriormente, frente a las pruebas convencionales y que tienen alta sensibilidad y especificidad de acuerdo a lo reportado por diferentes autores (40,60,61). En el presente estudio todas las muestras se analizaron con dos pruebas de diagnóstico inmunocromatográfico basadas en antígenos diferentes: Chagas Detect Plus (InBios International Inc., Seattle, USA) ® CDP (62) que utiliza un antígeno



multi-epítope y Chagas Stat-Pak (Chembio Inc., Medford USA) ® CSP (63) que emplea una combinación de proteínas recombinantes. Para la realización de las PDR se utilizaron pequeñas cantidades de sangre total obtenida de punción del dedo.

### 3.2.3. Análisis de datos

Para la estadística descriptiva de las variables categóricas se le calcularon las frecuencias, para las variables continuas (edad) se calcularon la media y desviación estándar DE. Para estimar la validez de las PDR, se calcularon la sensibilidad, la especificidad, y el valor global de la prueba o eficacia del diagnóstico ED (probabilidad de que un individuo sea clasificado correctamente por la prueba). Para estimar los valores predictivos de las PDR se hallaron el valor predictivo positivo (VPP), o proporción de pacientes con resultado positivo que realmente tenían la enfermedad, y del valor predictivo negativo (VPN), o proporción de pacientes con resultado negativo que no tenían la enfermedad. Se evaluó la capacidad de las PDR para confirmar y excluir la EC por medio de la razón de verosimilitud positiva LR+ y negativa LR-.

Para estimar la concordancia entre las dos PDR se calculó el coeficiente Kappa (k) que calcula la concordancia entre resultados, ajustada por la concordancia esperada por el azar. La concordancia se consideró para que un PDR sea considerado fiable, si  $K > 0.8$ ; un valor de  $k > 0.8$  y  $\leq 0.9$  indicó una concordancia muy buena, mientras que  $0.9 > k \leq 1.0$  se consideró excelente (64). El nivel de significación estadística se estableció en 0.05. Los datos se analizaron con el programa estadístico R (49).

### 3.2.4. Aspectos éticos

El estudio fue aprobado por el comité de bioética de la Universidad de Boyacá mediante memorando CB 039-2019 del 24 mayo de 2019. Se obtuvo el consentimiento informado firmado por parte de todos los participantes, en los menores de 18 años el

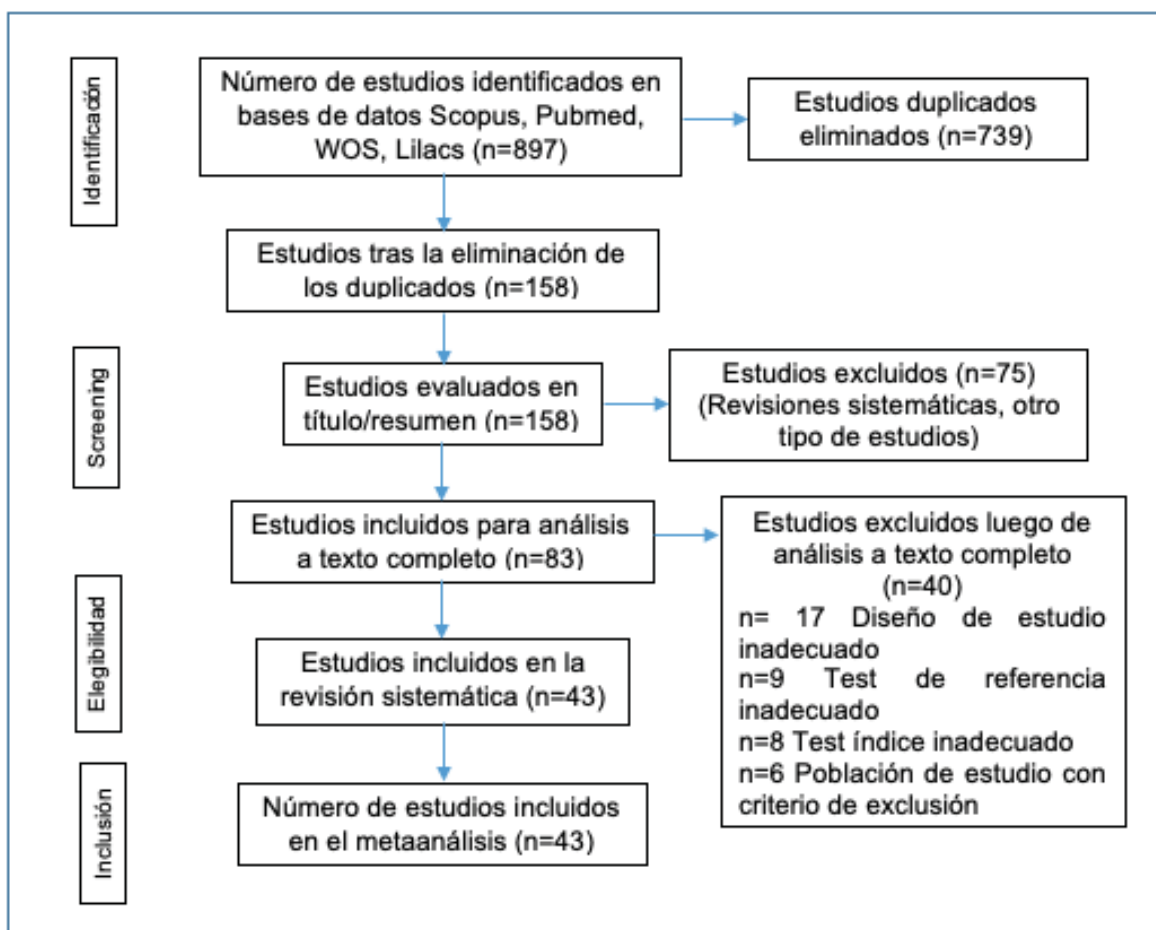
consentimiento fue firmado por el representante legal. Todos los participantes recibieron los resultados individuales de la prueba y los que obtuvieron resultados positivos recibieron asesoramiento médico sobre su estado de infección y fueron notificados al LDSP de Boyacá.

## 4. RESULTADOS

## 4.1. Capítulo 1:

### 4.1.1. Selección de Estudios

La figura 7 muestra el proceso de selección de artículos, inicialmente se identificaron 897 publicaciones, 739 fueron eliminadas por duplicidad en bases de datos. De las 158 publicaciones restantes, 75 no cumplieron con los criterios de selección en la revisión por título y resumen; de los 83 artículos restantes se excluyeron 40 (17 por diseño de estudio inadecuado, 9 porque el test de referencia no cumplió con los criterios para diagnóstico sugeridos por la OMS, 8 porque el test índice no correspondía a las pruebas a analizar en la presente investigación (ELISA y/o prueba rápida), 4 porque la población estudiada se encontraba en la fase aguda de la enfermedad o eran estudios que analizaban sujetos en fase aguda y crónica, 2 porque incluían pacientes con tratamiento previo para la enfermedad de Chagas). Se incluyeron en definitiva 43 artículos a texto completo para el análisis cualitativo y cuantitativo. De los estudios seleccionados, 29 incluían 76 sub-estudios para la prueba de ELISA y 16 incluían 39 subestudios para las PDR.



**Figura 7. Diagrama de flujo de la selección de los estudios**

#### 4.1.2. Características de los estudios

Respecto al análisis descriptivo de los 43 estudios seleccionados (Tabla 1), éstos se publicaron entre 2010 a 2019, incluyendo entre tres a seis estudios por año, a excepción de 2015, año en el que no se tiene ninguna publicación. De estos, 27 evaluaron pruebas ELISA, 14 PDR y dos evaluaron los dos tipos de pruebas. Un total de 33 artículos realizaron varios subestudios con más de una prueba como diferentes péptidos, estudios realizados en varios países, diferentes laboratorios de referencia o evaluación de varias pruebas índice, cuyos datos fueron presentados y analizados por separado en la presente investigación. Seis artículos no presentaban datos de sensibilidad y especificidad, pero se incluyeron teniendo en cuenta que

indicaban los números de verdaderos y falsos positivos y negativos; solo dos estudios no presentaron estos datos, pero incluían el total de participantes, así como el dato de sensibilidad y especificidad. De los 43 artículos, se reportó un total de 30.356 participantes (de 56 a 10.284 individuos por estudio).

De acuerdo a la naturaleza de la muestra biológica, el 76,7% de las investigaciones fueron realizadas en suero (35,39,40,60,65–92), mientras que un 7% de los estudios se realizaron en sangre venosa (31,93,94) 7% en sangre venosa y suero (40,95–97), 4,7% en sangre capilar (98,99), 2,3% en suero, plasma, sangre venosa y capilar (66) y 2,3% no reportó el tipo de muestra utilizada (71). De otra parte, de los 43 estudios analizados, 12 incluyeron individuos con otras enfermedades para evaluar la reacción cruzada.

De los estudios donde se evaluaron pruebas ELISA, 18 se realizaron con ensayos “in-house” (69,71,75,78,80,85,88–90,92,94–96,98–102), las marcas comerciales que estuvieron presentes en más de un estudio fueron Architect Chagas Abbott (39,66,69,76,81,87), ELISA Chagas III BIOSChile (39,72,87) y Chagatest® Wiener (60,87). Se evaluaron once PDR diferentes, las pruebas que más se incluyeron en los estudios fueron Chagas Detect Plus InBios (31,80,82,95,98) con sensibilidad de 77.5% a 99.3% y especificidad de 92.3% a 100%; Chagas Stat-Pak assay ChemBio (31,77,96,98,102) 87% a 98.4% y 87.1% a 99.9% y WL Check Chagas Wiener (68,97,102) 87.3% a 95.7% y 97% a 100% respectivamente. Chagas Stat-Pak assay ChemBio fue evaluada en 2875 participantes que corresponden al 52% de la población total incluida en el análisis de este tipo de prueba.

De otra parte, el 74.4% de los estudios se localizaron en región endémica con población nativa de países como Brasil, Argentina, Bolivia, Venezuela, Paraguay, México, Colombia, Guatemala, Panamá, Ecuador, Perú, Nicaragua, Honduras y Costa Rica; y el 16.2% en regiones no endémicas, pero con población migrante de países como España, Estados Unidos, Italia, Suiza y Reino Unido. El 51,2% de los estudios tuvieron un diseño no comparativo (39,40,60,65,66,68,69,71–75,78,80,85,93,95–

99,101), mientras que el 46,5% fueron estudios de tipo comparativo, (31,35,67,69,76,77,79,81,83,84,86–92,94,102,103) y solo un 2,3% correspondieron a estudios mixtos (comparativos y no comparativos) (82).

De los 43 estudios analizados, 18 de ellos (31,35,67,69,71,75,78,80,85,86,88,90,95,96,98,101–103) incluyeron individuos con otras enfermedades para evaluar la reacción cruzada, dentro de las que se encontraban leishmaniasis cutánea, mucocutánea, visceral y tegumentaria, sífilis, hepatitis B y C, VIH, toxoplasmosis, HTLV, malaria, esquistosomiasis, dengue, estrombiloidiasis, pacientes positivos para *T. rangely*, fiebre reumática, filariasis, leptospirosis, rubeola, sarampión, linfoblastogénesis, tuberculosis, diabetes juvenil, neurocisticercosis, teniasis, enfermedad de Kala-azar, lupus eritematoso, megaesófago idiopático, blastomicosis sudamericana, brucelosis, absceso hepático amebiano, zika, larva migrans visceral, enfermedad de Lyme, parvovirus, Epstein-barr, citomegalovirus, ascariasis, y trichuriasis. Sin embargo, sólo 13 de ellos (31,35,69,71,80,84,85,88,90,94,96,98,103) reportan los porcentajes de reacción cruzada, que oscilaron entre 0 a 62.5%, principalmente con *Leishmania spp.*

**Tabla 1. Características de los estudios incluidos.**

# art / Ref	Autor / año	Prueba índice	Prueba de referencia	Periodo de estudio	País de implementación	Número de enfermos	Número de sanos	Total de participantes	Tipo de participantes	Zona de estudio	Sensibilidad	Especificidad
1 (88)	Briceño 2010	AgA-ELISA	(Bioschile Ingeniería Genética S.A Kit, BioKIT y Pharmatest (Laboratorios Pharmatest)  (Inmunofluorescencia de epimastigotes Hemaglutinación indirecta y ELISA)	No declarado	Venezuela	89	477	566	Participantes con linfoblastogénesis y miocardiopatía chagásica	Zona endémica	98,8%	97,0%
2 (67)	Aria 2016	ELISA Chagas test IIICS V.1	Chagatest ELISA eco	No declarado	Paraguay	33	23	56	Participantes positivos para sífilis, Hepatitis B y C, HIV, HTLV. Donantes de sangre	Zona endémica	97,0%	91,0%
	_a	ELISA Chagas test IIICS V.1	BioSchile Test ELISA Wiener.								97,0%	
3 (73)	Mendicino 2014_a	WL Check Chagas (Wiener Lab SAIC, Argentina)	(Chagatest ELISA, Wiener Lab SAIC)	No declarado	Argentina	64	177	241	Estudio realizado en sangre total	Zona endémica	87,3%	98,8%
	Mendicino 2014_b		IHA (IHA Chagas Poly- chaco, Lemos Laboratory SRL, Argentina)								67	



			IFI en caso de discordancia																
4 (79)	Llano 2014	Chagas (Trypanosoma cruzi) IgG-ELISA® (Novatec Immundiagnostica GmbH)	ELISA e IFI No reporta marca	No declarado	Colombia	78	21	99	Participantes con leishmaniasis y enfermedad cardiaca. Sintomáticos y asintomáticos	Zona endémica y no endémica	96.0%	98.0%							
5 (83)	Bergmann 2013_a	Chagatest® (Wiener Lab, Argentina).	Immunotransferencia con antígeno TESA (antígeno excretor-secretor de T. cruzi)	No declarado	Brasil	122	39	161	Donantes de sangre de Brasil	Zona endémica	99.0%	18.0%							
	Bergmann 2013_b	CHAGATEK® (Biolab-Mérieux, Rio de Janeiro, Brazil).	No reporta marca								98.0%	75.0%							
	Bergmann 2013_c	ELIAGEN T. cruzi IgG + IgM (Adaltis, Bologna, Italy)									99.0%	53.0%							
6 (104)	Acosta 2013_a	Prueba inmuno cromatográfica para la detección cuantitativa de IgG anti <i>Trypanosoma cruzi</i>	ELISA Chagas test IICS-UNA	No declarado	Paraguay	97	105	202	Participantes positivos para toxoplasmosis, sífilis, tuberculosis, factor reumatoideo y hepatitis	Zona endémica	97%	95%							
	Acosta 2013_b	Test Inmunocromatográfico SD BioLine - Korea				51	43	94	Participantes positivos para toxoplasmosis, sífilis,		94%	100%							

7 (85 )	da Silva 2012_a	ELISA casera IgG total y subclases Ig G total: dilución 1:40	ELISA y Ensayo de hemaglutinación indirecta IHA No reporta marca	2006	Brasil	60	54	114	Participantes con enfermedad de Chagas, forma indeterminada, alteraciones cardíacas, alteraciones digestivas con o sin alteraciones cardíacas	Zona endémica	100%	100%		
	da Silva 2012_b	ELISA casera IgG Ig G 1: dilución 1:10											100%	90,7%
	da Silva 2012_c	ELISA casera IgG Ig G 2: dilución 1:10											100%	88,9%
	da Silva 2012_d	ELISA casera IgG Ig G 3: dilución 1:20											95%	98,1%
8 (102)	Pimenta 2019_a	ELISA IBMP-8.1		No declarado		215	122	337		Zona endémica	95,3%	100%		

	Pimenta 2019_b	ELISA IBMP-8.4	ELISA y hemaglutinación indirecta		Argentina, Bolivia, Paraguay				Individuos de área rural endémica		100%	100%
9 (94)	Pierimarch i 2013_a	ELISA automatizada utilizando 2 antígenos de T. cruzi diferentes (una proteína recombinante y un extracto completo de T. cruzi) TcF	No reporta marca In house ELISA, HAI No reporta marca (BioELISA Chagas, Biokiti, España) (antígeno recombinante) Prueba rápida comercial inmunométrica (Chagas Quick Test, Cypress Diagnostics, Bélgica)	No declarado	Venezuela Italia	55	77	132	Migrantes y donantes de sangre	Zona endémica y no endémica	98,1%	100%
	Pierimarch i 2013_b	ELISA automatizada utilizando 2 antígenos de T. cruzi diferentes (una proteína recombinante y un extracto completo de T. cruzi) IMT									96,3%	100%
10 (89)	Praast 2011	Abbott Architect Chagas	BioMérieux ELISA cruzi. Prueba de Wiener Lab Chagas ELISA recombinante 3.0. Abbott Chagas confirmatory immunoblot assay	No declarado	Alemania	655	9629	10284	Donantes de sangre de Alemania y pacientes de Brasil y Guatemala, Bolivia, Argentina y EEUU	Zona endémica y no endémica	99,8%	99,9%

11 (61)	Lozano 2019_a	Chagas Star-Pak (CSP; Chembio Inc., Medford, USA)	ELISA de antígeno lisado de Wiener y recombinante de Wiener	Abril a agosto 2018	Bolivia	304	381	685	Habitantes de las ciudades de Yacuiba y Villa Montes (provincia de Gran Chaco, departamento de Tarija)	Zona endémica	97,7%	97,4%
	Lozano 2019_b	Chagas Detect Plus (CDP; InBIOS International Inc., Seattle, USA)	Discordancia: ELISA (Chagatek, Laboratorio Lemos, Buenos Aires, Argentina)								98,4%	87,1%
12 (87)	Caicedo 2019_a	Test ELISA Chagas III BIOS	ELISA e IFI casera Hemaglutinación indirecta (Wiener Chagatest H AI)	2014 a 2016	Colombia	256	245	501	Sueros del Instituto Nacional de Salud, laboratorios departamentales de salud pública, donantes de sangre	Zona endémica	99,2%	97,9%
	Caicedo 2019_b	Nonconventional methods Synthetic peptides Umelisa Chagas UMA	Antígenos secretados-excretados								92,5%	97,5%
	Caicedo 2019_c	Recombinant antigens Architect System	de tripomastigote (TESA, bioMérieux Immunoblot)								98,4%	97,9%
	Caicedo 2019_d	Chagas ARCHII BioELISA Chagas BIOKIT									98,0%	94,6%
	Caicedo 2019_e	Chagatest ELISA A recombinante v. 4 WIENER									98,8%	97,9%
13 (90)	Caicedo 2019_f	T. cruzi AB DIAPRO									95,7%	97,1%
	Caicedo 2019_g	7.Chagas ELISA IGM + IgG VIRCEL									99,6%	97,5%
	Caballero 2019_a	ELISA casera con	TESA-blot Western blot	No declarado/	Panamá y Brasil	40	113	153	Donantes de sangre.	Zona endémica	100%	82,3%

		genotipo Burun ga	Chagatest Rec v3.0 Wiener kit						Participantes con leishmaniasis visceral, leishmaniasis cutánea y mucocutánea, <i>T. rangelyi</i> , fiebre reumática, toxoplasma, <i>P. falciparum</i>		100%	77,8%
	Caballero 2019_b	ELISA casera con genotipo MM1									100%	
	Caballero 2019_c	ELISA casera con genotipo Jose-IMT									100%	84,9%
	Caballero 2019_d	ELISA casera con genotipo Y									100%	88,4%
	Caballero 2019_e	ELISA casera con genotipo FCI									100%	81,4%
	Caballero 2019_f	ELISA casera con genotipo JJ									100%	78,7%
14 (6)	Mendicino 2018_a	RDT A: WIL Check Chagas (Wiener Lab SAIC, Argentina)	IHA (IHA Chagas Polychaco, Lemnos Laboratory SRL)	No declarado	Argentina	42	64	106	Habitantes de la provincia norteña de Santa Fe, ubicada en el Gran Chaco	Zona endémica	90,5%	100%
	Mendicino 2018_b	RDT B: SD BiolineCha gasAb Rapid (Standard Diagnostics Inc., Korea)	ELISA (Chagatest ELISA, Wiener Lab SAIC)								97,6%	93,8%
			Quando los resultados fueron discordantes, se realizó IFI con conjugados comerciales y froits preparados con epimastigotes de <i>T. cruzi</i> de la cepa Tulahuen 0.10									
15 (8)	Tonelli 2018_a	ELISA casera Epítipo 1 de células B derivados de la	ELISA (Gold Analisa, Brasil), IHA (Wiener Lab,	No declarado	Brasil	53	70	123	Participantes con forma indeterminada,	Zona endémica	60,3%	72,8%



		proteínas de superficie asociadas a mucina (MASP)																			
16 (9 1)	Pérez 2018	Architect Chagas	Pruebas inmunocromatográficas (ICT) y/o inmunofluorescencia indirecta (IFI)	Enero 2014-agosto 2017	España	307	3844	4151	Migrantes bolivianos	Zona no endémica	92,5%	100%									
17 (9 2)	Peverengo 2018_a	ELISA CP1 [antígenos FRA y SAPA (Ags)]	ELISA (Chagatest ELISA) e IHA (Chagatest IHA) de Wiener Lab (Argentina)	No declarado	Argentina	67	67	134	Donantes de sangre	Zona endémica	90,2%	100%									
											Peverengo 2018_b	compuesta por determinantes antígenicos MAP, TcD y TSSAII / V / VI	IFI	100%	92,5%						
											Peverengo 2018_c	CP1+CP3:		100%	100%						
18 (6 5)	Antinori 2018_a	ARCHITECT Chagas, Abbott, Chicago, IL, EE. UU.)	Estandar de referencia desconocido	30 de julio 2013 a 30 de julio 2014	Italia	48	453	501	Migrantes latinoamericanos	Zona no endémica	100%	99,7%									
											Antinori 2018_b	(BioELISA Chagas III, BiosChile, Santiago, Chile)	95,9%	99,7%							
											Antinori 2018_c	(T)Typanosoma cruzi IgG Rapid Test, Immunos park, SD, Roma, Italia)	89,2%	92,5%							
19 (6 6)	Navarro 2011	Rapid immunochromatographic test	IFI, ELISA	Mayo 2008 a diciembre 2009	España	57	219	276	Migrantes en España de Bolivia,	Zona no endémica	88%	94%									

		(ICT) (Simple Chagas WB, Operon)								Ecuador, Perú				
20 (9 8)	Mucci: 2017	ELISA con péptidos sintetizados	ELISA total, HAI No reporta marca	No declarado	Argentina	62	16	78	Participantes con leishmaniasis tegumentaria	Zona endémica	97%	97%		
21 (6 8)	Angehen 2017	Prueba rápida inmunocromatográfica Chagas Quick Test (CQT), Cypress diagnostics de Bélgica	ELISA total ELISA para Chagas III®, BioChile, Chile (Lis ELISA) ELISA recombinante Bio-Elisa Chagas®, Biokit, España (Ric-ELISA).	Abril 2009 a junio 2015	Italia	256	384	640	Migrantes y viajeros de países endémicos de Latinoamérica	Zona no endémica	82,8%	98,7%		
22 (4 0)	Egüez 2017_a	Chagas Stat-Pak (CST; Chembio Inc., Medford, USA)	Elisa total Wiener Lab (Rosario, Argentina), ELISA Wiener v2.0	Marzo a mayo 2014	Bolivia	209	133	342	Personas que asistieron al Laboratorio de Referencia Departamental Chuquisaca en Sucre	Zona endémica	87,0%	93,2%		
	Egüez 2017_b	Chagas Detect Plus (CDP; InBios Inc., Seattle, USA)	ELISA recombinante ELISA Wiener v3.0								93,4%	95,2%		
23 (1 05)	Neves 2016_a*	ELISA de proteínas recombinantes IBMP8.1	ELISA recombinante Immu-ELISA Chagas (Wama Diagnóstica, São Palo, Argentina)	No declarado	Brasil	280	20	300	Muestras de suero de individuos de áreas endémicas de EC en	Zona endémica	98,9%	100%		
	Neves 2016_b*	IBMP8.2									98,2%	90,0%		



	Neves 2016_c*	IBMP8.3	Brasil, batch 14D061)						Permambuco (Brasil) del Laboratorio de Referencia para la Enfermedad de Chagas (RLCD, Oswaldo). Cruz Foundation / PE, Brasil)		95,4%	95,0%
	Neves 2016_d*	IBMP8.4	ELISA total Chagas III (BIOSchile, Ingeniería Genética S.A., Santiago, Chile, batch 1F130525)								99,6%	100%
24 (69)	Neves 2016_a	Immuno-ELISA Chagas (lote 14D061; Wama Diagnóstica, São Paulo, Brasil) y Pathozyme®	IFI IFA (Inmunocruzi; Biomérieux)	No declarado	Brasil	186	499	685	Sueros obtenidos del banco de sueros de un laboratorio de referencia de participantes chagásicos con alteraciones cardíacas.	Zona endémica	97,3%	100%
	Neves 2016_b	Chagas (lote 7042779; Omega Diagnostics, Escocia, Reino Unido), recombinante	Western blot (TESA b lot; Biomérieux, Rio de Janeiro, Brasil)						Participantes no chagásicos donantes de un banco de sangre con dengue, filariasis, hepatitis B y C, VIH, HTLV, leishmaniasis, leptospirosis, rubéola, sarampión,		99,5%	99,2%
	Neves 2016_c	Chagas III (lote 1F130525; BIO Schile, Ingeniería Genética S.A., Santiago, Chile)									100%	100%
	Neves 2016_d	Gold ELISA Chagas (lote CHA132A; Rem, São Paulo)									99,5%	97,0%

									esquistosomiasis y sífilis.				
25 (3 9)	Shah 2014_a	Chagas Detect Plus (CDP) (InBios International Inc, Seattle) Suero	ELISA recombinante Wiener Recombinante v3.0 ELISA	Abril-mayo 2013	Bolivia	292	: 293	585	Participantes con enfermedad cardíaca temprana y avanzada.	Zona endémica	96,2%	98,8%	
	Shah 2014_b	Chagas Detect Plus (CDP) (InBios International Inc, Seattle) Sangre	HAI IHA (Chagas Polychaco kit; Lemos Laboratories, Buenos Aires, Argentina								99,3%	96,9%	
26 (9 9)	Reis 2014_a	26_a: ELISA rTc_11623.20	ELISA recombinante ELISA v. 3.0 kit, Chagatest	No declarado	Brasil	58	45	103	Participantes brasileros chagásicos y no chagásicos, pacientes con cardiopatía chagásica, leishmaniasis cutánea y visceral	Zona endémica	94,8%	98,2%	
	Reis 2014_b	26_b: ELISA rTc_N_10421.3	HAI Wiener Laboratorio Rosario, Argentina								89,6%	94,6%	
	Reis 2014_c	26_c: conjunto de a y b	Western blot (TESAcruz, bioMerieux Brasil)								95,5%	98,1%	
27 (1 03)	Izquierdo 2013	ELISA quimioluminiscente	ELISA total ELISA ID-PAGIA (DiaMed, Cresier sur Morat, Suiza) y Chagas Bioelisa Assa y (Biokit, Lliçà d'Amunt, España) PCR	No declarado	España	92	58	150	Migrantes y donantes de sangre Participantes con leishmaniasis visceral	Zona no endémica	100%	98,3%	

28 (71)	Cervantes 2013	Dot-ELISA	ELISA total, western blot	No declarado	México	96	153	360	Participantes con leishmaniasis, tuberculosis, neurocisticercosis, teniasis y toxoplasmosis	Zona endémica	97,0%	89,0%
29 (31)	Flores 2012_a	Prueba inmunocromatográfica Operon (ICT-Operon; Simple Stick Chagas Suero y plasma	ELISA total, IFI, PCR No reporta marca	No declarado	España	63	188	251	Migrantes y viajeros a países endémicos de Latinoamérica, nativos y personas nacidas en España con factores de riesgo epidemiológico.	Zona no endémica	100%	92,6%
		Simple Chagas WB Operon S. A., España)									91,8%	93,7%
		Sangre periférica										
	Flores 2012_b	Simple Chagas WB Operon S. A., España)										
	Flores 2012_c	Simple Chagas WB Operon S. A., España)									86,1%	94,8%
30 (72)	Iborra 2012	Inmunoensayo quimioluminiscente de micropartículas (ARCHITECT Chagas Abbott)	ELISA total T. cruzi ELISA test system; Ortho Clinical Diagnostics, EE. UU.)	No declarado	España	76	89	165	Migrantes de países endémicos de Latinoamérica	Zona no endémica	100%	96,6%

			IFI Immunofluor CHA GAS kit; Biocientífica S.A., Buenos Aires, Argentina										
31 (9 5)	Longhi 20 12	ELISA de T. cruzi y antígenos recombinantes JL7	Discordantes: inmunocromatográfico a Orsite Chagas Ab Combo- Cassete (CTK Biotec h, Inc. EE. UU.).	No declarado	Brasil	228	108	336	Participantes con enfermedad de Kala-azar, leishmaniasis, lupus eritematoso, miocardiopatías de etiología no chagásica, esquistosomiasis, diabetes juvenil, megaesófago idiopático y blastomycosis sudamericana	Zona endémica	100%	95,2%	
32 (7 4)	Barfied 20 11_a	Chagas STATPAK de Laboratorio Lemos, Argentina 15 minutos	ELISA total Biomérieux Chag aTek ELISA ELISA recombinante Laboratorio	No declarado	Argentina	190	185	375	No reporta características de los participantes	Zona endémica	95,3%	99,5%	

33 (75)	Barfiéd 2011_b	Chagas STATPAK de Laboratorio Lemos, Argentina 20 minutos	Lemos Biozima Chagas recombinante	No declarado	Bolivia, Brasil, España y otros países de Europa	76	54	130	Pacientes de La Paz, Bolivia Participantes de zonas no endémicas con leishmaniasis visceral o cutánea, sífilis y brucelosis.	Zona endémica y no endémica	95,8%	99,5%
	Barfiéd 2011_c	Prueba rápidaP ATH de Lemos 15 minutos									97,9%	96,2%
	Barfiéd 2011_d	Prueba rápidaP ATH de Lemos 20 minutos									99,5%	96,8%
	Barfiéd 2011_e	Prueba rápidaP ATH de Lemos 25 minutos									98,9%	94,0%
	Hernández 2010_a	ELISA de polipéptidos de fusión TcBCDE									ELISA Wiener Chagatest-ELISA Recombinante versión 3.0 (Wiener Laboratorios, Santa Fé, Argentina)	64
Hernández 2010_b	ELISA de polipéptidos de fusión TcBCDE	ELISA Wiener Chagatest-ELISA Recombinante versión 3.0 (Wiener Laboratorios, Santa Fé, Argentina)										

			Bioelisa Chagas (Biokit, Barcelona, España)																
	Hernández 2010_c	ELISA de polipéptidos de fusión TcBCDE	ELISA recombinante Chagas Stat-Pak (ChemBio Diagnostic Systems, Medford, NY), IFI HAI Wiener T. cruzi extracto crudo ELISA (EIE Biomanguinhos; Fiocruz, Rio de Janeiro, Brazil)			165	216	381	Pacientes de Brasil Zona endémica y no endémica			99%	99%						
34 (9 3)	Chapouis 2010_a	Stat-Pak en sangre	ELISA total y recombinante	Junio a noviembre 2008	Suiza	125	874	999	Migrantes latinoamericanos de varios países donde la enfermedad es endémica.	Zona no endémica		95,2%	99,9%						
	Chapouis 2010_b	Stat-Pak en suero	Stat-Pak assay: the bioMérieux Elisa cruzi Biokit bioelisa Chagas									96,0%	99,8%						
35 (1 01)	Dopico 2019_a	ELISA IBMP 8.1	ELISA total ORTHO® T. cruzi ELISA	No declarado	España	347	331	678	Muestras de suero de embarazadas latinoamericanas con toxoplasmosis y zika.	Zona no endémica		99,4%	100%						
	Dopico 2019_b	ELISA IBMP 8.4	Test System (Ortho Clinical Diagnostics Inc., Raritan, USA) ELISA recombinante Bioelisa CHAGAS (Biokit S.A., Barcelona, España) o BIO-FLASH® Chagas (automated chemilumi									99,1%	99,7%						

36 (7 6)	Reithinger 2010_a	Typanosoma Detect MRA prueba rápida; Inbios, Seattle, WA en	ELISA total, IFI, HAI No reporta marca	2000 a 2007	Reino Unido	40	61	101	Pacientes de Argentina	Zona endémica	82,5%	96,7%	
	Reithinger 2010_b	Typanosoma Detect MRA prueba rápida; Inbios, Seattle, WA en	Chagas III (BiosChile Ingeniería Genética S.A., Santiago, Chile) Chagatek ELISA (bioMérieux, Buenos Aires, Argentina) IFI, HAI No reporta marca			51	49	100			Pacientes de Ecuador	84,3%	95,9%
	Reithinger 2010_c	Typanosoma Detect MRA prueba rápida; Inbios, Seattle, WA en	Ki: Chagas III (BiosChile Ingeniería Genética S.A., Santiago, Chile) IFI, HAI No reporta marca			40	60	100			Pacientes de México	77,5%	100%
37 (3 5)	Reithinger 2010_d	Typanosoma Detect MRA prueba rápida; Inbios, Seattle, WA en	ELISA casero IFI, HAI No reporta marca	Enero 2009 a diciembre 2012	España	40	25	65	Pacientes de Venezuela	Zona no endémica	95,0%	100%	
	Abras 2016	ELISA quimiolumi nisciente Arc hitect	No reporta marca			114	200	314			Participantes con leishmaniasis, toxoplasmosi s, absceso hepático amebiano, malaria,	100%	97,6%





	Berrizbeitia 2012_b	ELISA de proteínas de secreción / excreción de epimastigotes Densidad óptica 0,500							98,0%	80,0%		
	Berrizbeitia 2012_c	ELISA de proteínas de secreción / excreción de epimastigotes Densidad óptica 0,600							98,0%	88,0%		
40 (96)	Neves 2018_a	ELISA de proteínas quiméricas IBMP 8.1	ELISA total y recombinante	No declarado	Brasil, otros países latinoamericanos y Estados Unidos	595	526	1121	Participantes con leishmaniasis	Zona endémica	96,4%	99,6%
	Neves 2018_b	ELISA de proteínas quiméricas 8.2	ELISA Chagas III (batch 1F130525; BIO SCHile, Ingeniería Genética S.A., Santiago, Chile)								93,5%	99,6%
	Neves 2018_c	ELISA de proteínas quiméricas 8.3	Immuno-ELISA Chagas (batch 14D061; Wama Diagnostica, São Paulo, Brasil)								96,8%	100%
	Neves 2018_d	ELISA de proteínas quiméricas 8.4	Pathozyme Chagas (Omega Diagnostics, Escocia, Reino Unido)								99,4%	100%
41 (80)	Neves 2017_a	ELISA de proteínas	ELISA total	No declarado	Brasil, Estados Unidos,	825	630	1455	Participantes positivos para	Zona endémica	97,4%	99,4%

		quiméricas IBMP 8.1	Immuno-ELISA Chagas (Wama Diagnóstica- SP, Brasil, batch 14D061)	México, Nicaragua, Guatemala, Honduras y Argentina	237	237	474	dengue, filariasis, hepatitis B, C, VIH, HTLV, leishm ania, leptospirosis, sarampión, rubeola, esquistosomi asis y sífilis	Zona endémica	94,3%	99,6%
	Neves 2017_b	ELISA de proteínas quiméricas IBMP 8.2								97,9%	99,9%
	Neves 2017_c	ELISA de proteínas quiméricas IBMP 8.3									
	Neves 2017_d	ELISA de proteínas quiméricas IBMP 8.4								99,3%	100%
42 (8 1)	Sánchez 2014_a	OnSite Chagas Ab Rapid test	ELISA total. IFI, HAI	Argentina, Brasil, Colombia, Costa Rica y México	237	237	474	Muestras existentes de los bancos de suero de cada laboratorio nacional de referencia.	Zona endémica	90,1%	91,0%
	Sánchez 2014_b	WL Check Cha gas								88,7%	97,0%
	Sánchez 2014_c	Trypanosoma Detect Rapid Test								92,9%	
	Sánchez 2014_d	Chagas Quick Test								92,9%	93,2%
	Sánchez 2014_e	Chagas Stat- Pak assay								87,2%	93,2%
	Sánchez 2014_f	SD Chagas Ab Rapid								90,7%	94,0%
	Sánchez 2014_g	Serodia Chaga s								94,2%	94,7%
	Sánchez 2014_h	ImmunoComb I Chagas Ab	97,2%	94,0%							
43 (8 2)	López 2010	Simple CHAGASWB (Operon S.A, España)	ELISA total (ELISAc) casera	España	49	92	148	Pacientes adultos procedentes de América Central y de América del Sur,	Zona no endémica	92,5% /	96,8%
			ELISA recombinante Bioelisa Chagas, BiokitS.A., España								



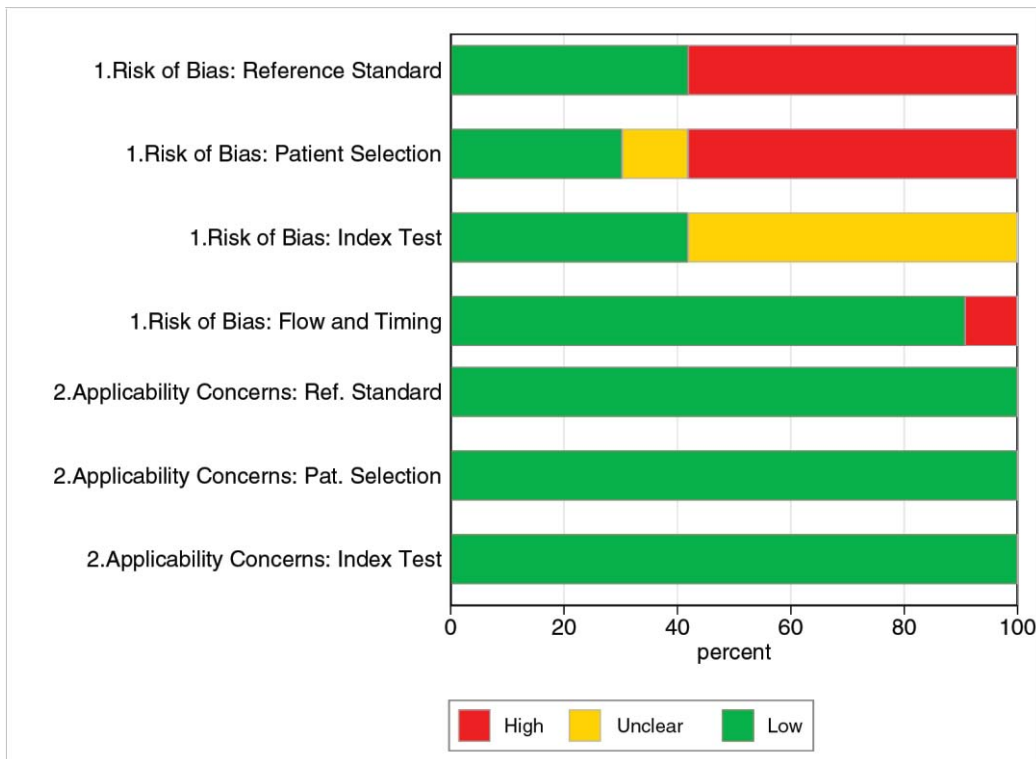
#### 4.1.3. Evaluación de la calidad metodológica

La evaluación de la calidad de los estudios incluidos en el análisis se muestra en las figuras 8a y 8b. El riesgo de sesgo fue evaluado en los cuatro dominios, la selección de pacientes se evaluó en riesgo de sesgo alto en 25 artículos debido a que no se utilizó una muestra consecutiva o aleatoria de pacientes; poco clara en cinco estudios que no especificaron el reclutamiento de pacientes. El riesgo de sesgo relacionado con la prueba índice se evaluó como poco claro en 25 artículos que no indicaron de forma clara si los resultados de las pruebas índice se interpretaron sin conocimiento de los resultados del estándar de referencia.

En cuanto al sesgo relacionado con la prueba de referencia, 25 estudios se clasificaron con riesgo alto, debido a que los resultados del estándar de referencia no se interpretaron sin conocer los resultados de la prueba índice y se utilizó una sola prueba diagnóstica como estándar de referencia, teniendo en cuenta que la Organización mundial de la Salud OMS establece como parámetro de diagnóstico serológico en la fase crónica de la enfermedad de Chagas, los resultados positivos en dos pruebas basadas en principios inmunológicos diferentes y en casos discordantes una tercera prueba (33). El flujo y tiempo se evaluó como riesgo alto en cuatro estudios debido a que no todos los pacientes recibieron el mismo estándar de referencia. En cuanto a la preocupación con respecto a la aplicabilidad en los tres primeros dominios, el 100% de los artículos se evaluaron con riesgo bajo porque coincidieron con la pregunta de revisión.

	1.Risk of Bias: a.Patent Selection	1.Risk of Bias: b.Index Test	1.Risk of Bias: c.Reference Standard	1.Risk of Bias: d.Flow and Timing	2.Applicab. Concerns: a.Pat. Selection	2.Applicab. Concerns: b.Index Test	2.Applicab. Concerns: c.Ref. Standard
Briceño 2010	+	+	+	+	+	+	+
Aria 2016	-	?	-	+	+	+	+
Mendicinbo 2014	+	+	+	+	+	+	+
Llano 2014	-	?	-	+	+	+	+
Bergmann Araujo 2013	+	?	-	+	+	+	+
Acosta de Hetter 2013	-	?	-	+	+	+	+
da Silva Santos 2012	-	?	-	+	+	+	+
Pimenta Del-Rei 2019	-	+	+	+	+	+	+
Pierimarchi 2013	-	?	-	-	+	+	+
Praast 2011	-	?	-	+	+	+	+
Lozano 2019	+	?	-	+	+	+	+
Caicedo Díaz 2019	-	+	+	+	+	+	+
Caballero E. 2019	-	?	-	+	+	+	+
Mendicino 2018	+	+	+	+	+	+	+
Tonelli Elisei 2018	-	?	-	+	+	+	+
Pérez-Ayala 2018	+	?	-	-	+	+	+
Peverengo 2018	-	?	-	+	+	+	+
Antinori 2018	+	?	-	+	+	+	+
Navarro 2011	+	?	-	+	+	+	+
Mucci 2017	-	+	+	+	+	+	+
Anghoben 2017	+	+	+	+	+	+	+
Egúez 2017	+	+	+	+	+	+	+
Neves 2016	-	+	+	+	+	+	+
Neves 2016	-	+	+	+	+	+	+
Shah 2014	+	+	+	+	+	+	+
Reis 2014	-	?	-	+	+	+	+
Izquierdo 2013	?	?	-	-	+	+	+
Cervantes 2013	-	?	-	+	+	+	+
Flores 2012	-	?	-	+	+	+	+
Iborra 2012	+	?	-	+	+	+	+
Longhi 2012	?	+	+	+	+	+	+
Barfied 2011	-	+	+	+	+	+	+
Hernández 2010	?	?	-	-	+	+	+
Chapouis 2010	+	+	+	+	+	+	+
Dopico 2019	-	+	+	+	+	+	+
Reithinger 2010	-	?	-	+	+	+	+
Abras 2016	-	?	-	+	+	+	+
Whittman 2019	-	+	+	+	+	+	+
Berrizbeitía 2012	-	?	-	+	+	+	+
Neves 2018	?	?	-	+	+	+	+
Neves 2017	-	+	+	+	+	+	+
Sánchez 2014	-	+	+	+	+	+	+
López 2010	?	?	-	+	+	+	+

a.



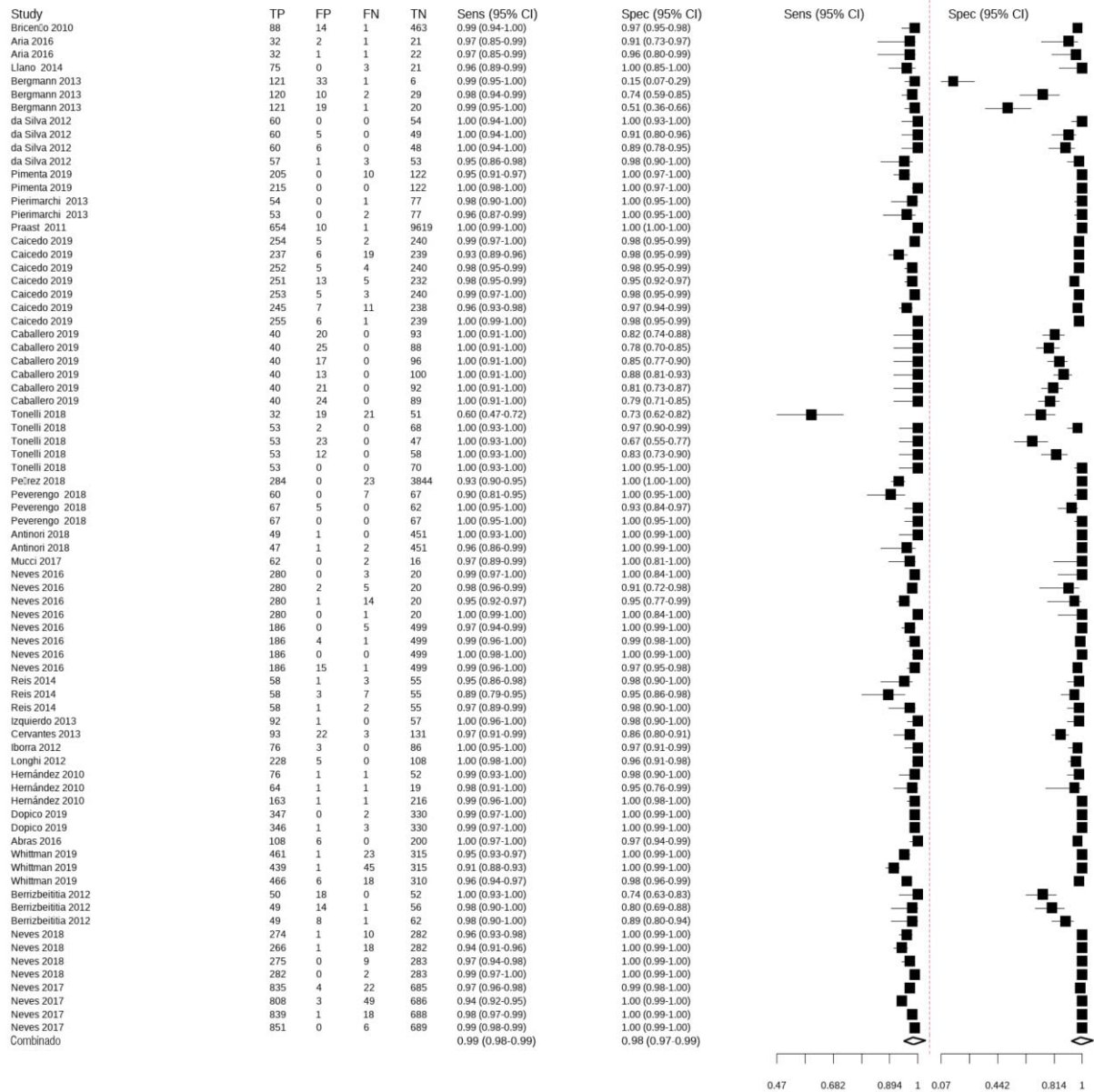
b.

**Figura 8. (a) Riesgo de sesgo y aplicabilidad. (b) Resumen del riesgo de sesgo y aplicabilidad**

#### 4.1.4. Sensibilidad y Especificidad de las pruebas ELISA

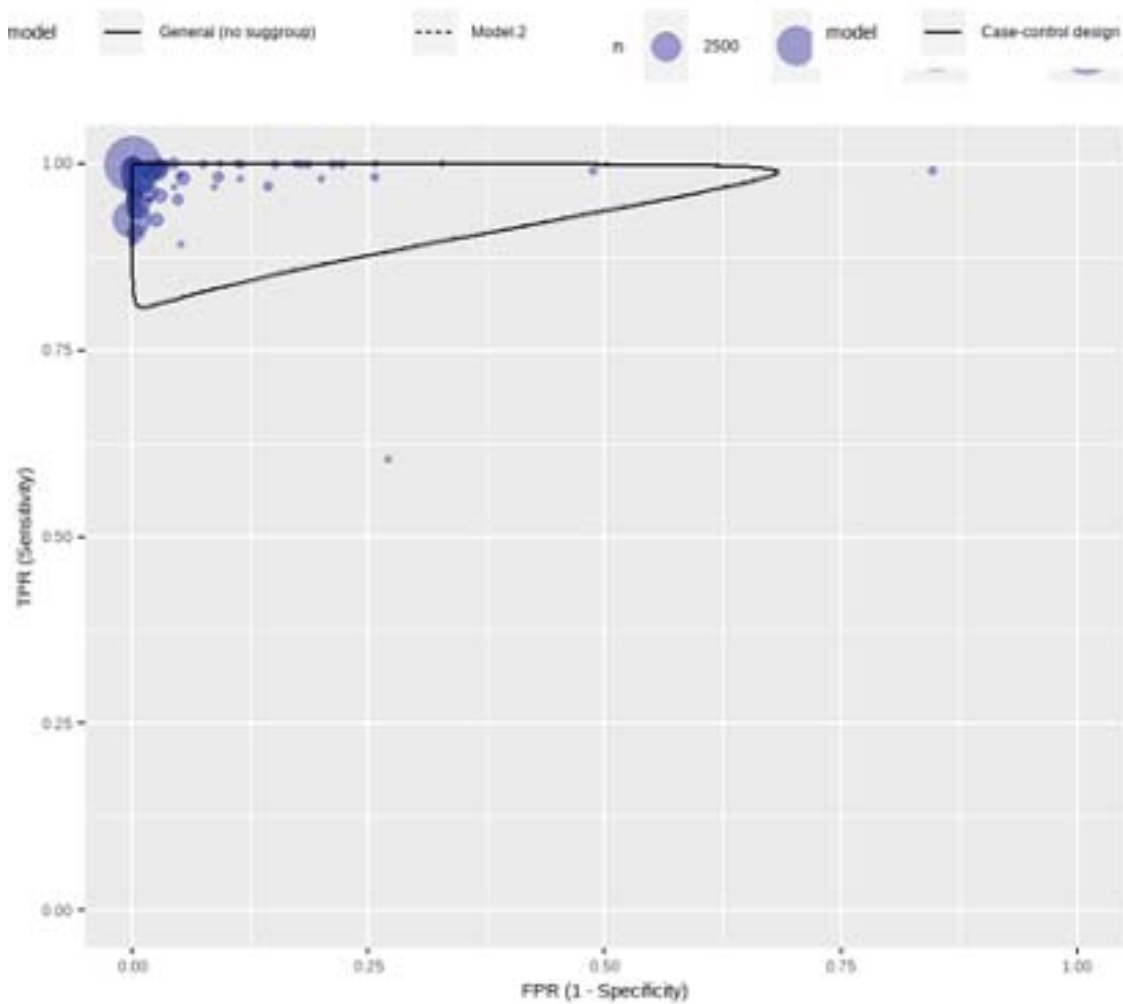
Como modelo común para ambas pruebas se escogió el modelo de efectos aleatorios con distribución normal y con tipo de enlace probit, porque fue el modelo que mejor se ajustó para las pruebas de ELISA y PDR.

Las pruebas ELISA tuvieron una sensibilidad global de 99% (IC95% 98 – 99) y una especificidad global de 98% (IC95% 97 – 99) (Figura 9), con cierto nivel de heterogeneidad, algunos estudios presentaron valores atípicos en sensibilidad (86) y en especificidad (83). En la región predictiva (Figura 10) se observa mayor heterogeneidad en la especificidad que en la sensibilidad.



**Figura 9. Sensibilidad y especificidad de las pruebas ELISA en los estudios incluidos en el metanálisis.**

VP = verdaderos positivos; FP = falsos positivos; FN = falsos negativos; VN = verdaderos negativos.

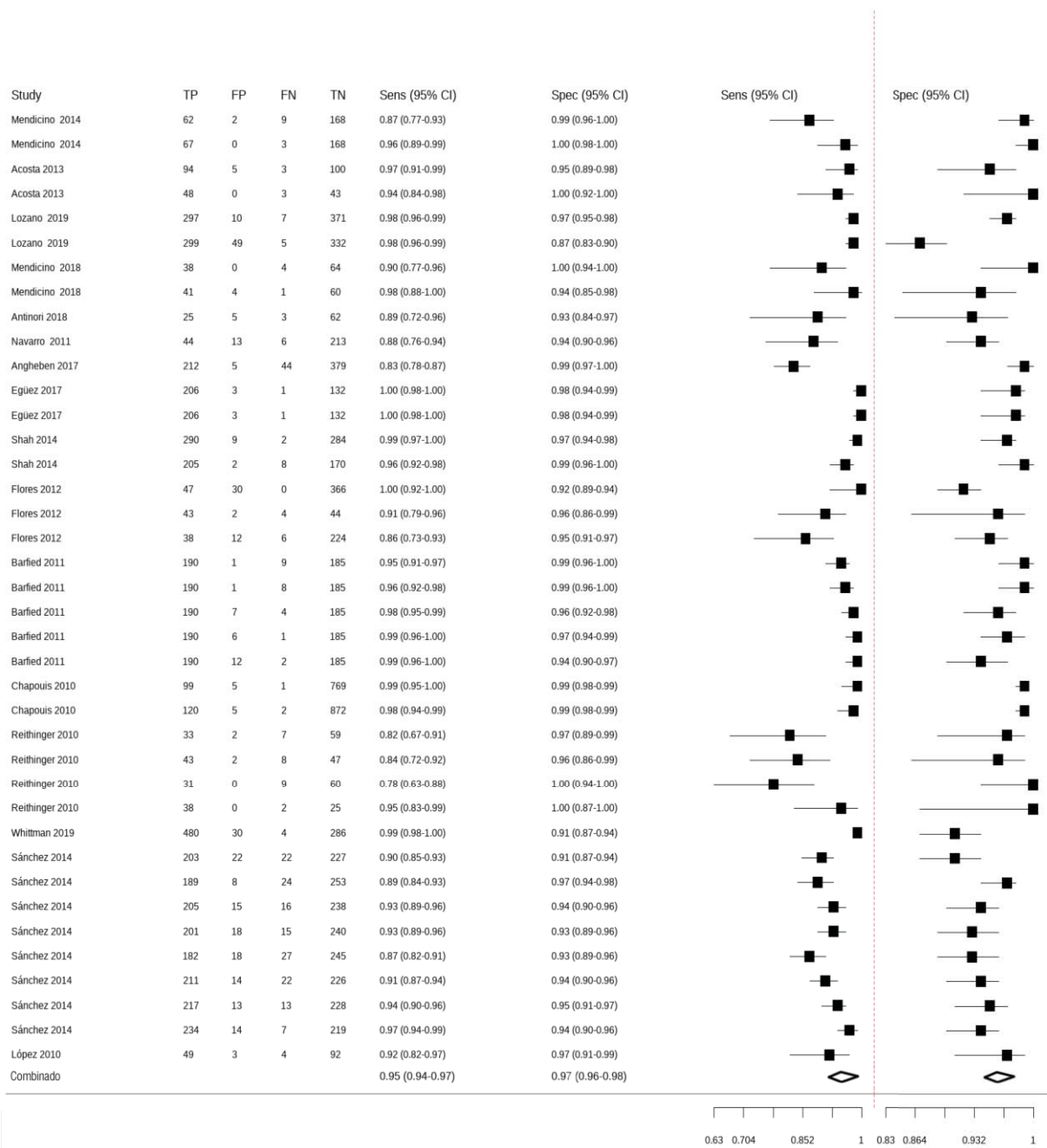


**Figura 10. Región predictiva en el espacio ROC con todos los estudios para las prueba ELISA.**

#### 4.1.6. Sensibilidad y Especificidad de las pruebas PDR

Las PDR tuvieron una sensibilidad global de 95% (IC95% 94 - 97) y una especificidad global de 97% (IC95% 96 – 98), los estudios con valores atípicos fueron menos evidentes (40,76,97), (Figura 11). La región predictiva (Figura 12) es más simétrica, y presenta una heterogeneidad un poco mayor para la sensibilidad.





**Figura 11. Sensibilidad y especificidad de las PDR en los estudios incluidos en el metanálisis.**

VP = verdaderos positivos; FP = falsos positivos; FN = falsos negativos; VN = verdaderos negativos.

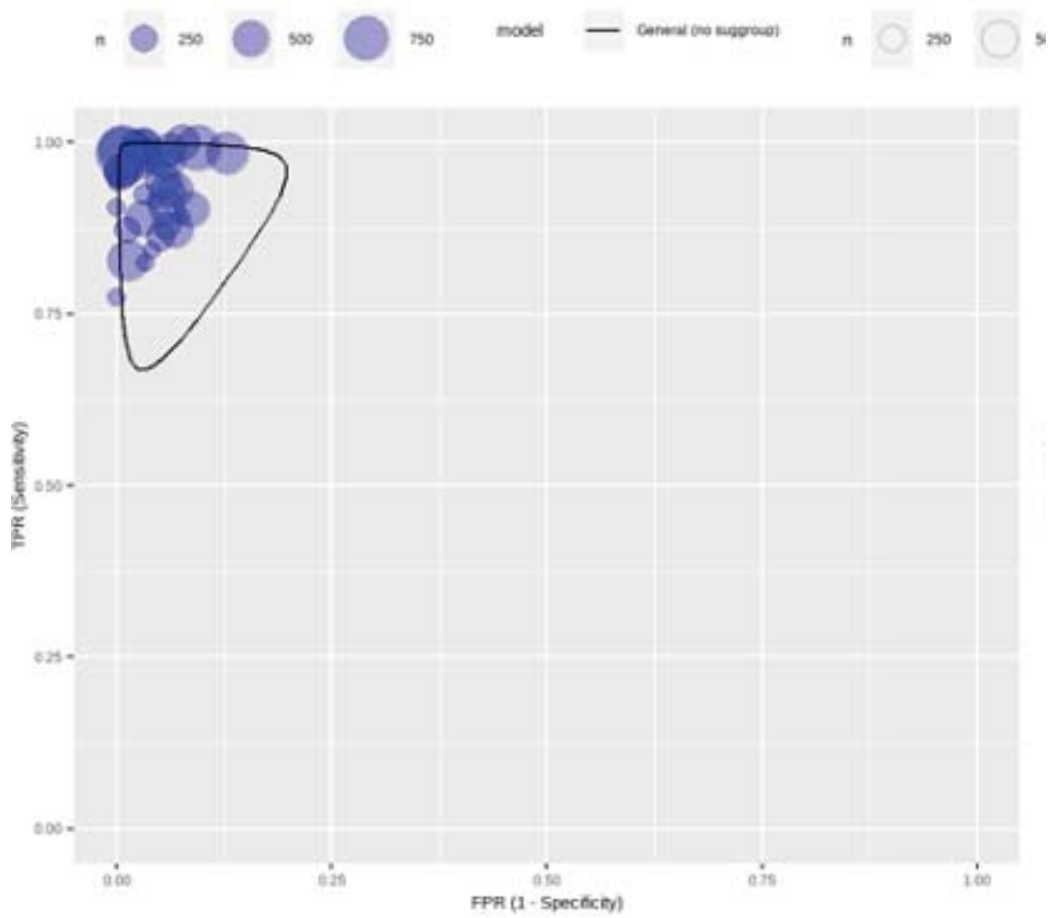
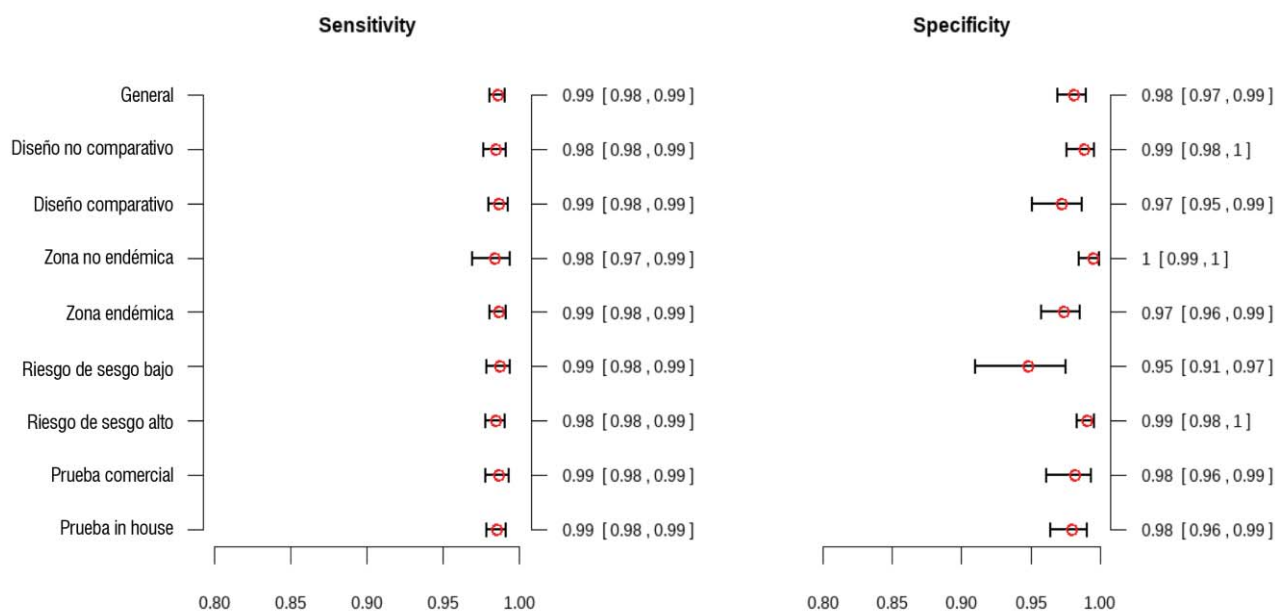


Figura 12. Región predictiva en el espacio ROC con todos los estudios para PDR.

#### 4.1.8. Sensibilidad y especificidad de acuerdo a subgrupos

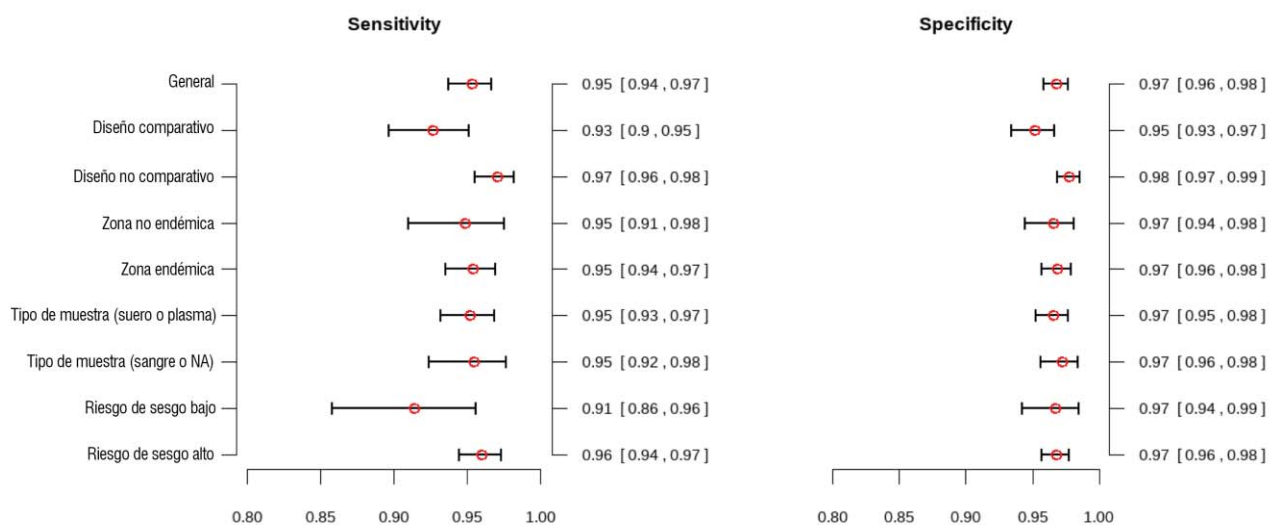
En cuanto a la sensibilidad y especificidad la información fue analizada para las pruebas ELISA y PDR- teniendo en cuenta los subgrupos: diseño de estudio (no comparativo y clínico comparativo), zona de realización del estudio (endémica y no endémica) riesgo de sesgo (alto y bajo), para las pruebas de ELISA un subgrupo adicional tipo de prueba (comercial y casera) mientras que para las PDR se analizó el tipo de muestra (suero, sangre /desconocido -para un estudio que no reportó esta información).

En el test Elisa, las estimaciones de la sensibilidad por subgrupos son similares, la estimación central oscila entre 98% o 99%, y los IC van de 98% a 99%; en cuanto a la especificidad, el subgrupo de bajo riesgo de sesgo fue el que presentó una menor especificidad 95% (IC95% 91 - 97) y el de zona no endémica en el que se reportó mayor especificidad 100% (IC95% 99 - 100) (Figura 13).



**Figura 13. Estimación de la sensibilidad y especificidad de las pruebas ELISA según subgrupos.**

Para las PDR's la estimación de la sensibilidad según subgrupos varía más que la especificidad. La especificidad suele presentar IC que van desde 93% a 99%, la diferencia más notable (sin superposición de los IC) es entre el subgrupo de diseño no comparativo 98% (IC95% 97 - 99) y el de diseño clínico comparativo 95% (IC95% 93 - 97). La sensibilidad suele presentar IC que van desde 91% hasta 97%, donde la diferencia más notable (sin superposición de los IC) ocurre también entre el subgrupo de diseño no comparativo 97% (IC95% 96 - 98), y el de diseño clínico comparativo: 93% (IC95% 90 - 95) (Figura 14).



**Figura 14. Estimación de la sensibilidad y especificidad de las PDR según subgrupos.**

#### 4.1.9. Heterogeneidad

Se realizó una estimación formal de la heterogeneidad utilizando el  $I^2$  bivariado (106) en cada metaregresión, comparada con el modelo sin el subgrupo. En las pruebas ELISA las estimaciones en general fueron bastante similares entre las meta-

regresiones (inferior a 40%) (Tabla 2). Por otra parte, respecto a la heterogeneidad de las PDR en la estimación general (49.2%), se observa una variación con la meta-regresión para riesgo de sesgo ( $I^2 = 13.7\%$  en estudios con alto riesgo,  $I^2 = 57.0\%$  con bajo riesgo) y para tipo de estudio ( $I^2 = 49,9\%$  en estudios no comparativos,  $I^2 = 1.3\%$  en estudios comparativos) (Tabla 3). Según este análisis, los estudios con PDR fueron más homogéneos en los subgrupos de alto riesgo de sesgo y de estudios comparativos que en sus respectivas contrapartes y que en el grupo global.

**Tabla 2. Estudio de la heterogeneidad para pruebas de ELISA**

Variable	Subgrupo	N	$I^2$ General %	$I^2$ Sensibilidad %	$I^2$ Especificidad %
	General	76	23.9	30.0	19.2
Diseño de estudio	Comparativo	43	20,9	31.4	13.9
	No comparativo	33	23.4	22.9	24.5
Zona de estudio	Endémica	63	18.3	30.2	17.2
	No endémica	13	27.8	26.6	29.0
Riesgo de sesgo	Alto	44	31.7	23.3	43.4
	Bajo	32	20.1	40.3	12.6
Tipo de prueba	"In se"	49	29.2	28.4	30.1
	Comercial	27	20.4	33.4	12.9

$I^2$  bivariado estimado por meta-regresión

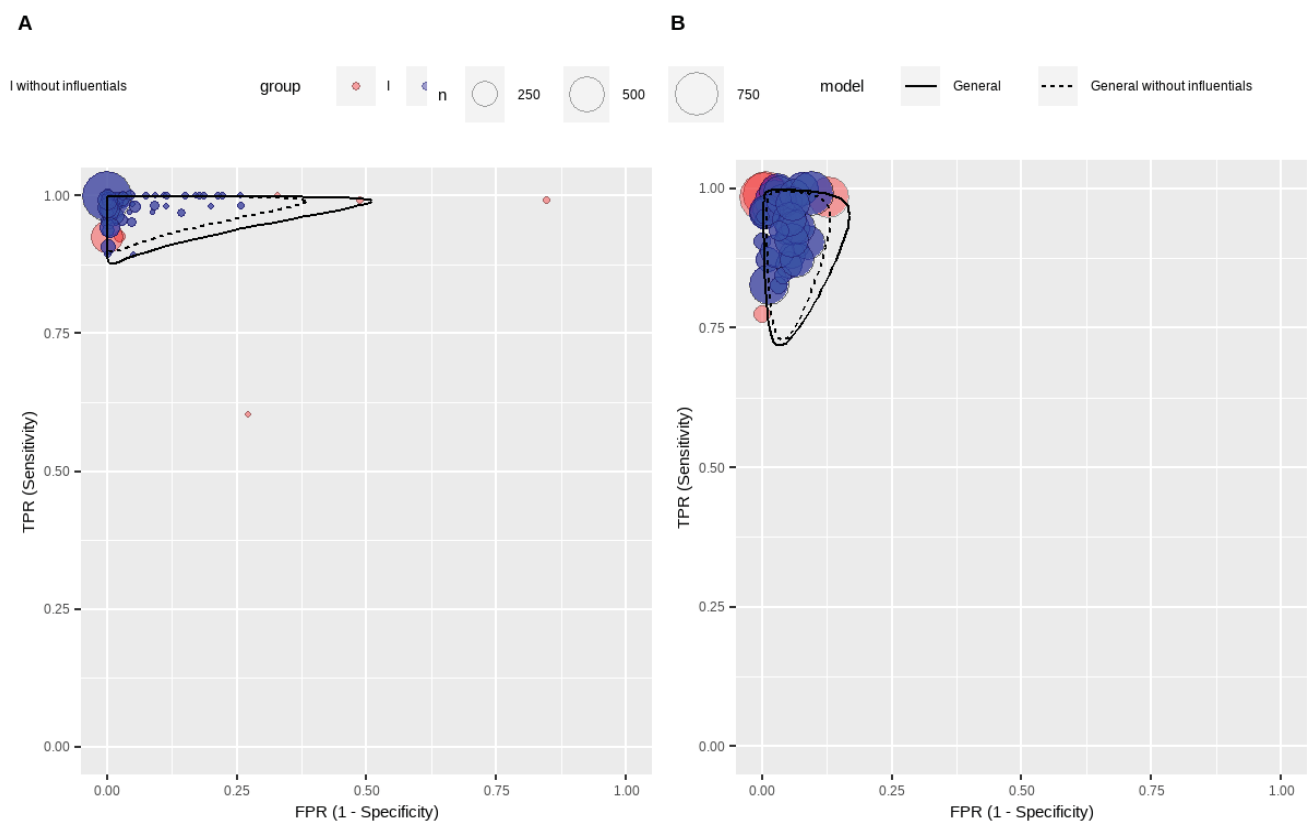
**Tabla 3. Estudio de la heterogeneidad para PDR**

Variable	Subgrupo	N	$I^2$ General %	$I^2$ Sensibilidad %	$I^2$ Especificidad %
	General	39	49.2	53.1	45.5
Diseño de estudio	Comparativo	18	1,3	54.1	13.4
	No comparativo	21	49,9	53.0	48.5
Zona de estudio	Endémica	29	55.3	50.9	59.6
	No endémica	10	41.7	51.2	33.4
Riesgo de sesgo	Alto	30	13.7	28.0	16.7
	Bajo	9	57.0	57.6	56.6
Tipo de muestra	Suero_o_plasma	27	52.7	59.3	46.2
	Sangre_o_NA	12	45.3	44.8	46.3

$I^2$  bivariado estimado por meta-regresión

#### 4.1.5. Análisis de observaciones influyentes

En los estudios de pruebas ELISA los estudios influyentes fueron cuatro (83,86,87,91) y en los estudios de PDR fueron 5 (40,73,76,93,97). Para cada prueba se ajustaron dos modelos (un modelo con todos los estudios y un segundo para todos los estudios excepto los influyentes) para observar el efecto de excluir los estudios influyentes, sobre la precisión y la región predictiva de las mismas. Ambos modelos mostraron una región predictiva similar. Un elemento de interés fue que los estudios influyentes de las pruebas ELISA fueron siempre estudios con diseño clínico-comparativo, mientras que para las PDR fueron estudios no comparativos (Figura 15 y 16).

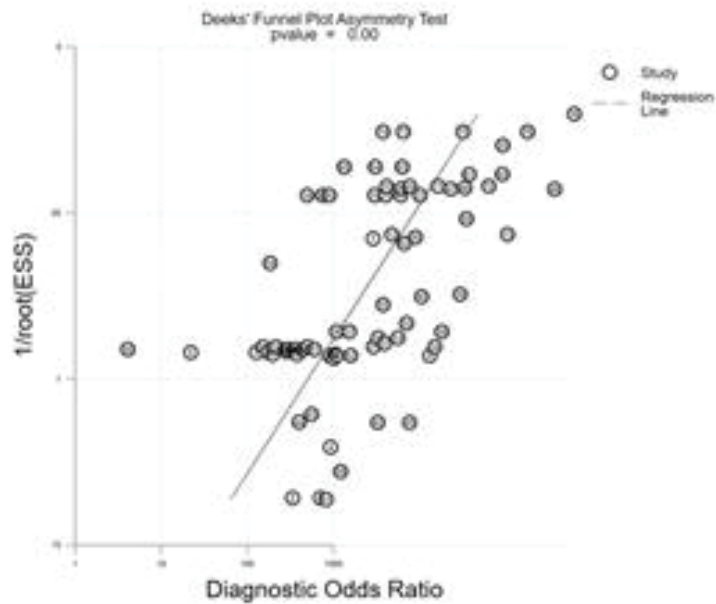


**Figura 15. Región predictiva en el espacio ROC globales y al excluir los estudios con más influencia para las pruebas Elisa (A) y para las PDR (B).**

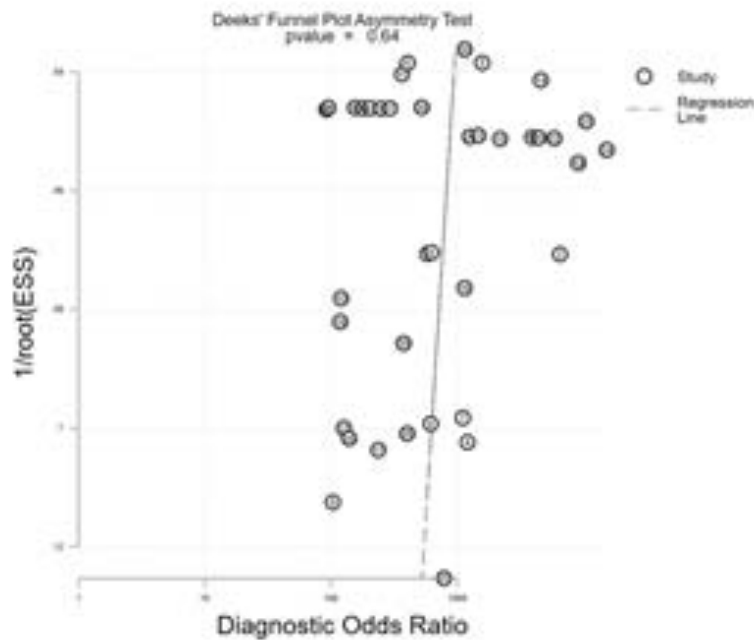
Círculos rojos estudios influyentes  
Círculos azules estudios no influyentes

#### 4.1.10. Sesgo de publicación

En los funnel plots se observó asimetría para las pruebas ELISA mientras que no se observó asimetría en las PDR. El resultado del test de asimetría de Deeks fue estadísticamente significativo para las pruebas ELISA ( $p < 0,01$ ), pero no para las pruebas PDR ( $p = 0,64$ ), (Figura 16 y 17).



**Figura 16. Funnel Plot para evaluar el sesgo de publicación para pruebas Elisa.**



**Figura 17. Funnel plot para evaluar el sesgo de publicación para las PDR.**

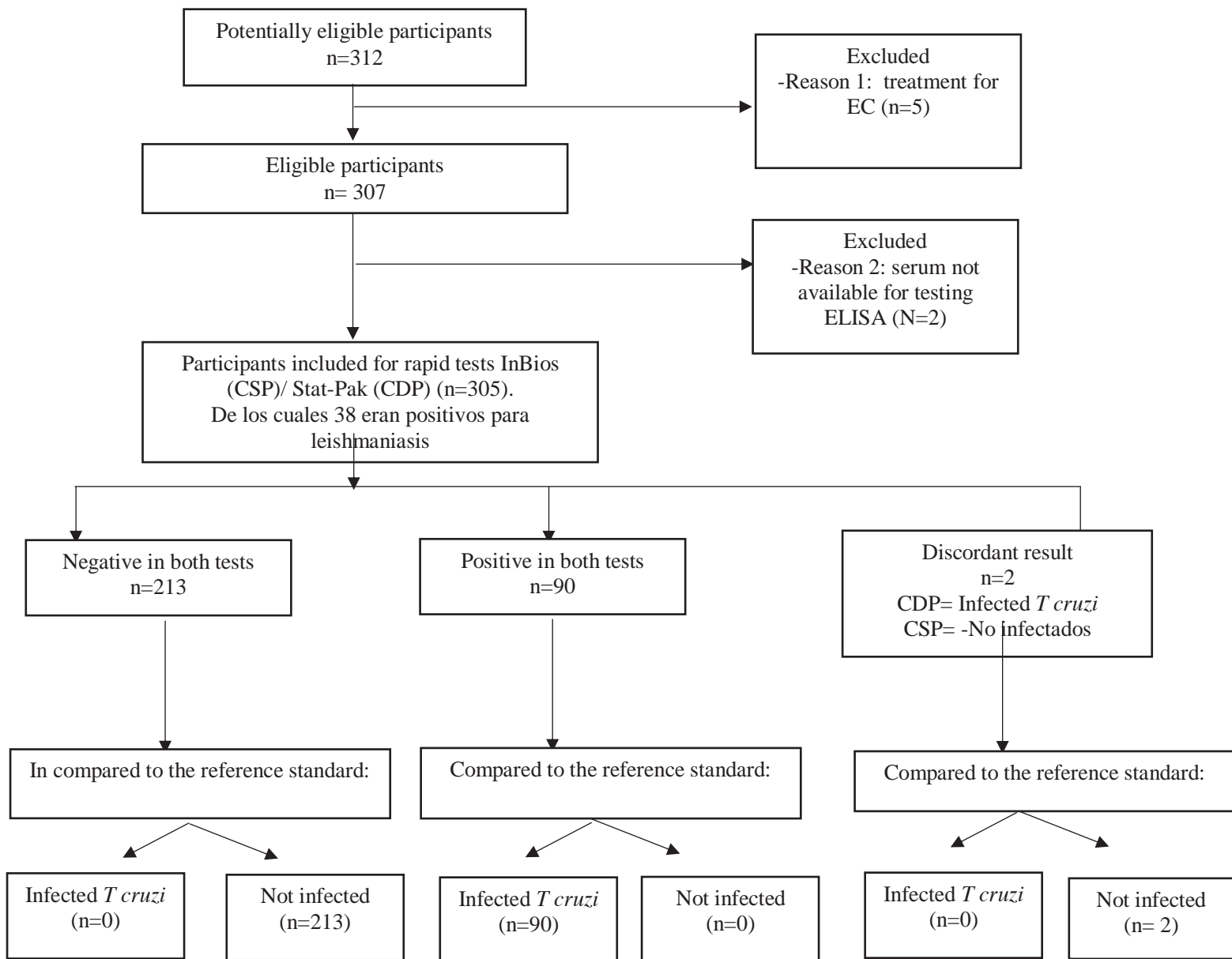
#### 4.2. Capítulo 2:

##### 4.2.1. Flujo y características demográficas de los participantes

El presente estudio fue realizado entre junio y noviembre de 2019, las PDR y las pruebas de referencia se realizaron en la misma visita, se incluyeron 305 participantes de acuerdo a los criterios de inclusión y exclusión, de los cuales 215 fueron negativos para *T cruzi* y 90 positivos según el criterio de referencia, no se presentaron resultados indeterminados. Se obtuvieron 2 muestras discordantes para las dos PDR, que fueron negativas en las pruebas de referencia (Figura 19).

De los participantes 60.7% eran mujeres, 39.3% eran hombres, la edad media fue de 47.1 años (DE=18.5), la mínima de 3 años y la máxima de 80. La distribución por rangos de edad fue: de 3 a 20 años 12.8%; 21 a 40 años 18.6; 41 a 60 años 42.3% y de 61 a 80 años 26.3%; los individuos eran procedentes de los municipios de: Soatá 34.4%; Tipacoque 21.0%; Chitaraque 18.7%; Otanche 10.5%; Moniquira 9.8%; Miraflores 3.6% y San Pablo de Borbur 2.0%.





**Figura 19. Diagrama de flujo de participantes en el estudio y resultados de las PDR y ELISA.**

La seroprevalencia obtenida en la población de los siete municipios del departamento de Boyacá fue de 29.5% (90/305), de acuerdo al sexo los hombres presentaron mayor seroprevalencia (31,6%) que las mujeres (28,1%). La categoría de edad con mayor prevalencia fue de 61 a 80 años con 52.5%, seguida por 41 a 60 años con 34.9%. Los

municipios con mayor número de casos de infección por *T. cruzi* fueron Miraflores con 72.2%; seguido de Moniquirá 56.7%; Chitaraque 38.6% (Tabla 4). Los participantes que fueron positivos para la EC fueron remitidos al programa de vigilancia de EC, que es realizado por la Secretaria de Salud de Boyacá para valoración médica y respectivo tratamiento.

**Tabla 4. Caracterización de la población incluida en el estudio (n=305)**

Variables	Positivo		Negativo		Total
	n	(%)	n	(%)	
<b>Sexo</b>					
<b>Femenino</b>	52	(28,1)	133	(71,9)	185
<b>Masculino</b>	38	(31,6)	82	(68,4)	120
<b>Rangos de Edad</b>					
<b>3 – 20</b>	0	(0)	39	(100)	39
<b>21 – 40</b>	3	(5,3)	54	(65,1)	57
<b>41 - 60</b>	45	(34,9)	84	(65,1)	129
<b>61 - 80</b>	42	(52,5)	38	(47,5)	80
<b>Procedencia</b>					
<b>Tipacoque</b>	17	(26,6)	47	(73,4)	64
<b>Soatá</b>	25	(23,8)	80	(76,2)	105
<b>Moniquira</b>	17	(56,7)	13	(43,3)	30
<b>Chitaraque</b>	22	(38,6)	35	(61,4)	57
<b>Miraflores</b>	8	(72,3)	3	(27,7)	11
<b>Otanche</b>	1	(3,1)	31	(96,9)	32
<b>San Pablo de Borbur</b>	0	(0)	6	(100)	6

#### 4.2.2. Evaluación de las Pruebas serológicas convencionales

Se presentó entre las pruebas de ELISA dos muestras con resultados discordantes (participantes sin infección por *T. cruzi* con Leishmaniasis) que se procesaron con una tercera prueba IFI, de acuerdo al algoritmo para el diagnóstico de la EC (29,32), obteniendo títulos con fluorescencia muy cerca pero por debajo del valor de referencia (Tabla 5), por lo que se procedió a tomar una nueva muestra a los dos participantes, realizar las pruebas convencionales y las PDR después de 30 días de acuerdo a los lineamientos descritos en la guía para la Vigilancia por Laboratorio del *T. cruzi* (33), obteniendo nuevamente resultados positivos en la prueba de ELISA de antígenos totales, negativos en ELISA de antígenos recombinantes y no reactivo en la prueba de IFI por lo que se consideraron negativos para la EC.

**Tabla 5. Resultados discordantes obtenidos en las PDR y en la serología convencional**

Datos clínicos de los participantes	CDP	CSP	ELISA Chagas III GrupoBios antígenos totales	ELISA IgG+IgM I Vircell antígenos recombinantes	IFI	Resultados Final de acuerdo al algoritmo diagnóstico de la EC crónica [19]
Positivo para <i>Leishmania</i>	Negativo	Negativo	Positivo	Negativo	NR	Negativo
Positivo para <i>Leishmania</i>	Negativo	Negativo	Positivo	Negativo	NR	Negativo
Negativo para <i>Leishmania</i>	Positivo	Negativo	Negativo	Negativo	N. A	Negativo
Negativo para <i>Leishmania</i>	Positivo	Negativo	Negativo	Negativo	N. A	Negativo

NR: No reactivo

N.A No aplica de acuerdo al algoritmo para el diagnóstico de la EC

### 4.2.3. Evaluación de las PDRs

La CDP detectó dos casos falsos positivos que fueron confirmados como negativos con la serología convencional, los resultados de la CSP coincidieron con los obtenidos en las pruebas de referencia (Tabla 6).

**Tabla 6. Distribución conjunta de los resultados de las PDR y la serología convencional para el diagnóstico de la EC**

CDP	Prueba de referencia		
	Positivos	Negativos	Total
Positivos	90	2	90
Negativos	0	213	215
Total	90	215	305
CSP	Prueba de referencia		
	Positivos	Negativos	Total
Positivos	90	0	90
Negativos	0	215	215
Total	90	215	305

La sensibilidad de las dos PDR fue igual a 100%, la especificidad, VPP y ED obtenidos con la CDP fueron más bajos que los de la CSP (Tabla 4), debido a los dos casos falsos positivos. El análisis de LR+ y LR- mostró que las PDR pueden confirmar y excluir el diagnóstico de EC. En ninguna de las dos PDR se presentó reacción cruzada con las muestras de pacientes positivos para leishmaniasis (Tabla 7).

**Tabla 7. Índices de validez de las PDR para el diagnóstico de la Enfermedad de Chagas**

Índices	CDP	CSP
Sensibilidad % (IC 95%)	100 (95.9 – 100)	100 (95.9 – 100)
Especificidad % (IC 95%)	99.1 (96.6 – 99.8)	100 (98.3 – 100)
ED % (IC 95%)	99.3 (97.1 – 100)	100 (98.3 – 100)
VPP % (IC 95%)	97.8 (92.3 – 99.7)	100 (95.9 – 100)
VPN % (IC 95%)	100 (98.2 – 100)	100 (98.3 – 100)
LR+	107.4	9999.0
LR-	0.0	0.0

El nivel de concordancia de la CDP con los resultados de las pruebas de referencia fue de 99.5% y del CSP fue del 100% con un excelente valor de Kappa (k=99.1; IC95% 92.6-99.8%) y (k=100; IC95% 94.3-100) respectivamente.

## 5. DISCUSIÓN

## 5.1. Capítulo 1:

La sensibilidad y la especificidad combinadas de las pruebas ELISA fue 99% (IC95% 98 – 99) y 98% (IC95% 97 – 99) y de las PDR`s 95% (IC95% 94 - 97) y 97% (IC95% 96 – 98) respectivamente. De acuerdo a los resultados obtenidos en el presente metanálisis, se encontró que la sensibilidad de las pruebas ELISA fue mayor a la reportada en un metaanálisis en donde se compararon pruebas ELISA versus PCR (107) y en el que la sensibilidad fue de 97.7% [96.7%-98.5%], igual a lo observado en cuanto a la especificidad que en el presente estudio fue mayor, a la reportada por ellos 96.3% [94.6%-97.6%]. La sensibilidad de las pruebas ELISA también fue mayor que en otro metanálisis donde se analizaron diferentes tipos de pruebas para el diagnóstico de la EC en el que obtuvieron resultado de sensibilidad de 90% [89%-91%], mientras que en la especificidad fue de 98% [98%-98%] (108), como en el presente estudio. Respecto a las PDR los datos de sensibilidad y especificidad obtenidos en el presente estudio fueron menores que los reportados en otro metanálisis realizado en población de riesgo para la EC que fueron de 96.6% (IC95% 91.3-98.7) y 99.3% (IC95% 98.4-99.7) respectivamente (109).

El diseño más adecuado para estudios de precisión diagnóstica corresponde al estudio observacional no comparativo (de cohorte o transversal) en el que a una serie consecutiva y representativa de pacientes con sospecha de la enfermedad se les realiza, de forma ciega e independiente, la prueba a evaluar y la prueba de referencia, las cuales son interpretadas en ausencia de toda información clínica adicional que tampoco estará disponible cuando la prueba se utilice en la práctica. La mayoría de los estudios de evaluación de pruebas diagnósticas en la literatura tienen en cuenta el enmascaramiento del resultado de la prueba de referencia, pero pocos de ellos se adhieren a este diseño no comparativo (110). En el presente estudio se han encontrado valores de sensibilidad y especificidad menores en los estudios de PDR con un diseño clínico comparativo, en los que se incluyeron un grupo de pacientes diagnosticados de la enfermedad y un grupo sin este diagnóstico; lo anterior es un resultado poco frecuente debido a que los estudios con diseño clínico comparativo o

“caso-control” tienden a supraestimar la sensibilidad y la especificidad; sin embargo, es posible que este efecto sólo se produzca cuando en el grupo de casos se incluyen casos severos (111). En cuanto a la heterogeneidad las estimaciones para las pruebas ELISA fueron similares para todos los subgrupos, mientras que, para las PDR, fueron más heterogéneos en los subgrupos de bajo riesgo de sesgo y de estudios no comparativos que en sus respectivas contrapartes.

El 62,7% de los estudios se localizaron en región endémica con población nativa de países como Brasil, Argentina, Bolivia, Venezuela, Paraguay, México, Colombia, Guatemala, Panamá, Ecuador, Perú, Nicaragua, Honduras y Costa Rica. El 27,9% de los estudios se realizaron en regiones no endémicas, pero con población migrante de países como España, Estados Unidos, Italia, Suiza y Reino Unido. En el presente estudio se evidencio mayor especificidad para las pruebas ELISA en zona no endémica y mayor sensibilidad para zona endémica. El rendimiento diagnóstico en las PDR fue igual para zona endémica y no endémica, lo anterior difiere con lo reportado por Angheben et al (109) , en el que el rendimiento fue mayor en áreas endémicas que no endémicas.

El riesgo de sesgo en los estudios incluidos se evaluó con la herramienta QUADAS-2, de acuerdo con la presencia o ausencia de riesgo, en las pruebas ELISA la sensibilidad en los estudios con riesgo de sesgo bajo o alto fue muy parecida, diferente a lo descrito por Afonso et al donde se reportó mayor sensibilidad en los estudios de riesgo bajo que en los de riesgo alto (108). En cuanto a la especificidad, fue mayor en los artículos que presentaron alto riesgo de sesgo, diferente a lo reportado por el metaanálisis del año 2012 (108), en el que los estudios de bajo riesgo presentaron mayor especificidad 98% (CI95% 97 – 99). En general en cuanto a la calidad de los artículos incluidos se identificó que el mayor riesgo se presentó en la selección de pacientes y en el estándar de referencia, además no se evidencio claridad en el test índice en más del 50% de los estudios; de otra parte, en los ítems de aplicabilidad los estudios seleccionados no presentaron riesgo, similar a lo descrito en el metanálisis realizado por Angheben et al (109) en relación a la calidad de los estudios de PDR.



No se observaron diferencias de sensibilidad entre las pruebas ELISA in house y comerciales, lo mismo se presentó para la especificidad en los dos tipos de pruebas, esto difiere con lo reportado en una revisión sistemática realizada por Afonso et al (112), en la que se indica que las pruebas comerciales fueron más sensibles que las in house; sin embargo, la especificidad fue similar entre las dos, tal como se ha observado en el presente metaanálisis.

Todos los ensayos de pruebas ELISA se realizaron en suero, a excepción del estudio de Cervantes et al (113), donde se usó sangre venosa impregnada sobre papel de filtro antes de su coagulación; mientras que las PDR se realizaron en todo tipo de muestras, en su mayoría suero (60,65,73,74,76,77,81,84), pero también se realizaron en sangre venosa y suero (39,73,93), sangre venosa (40,82), sangre capilar (66,97), suero, sangre venosa y sangre capilar (31) y un estudio no especificó el tipo de muestra usado (68); estas PDR se usan frecuentemente en los ensayos Point-of-Care (PoC), que se realizan fuera del laboratorio, próximos al paciente, con material y equipamiento fácilmente transportable y cuyos resultados se encuentran disponibles en minutos o en menos de una hora, su aplicación es mayor en países en vías de desarrollo (114), por lo que el uso de muestras como la sangre capilar al ser de fácil recolección sin requerir de tubos colectores ni centrifugación, serían la mejor elección para las PDR. Los resultados obtenidos en el presente estudio, según el tipo de muestra permiten inferir que el rendimiento diagnóstico de las PDR fue bueno independiente del tipo de muestra.

Los tripanosomátidos que pueden afectar al hombre en América pertenecen a los géneros *Leishmania* y *Trypanosoma*, las pruebas ELISA han sido valiosas para el diagnóstico de estos dos agentes, pero su especificidad puede ser baja, debido a la reacción cruzada entre las dos especies de parásitos, aspecto que es importante tener en cuenta, en especial cuando se desea conocer la prevalencia en zonas endémicas para estas dos enfermedades (115); además, la mayoría de las zonas donde se encuentra *T. cruzi* son coendémicas para *Leishmania sp* y *Trypanosoma rangeli*, lo

que complica el diagnóstico de la EC (116), coincidiendo con lo reportado en 13 de los estudios analizados en los que se reportó el porcentaje de reacción cruzada entre 0 a 62.5% con diversas enfermedades en las que sobresale la leishmaniosis.

Como los agentes etiológicos de estas enfermedades poseen una filogenia común muy cercana, es de esperar que compartan una significativa cantidad de características antigénicas (117). Por ello, pacientes con alguna de las dos infecciones o con infección mixta, pueden resultar mal diagnosticados debido a las reacciones serológicas cruzadas cuando se usan mezclas de antígenos no caracterizados (118), por lo tanto, el descubrimiento y disponibilidad de antígenos purificados o fracciones antigénicas de *T. cruzi* con mayor especificidad y sensibilidad podrían evitar reacciones cruzadas entre esta y otras infecciones, y puede representar un gran avance en más investigaciones para validar diferentes pruebas de diagnóstico para la EC (85), también se recomienda que en estudios posteriores se emplee un mayor número de muestras para evaluar las reacciones cruzadas, además de seguir las indicaciones de la OMS, y realizar dos pruebas en paralelo que utilicen antígenos o principio distinto, debido a la diversidad inmunogénica de las diferentes cepas del parásito, la respuesta inmunitaria de los pacientes y la existencia de reacciones cruzadas con otros tripanosomátidos que coexisten en las áreas endémicas (67).

De otra parte, se identificó riesgo de sesgo de publicación alto para las pruebas ELISA lo cual coincide con el estudio de Afonso et al (108).

En cuanto a las limitaciones de este estudio se encontró que no fue posible realizar la comparación entre las pruebas ELISA y las PDR, debido a que sólo un estudio (65) había realizado la comparación entre las dos pruebas, lo mismo sucedió con los subgrupos de PDR in house y comerciales, que no pudieron ser evaluados porque sólo un estudio (84) incluyó pruebas in house de este tipo. Se encontró un total de 46.5% de estudios de tipo comparativo y un 2.3% de estudios mixtos (comparativos y no comparativos) lo anterior impacta en la calidad de los estudios evaluados porque el mejor diseño de estudio para evaluar la precisión de las pruebas diagnósticas es el no

comparativo, por lo tanto, recomendamos que los futuros estudios utilicen este tipo de diseño. La calidad de la revisión sistemática también estuvo influenciada por los resultados de los artículos seleccionados y la calidad de los mismos, algunos elementos no pudieron ser explorados en el análisis de heterogeneidad debido a la cantidad de investigaciones que no los reportaron, dentro de los que se encontraron: periodo de estudio; reacciones cruzadas; distribución por zona rural y urbana; generación o versión de las pruebas diagnósticas; estimación de puntos de corte y áreas geográficas de las cepas utilizadas como fuentes de antígenos.

Como recapitulación de esta revisión sistemática y metaanálisis encontramos que las pruebas ELISA y las PDR son tests diagnósticos con una validez elevada para el diagnóstico de la EC crónico, y presentan una excelente utilidad diagnóstica para la detección precoz de infección por *T. cruzi*.

## 5.2. Capítulo 2:

Durante la fase crónica de la EC el diagnóstico se realiza mediante la detección de anticuerpos IgG específicos contra *T. cruzi* circulantes. Existen varias pruebas de serodiagnóstico como la prueba de ELISA, IFI y el ensayo de hemaglutinación indirecta (IHA) que no están disponibles en la mayoría de las regiones donde la enfermedad es endémica, por la complejidad para realizarlas, teniendo como consecuencia la falta de acceso al diagnóstico, y que es uno de los principales obstáculos para iniciar el tratamiento de la EC (34). Por todo lo anterior es necesario incluir herramientas de diagnóstico nuevas y simplificadas como las PDR y disminuir el infradiagnóstico en áreas remotas donde el diagnóstico no es accesible mediante técnicas convencionales. De acuerdo con lo descrito por otros autores, las PDR deben validarse en campo en cada sitio en particular antes de que se recomiende su uso para el diagnóstico de la EC (39).

Se han reportado estudios de validez diagnóstica de las PDR, con diferentes resultados de acuerdo a la ubicación geográfica y al contexto en el que se realizan; en

el presente estudio desarrollado en áreas endémicas y no endémicas para la infección por *T. cruzi* en el departamento de Boyacá, los resultados de calidad en términos de validez determinada por la sensibilidad y especificidad comparada con el resultado de las pruebas de referencia, fue excelente en las dos PDR, en InBios CDP fue de 100% y 99.1% respectivamente coincidiendo con lo reportado en otros estudios realizados también en sangre total como en Bolivia en el año 2014, con una sensibilidad de 96.2% y especificidad de 98.8% (39) y en Chile con 99.3% en las dos medidas y en el que describen la concordancia obtenida con la serología convencional que fue de 98.2% (279/284) similar a la encontrada en el presente estudio que fue de 99.3% (303/305) (119).

En cuanto a CSP obtuvimos una sensibilidad y especificidad del 100% parecido a lo descrito en migrantes latinoamericanos en Suiza con 95.2% y 99.9% (93); en Argentina con 95.3% y 99.5% (74); en Bolivia, según lo informado por Rody et al en 2008 con 93.4% y 99.0% (120) y por Lozano *et al* en el 2019 con 97.7% y 97.4% respectivamente (97) y en el que describen la ED que fue del 97.5% similar a nuestros resultados en el que CSP fue capaz de clasificar correctamente el 100% de los participantes evaluados.

Se han informado resultados de sensibilidad y especificidad de CDP y CSP menor que la obtenida en la presente investigación, como en un estudio multicéntrico realizado con sueros procedentes de 9 países en el que se incluyó a Colombia con 92.9% y 87.2% respectivamente(81) y según lo reportado por Reithinger et al, en el que analizaron sueros de cuatro países y obtuvieron para la CDP una sensibilidad de 84,8% (76) y por Verani *et al* en el que la sensibilidad en CDP fue de 90.7% y en CSP de 87.5% (121).

En la revisión sistemática incluida en la presente tesis, se incluyeron estudios que evaluaron las dos PDR`s utilizadas en este capítulo y en los que las PDR`s más evaluadas fueron Chagas Detect Plus InBios (31,80,82,95,98) con sensibilidad de 77.5% a 99.3% y especificidad de 92.3% a 100% y Chagas Stat-Pak assay ChemBio (31,77,96,98,102) con 87% a 98.4% y 87.1% a 99.9% respectivamente.

Los resultados diferentes pueden verse influenciados por el entorno en el que se realizaron las PDR (laboratorio o campo), por la naturaleza de las muestras utilizadas en la evaluación (almacenamiento de los sueros) y la variabilidad antigénica de las cepas del parásito en las diferentes regiones en las que se transmite la EC (81), y el diseño del estudio.

En los resultados obtenidos en el metanálisis se evidenciaron valores de sensibilidad y especificidad menores en los estudios de PDR con un diseño comparativo, en el que se incluyen pacientes diagnosticados de la enfermedad y un grupo de pacientes sin este diagnóstico”

Otros parámetros para determinar la calidad de las pruebas diagnósticas en términos de seguridad son los VPP y VPN que proporcionan estimaciones de la probabilidad de la enfermedad (122), siendo importante interpretar los resultados de las pruebas en el contexto de la prevalencia de la enfermedad (123), estos índices diagnósticos varían considerablemente en forma inversa, al aumentar la prevalencia aumenta el VPP y disminuye el VPN y viceversa (122). En el presente estudio los resultados obtenidos en el VPP en CDP fue de 97.8%; en CSP de 100% y el VPN en las dos PDR fue de 100%, observando que las dos PDR presentaron una alta probabilidad de hacer un diagnóstico correcto, coincidiendo con los hallazgos descritos por Eguez *et al* (40) y Lozano *et al* (97). Los resultados de las razones de verosimilitud mostraron que las PDR midieron de forma correcta la probabilidad de un resultado concreto (positivo o negativo) según la presencia o ausencia de la EC.

Los agentes etiológicos de la infección de *T.cruzi* y de *Leishmania* spp. poseen una filogenia común muy cercana y comparten una significativa cantidad de características antigénicas. Por ello, pacientes con alguna de las dos infecciones o con infección mixta, pueden resultar mal diagnosticados debido a las reacciones serológicas cruzadas (118). Por este motivo en el presente estudio incluimos participantes de zona

endémica y con infección por leishmaniasis, en los cuales no se presentó reacción cruzada con ninguna de las dos PDR, coincidiendo con lo descrito por Lorca *et al.* (119) el que no encontró reacción cruzada con la CDP y por Luquetti *et al.* con la CSP (38). Entre las limitaciones de este estudio, se debe mencionar el número reducido (38 casos de leishmaniasis) que fueron incluidos, siendo importante realizar más investigaciones en las regiones en donde este parásito coexiste con *T cruzi*.

En las pruebas de referencia encontramos reactividad cruzada en dos muestras de pacientes con leishmaniasis en el test ELISA Chagas III GrupoBios®, que resultó menos específico, similar a lo reportado por otro estudio en el que describen reacción cruzada que variaba entre el 30 y el 83% en las pruebas convencionales en las que el antígeno puede ser el parásito completo o extractos solubles o purificados cuya composición es una mezcla compleja de antígenos (123). De acuerdo al algoritmo diagnóstico utilizado en Colombia, cuando se presenta discordancia entre las dos pruebas de ELISA se realiza la tercera prueba en este caso la IFI, en la cual obtuvimos títulos con fluorescencia elevados, pero por debajo del valor de referencia (33). De acuerdo a las sugerencias realizadas la estrategia más adecuada para definir el significado de estas discrepancias es el seguimiento serológico a largo plazo (123).

El índice Kappa, es un coeficiente recomendado como medida de la concordancia de una prueba, ajustada por el azar (124). Resultados similares a los encontrados en el presente estudio, describieron Egüez, *et al*; quienes reportaron en las dos PDR un índice Kappa de 0,99 (40); en CSP Barfield con 0.97% (74) y Shah *et al*, en CDP en sangre total con 0.94% (39). Los resultados obtenidos mostraron que las PDR cuentan con un grado perfecto de reproducibilidad.

En varios estudios (40,97,109,119) de acuerdo a los resultados en la evaluación de exactitud diagnóstica de las PDR han sugerido el uso de estas pruebas para detección y vigilancia de la EC. Estas pruebas se caracterizan, por la entrega de resultados rápidos sin necesidad de equipo eléctrico, usan un pequeño volumen de sangre total

como muestra, se pueden utilizar en cualquier lugar (es decir, en todas las regiones) y se recomiendan especialmente en los sectores de atención primaria de salud en los que las instalaciones de laboratorio son escasas o inexistentes, así como para programas o estudios de vigilancia epidemiológica (81). Aunque las PDR pueden almacenar a temperatura ambiente entre 8-30°C durante su vida útil, es importante tener en cuenta que la exposición a temperaturas superiores a 30°C puede afectar el rendimiento de las pruebas. Los dispositivos de casete deben usarse inmediatamente después de sacarlos de la bolsa para minimizar la exposición a la humedad (56,57). Las dos PDR evaluadas en el presente estudio cumplen con los criterios ASSURED (Affordable, Sensitive, Specific, User-friendly, Rapid and robust, Equipment-free and Deliverable to end-users) que se pueden utilizar como punto de referencia para identificar las pruebas de diagnóstico más apropiadas para entornos con recursos limitados (118).

Se ha descrito el uso de las PDR como diagnóstico concluyente de la infección crónica por *T. cruzi* (97,109), sin embargo, de acuerdo a las recomendaciones actuales se requeriría confirmar los resultados positivos mediante pruebas convencionales en laboratorios de referencia donde los resultados podrían demorarse. El uso de dos PDR que se basan en conjuntos de antígenos distintos, como es el caso de CDP (antígeno multi-epítotope) y CSP (proteínas recombinantes) y teniendo en cuenta el buen desempeño de estas pruebas, es una combinación que se puede sugerir, adaptando el diagnóstico actual de la EC crónica a la realidad epidemiológica de cada región y como alternativa a las metodologías convencionales. En los casos en que en las dos PDR se presenten resultados discordantes, como lo encontrado en el presente estudio que fueron (2/305), se necesitaría una tercera prueba para confirmar el resultado, aunque esto aumentaría los costos, solo se debería realizar en un pequeño porcentaje de resultados y sería razonable si se consideran los costos logísticos de la serología convencional (40).

La sensibilidad y la especificidad de las dos PDR (CDP y CSP), utilizadas en el trabajo “Sensibilidad y Especificidad de dos pruebas rápidas para el diagnóstico de la infección por *Trypanosoma cruzi* en una población Colombiana” coincide con los rangos reportados en los estudios incluidos en la revisión sistemática y metaanálisis desarrollada en el presente trabajo, encontrando que presentan buena precisión para el diagnóstico de la EC crónica. La prueba CSP fue una de las PDR más evaluadas, se incluyó en cinco estudios con 2875 participantes que corresponden a más de la mitad 52% de la población total incluida en el análisis, seguida de la CDP que también fue incluida en cinco estudios.

El trabajo de campo se realizó en cuatro municipios del departamento de Boyacá, Colombia zona endémica para la EC de acuerdo a los resultados de algunos estudios incluidos en la revisión, en esta zona los resultados de la evaluación de la precisión diagnóstica de las pruebas presentan mejor rendimiento que en zonas no endémicas. También fueron incluidos dos municipios endémicos para leishmaniasis para la evaluación de reacción cruzada coincidiendo con lo reportado en los estudios en los que la patología con la que más encontraron reacción cruzada fue con leishmaniasis. Las PDR fueron realizadas en terreno siguiendo las indicaciones de utilizar sangre capilar, a diferencia de la mayoría de los estudios incluidos, que utilizaron otro tipo de muestras para el análisis (como suero). En el trabajo de campo del presente estudio se han tenido en cuenta los cuatro dominios que la herramienta QUADAS-2 contempla para la evaluación del riesgo de sesgo de los estudios de evaluación diagnóstica: selección de pacientes; prueba índice; prueba de referencia y flujo y tiempo en riesgo bajo, cumpliendo con lo establecido en este tipo de estudios.



## 6. CONCLUSIONES

## 6.1. Capítulo 1:

1. La sensibilidad y la especificidad de las pruebas ELISA y PDR son elevadas, su validez está dentro de rangos aceptables para el diagnóstico de la EC crónica.
2. En los estudios de evaluación de las pruebas ELISA y PDR, se identificó que el mayor riesgo de sesgo se presentó en los ítems de selección de pacientes y en el estándar de referencia.
3. En el test ELISA, las estimaciones de la sensibilidad por subgrupos fueron similares, en cuanto a la especificidad, el subgrupo de bajo riesgo de sesgo fue el que presentó una menor especificidad y el de zona no endémica el que presentó mayor especificidad. En las PDR la estimación de la sensibilidad según subgrupos varía más que la especificidad, y la especificidad y la sensibilidad fueron mayores para el subgrupo de estudios de diseño no comparativo que para el de diseño clínico comparativo.
4. Los estudios con PDR fueron más heterogéneos en los subgrupos de bajo riesgo de sesgo y de estudios no comparativos que en sus respectivas contrapartes
5. con la heterogeneidad de los estudios de las PDR (fueron más heterogéneos en los subgrupos de bajo riesgo de sesgo y de estudios no comparativos que en sus respectivas contrapartes.)
6. En el análisis del sesgo de publicación se ha observado un sesgo de publicación para los estudios de evaluación de las pruebas ELISA, pero no para las PDR.

## 6.2. Capítulo 2:

7. Las dos pruebas de diagnóstico rápido: Chagas Detect Plus (InBios International Inc., Seattle, USA) ® CDP y Chagas Stat-Pak (Chembio Inc., Medford USA) ® CSP evaluadas presentaron una excelente validez diagnóstica para la detección precoz de infección por *T cruzi* de EC crónica.

8. La concordancia entre las dos PDR y las pruebas de referencia (ensayo de inmunoabsorción enzimático (ELISA) de antígenos totales y ELISA de Antígenos recombinantes) fue adecuada obteniendo resultados de 99.5% y 100% para CDP y CSP respectivamente.
9. Los resultados obtenidos mostraron que las PDR cuentan con un alto grado de reproducibilidad.
10. Las PDR no presentaron reactividad cruzada con muestras de pacientes con evidencia serológica de leishmaniasis, siendo útiles para el diagnóstico de la EC en donde se superponen la infección de *T. cruzi* y leishmaniasis.
11. Los hallazgos del presente estudio muestran los excelentes resultados de las PDR en cuanto a la validez, seguridad y reproducibilidad en el contexto epidemiológico colombiano en entorno de campo, usando muestras de sangre total, y que se podrían utilizar en áreas endémicas en las que no se tienen o son escasas las instalaciones de laboratorio para realizar el diagnóstico por pruebas convencionales como ELISA, IHA, IFA y así mejorar el acceso al tratamiento lo antes posible, comenzando en el nivel de atención primaria de salud.

## 7. BIBLIOGRAFÍA

1. Parker ER, Sethi A. Chagas disease: Coming to a place near you. *Dermatol Clin.* 2011;29(1):53–62.
2. Cancino Faure MB. Transmisión por transfusión de la enfermedad de Chagas. Estudio de la carga parasitaria y viabilidad de *Trypanosoma cruzi* en los componentes sanguíneos y valoración de métodos de reducción de patógenos mediante herramientas moleculares. 2016;1.
3. Botero D, Restrepo M. *Parasitosis manas.* 2012. 733 p.
4. Wang JH, Xiao J, Zhao JH. A new consensus for *Trypanosoma cruzi* intraspecific nomenclature: second revision meeting recommends TcI to TcVI. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 2009;30(6):432–6.
5. Zingales B, Miles MA, Campbell DA, Tibayrenc M, Macedo AM, Teixeira MMG, et al. The revised *Trypanosoma cruzi* subspecific nomenclature: Rationale, epidemiological relevance and research applications. *Infect Genet Evol* [Internet]. 2012;12(2):240–53. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.meegid.2011.12.009>
6. Marcili A, Lima L, Cavazzana M, Junqueira ACV, Veludo HH, Maia Da Silva F, et al. A new genotype of *Trypanosoma cruzi* associated with bats evidenced by phylogenetic analyses using SSU rDNA, cytochrome b and Histone H2B genes and genotyping based on ITS1 rDNA. *Parasitology.* 2009;136(6):641–55.
7. Pinto CM, Kalko EKV, Cottontail I, Wellinghausen N, Cottontail VM. TcBat a bat-exclusive lineage of *Trypanosoma cruzi* in the Panama Canal Zone, with comments on its classification and the use of the 18S rRNA gene for lineage identification. *Infect Genet Evol* [Internet]. 2012;12(6):1328–32. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.meegid.2012.04.013>
8. Burgos JM, Diez M, Vigliano C, Bisio M, Risso M, Duffy T, et al. Molecular identification of *trypanosoma cruzi* discrete typing units in end-stage chronic chagas heart disease and reactivation after heart transplantation. *Clin Infect Dis.* 2010;51(5):485–95.
9. Bern C. Chagas' Disease. *N ENGL J MED.* 2015;373(5):456–66.
10. Pérez-Molina JA, Molina I. Chagas disease. *Lancet.* 2018;391(10115):82–94.

11. Pérez-Molina JA, Perez AM, Norman FF, Monge-Maillo B, López-Vélez R. Old and new challenges in Chagas disease. *Lancet Infect Dis* [Internet]. 2015;15(11):1347–56. Available from: [http://dx.doi.org/10.1016/S1473-3099\(15\)00243-1](http://dx.doi.org/10.1016/S1473-3099(15)00243-1)
12. OMS. La enfermedad de Chagas (Tripanosomiasis americana). OMS, Geneva. 2021.
13. Gascon J, Bern C, Pinazo MJ. Chagas disease in Spain, the United States and other non-endemic countries. *Acta Trop*. 2010;115(1–2):22–7.
14. Manne-Goehler J, Reich MR, Wirtz VJ. Access to care for Chagas disease in the United States: A health systems analysis. *Am J Trop Med Hyg*. 2015;93(1):108–13.
15. Cucunubá ZM, Manne-Goehler JM, Díaz D, Nouvellet P, Bernal O, Marchiol A, et al. How universal is coverage and access to diagnosis and treatment for Chagas disease in Colombia? A health systems analysis. *Soc Sci Med*. 2017;175:187–98.
16. Mordini OD, Bavio E, Beloscar J, Tognoni G, Sosa FJ, Pairone E, et al. Enfermedad de Chagas en Mexico. 2016;45(2):84–92.
17. Salamanca M, Vera M, Londoño B, Castro L, Urquijo L, Rojas D et al. Microbiología Guía para la atención clínica integral del paciente con enfermedad de Chagas. 2012;18:37–84.
18. Zambrano P. Estrategia y plan de acción para la prevención, el control y la atención de la Enfermedad de Chagas. *Protoc Vigil en Salud Pública*. 2010;28.
19. Vásquez C, Robledo S, Calle J, Triana O. Identificación de nuevos escenarios epidemiológicos para la enfermedad de Chagas en la región momposina, norte de Colombia. *Biomedica*. 2013;33(4):526–37.
20. Mejía-Jaramillo AM, Agudelo-Uribe LA, Dib JC, Ortiz S, Solari A, Triana-Chávez O. Genotyping of *Trypanosoma cruzi* in a hyper-endemic area of Colombia reveals an overlap among domestic and sylvatic cycles of Chagas disease. *Parasites and Vectors*. 2014;7(1).
21. Gutierrez FRS, Trujillo Güiza ML, Escobar Martínez M del C. Prevalence of *Trypanosoma cruzi* Infection among People Aged 15 to 89 Years Inhabiting the

- Department of Casanare (Colombia). PLoS Negl Trop Dis. 2013;7(3).
22. Monroy-Díaz Á, Rodríguez-Niño S, Suescún-Carrero SH, Ramírez-López L. Seroprevalencia de infección por Trypanosoma cruzi y factores asociados en Miraflores Boyacá, Colombia. Rev Investig en Salud Univ Boyacá. 2018;5(1):31–47.
  23. Castellanos-Domínguez YZ, Cucunubá ZM, Orozco LC, Valencia-Hernández CA, León CM, Florez AC, et al. Risk factors associated with Chagas disease in pregnant women in Santander, a highly endemic Colombian area. Trop Med Int Heal. 2016;21(1):140–8.
  24. Flórez C, Guasmayan L, Cortés L, Caicedo A, Beltrán M, Muñoz L. Chagas disease and its seroprevalence in three departments of the Colombian Amazon. Nova [Internet]. 2016;14(26):35–43. Available from: [http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1794-24702016000200004&lng=en&nrm=iso&tlng=](http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1794-24702016000200004&lng=en&nrm=iso&tlng=)
  25. Olivera MJ, Fory JA, Porras JF, Buitrago G. Prevalence of Chagas disease in Colombia: A systematic review and meta-analysis. PLoS One. 2019;14(1):1–18.
  26. Divulgaci RDE. Kuxulkab '. 2021;
  27. Marisol Córdova Rojas N, Cruz Torrico M, Torrico F, Suárez Barrientos EL, Marisol Córdova NR. Artículo Original Original Article Estandarización de la técnica para la obtención de trypomastigotes en células 3T3 a partir de una cepa local de epimastigotes de Tripanosoma cruzi Standardization of the technique for obtaining trypomastigotes in 3T3 ce. Gac Med Bol. 2015;38(1):6–13.
  28. Gleyzer A. Chagas' disease. Vol. 14, Office and Emergency Pediatrics. 2019. 1–356 p.
  29. OMS. Control of Chagas disease. Report of a WHO Expert Committee. Technical Report Series 905. Geneva; 2002.
  30. de Souza RM, Amato Neto V. Discordâncias e consequências de resultados de provas de hemaglutinação indireta, imunofluorescência indireta e ELISA para o diagnóstico da doença de Chagas. Rev Inst Med Trop Sao Paulo.

- 2012;54(3):141–3.
31. Flores-Chavez M, Cruz I, Nieto J, Gárate T, Navarro M, Pérez-Ayala A, et al. Sensitivity and specificity of an operon immunochromatographic test in serum and whole-blood samples for the diagnosis of *Trypanosoma cruzi* infection in Spain, an area of nonendemicity. *Clin Vaccine Immunol*. 2012;19(9):1353–9.
  32. Sabino EC, Otani MM, Vinelli E, Kirchhoff L V., Del Pozo A, Sands A, et al. WHO comparative evaluation of serologic assays for Chagas disease. *Transfusion*. 2009;49(6):1076–82.
  33. Flórez Sánchez AC, Caicedo Díaz RA. Guía para la vigilancia por laboratorio del *Trypanosoma cruzi* [Internet]. Bogotá; 2017 [cited 2021 Jun 7]. Available from: [https://www.ins.gov.co/buscador/Informacin de laboratorio/Guia para la Vigilancia por laboratorio de Trypanosoma cruzi.pdf](https://www.ins.gov.co/buscador/Informacin%20de%20laboratorio/Guia%20para%20la%20Vigilancia%20por%20laboratorio%20de%20Trypanosoma%20cruzi.pdf)
  34. Gomes YM, Lorena VMB, Luquetti AO. Diagnosis of Chagas disease: What has been achieved? what remains to be done with regard to diagnosis and follow up studies? *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2009;104(SUPPL. 1):115–21.
  35. Abras A, Gállego M, Llovet T, Tebar S, Herrero M, Berenguer P, et al. Serological diagnosis of chronic chagas disease: Is it time for a change? *J Clin Microbiol*. 2016;54(6):1566–72.
  36. Riera C, Verges M, Iniesta L, Fisa R, Gállego M, Tebar S, et al. Short report: Identification of a western blot pattern for the specific diagnosis of *Trypanosoma cruzi* infection in human sera. *Am J Trop Med Hyg*. 2012;86(3):412–6.
  37. Granjon E, Dichtel-Danjoy ML, Saba E, Sabino E, Campos de Oliveira L, Zrein M. Development of a Novel Multiplex Immunoassay Multi-cruzi for the Serological Confirmation of Chagas Disease. *PLoS Negl Trop Dis*. 2016;10(4):1–15.
  38. Luquetti AO, Ponce C, Ponce E, Esfandiari J, Schijman A, Revollo S, et al. Chagas' disease diagnosis: A multicentric evaluation of Chagas Stat-Pak, a rapid immunochromatographic assay with recombinant proteins of *Trypanosoma cruzi*. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2003;46(4):265–71.
  39. Shah V, Ferrufino L, Gilman RH, Ramirez M, Saenza E, Malaga E, et al. Field



- evaluation of the InBios Chagas detect plus rapid test in serum and whole-blood specimens in Bolivia. *Clin Vaccine Immunol.* 2014;21(12):1645–9.
40. Egüez 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):1–11.
  41. Schijman AG, Bisio M, Orellana L, Sued M, Duffy T, Mejia Jaramillo AM, et al. International study to evaluate PCR methods for detection of *Trypanosoma cruzi* DNA in blood samples from Chagas disease patients. *PLoS Negl Trop Dis.* 2011;5(1).
  42. Coura JR, De Castro SL. A critical review on chagas disease chemotherapy. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 2002;97(1):3–24.
  43. Urbina JA. Specific chemotherapy of Chagas disease: Relevance, current limitations and new approaches. *Acta Trop [Internet].* 2010;115(1–2):55–68. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.actatropica.2009.10.023>
  44. Roca Saumell C, Soriano-Arandes A, Solsona Díaz L, Gascón Brustenga J. Documento de consenso sobre el abordaje de la enfermedad de Chagas en atención primaria de salud de áreas no endémicas. *Aten Primaria [Internet].* 2015;47(5):308–17. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.aprim.2015.01.002>
  45. WHO. Chagas disease : control and elimination. Sixty-Third World Heal Assem. 2010;(May):4.
  46. Moher D, Liberati A, Tetzlaff J, Altman DG, Altman D, Antes G, et al. Preferred reporting items for systematic reviews and meta-analyses: The PRISMA statement. *PLoS Med [Internet].* 2009 Jul [cited 2021 May 12];6(7):e1000097. Available from: <http://www.prisma-statement>.
  47. The Joanna Briggs Institute. The systematic review of studies of diagnostic test accuracy [Internet]. The Joanna Briggs Institute; 2015 [cited 2021 May 12]. 1–46 p. Available from: [www.joannabriggs.org](http://www.joannabriggs.org)
  48. Whiting PF, Rutjes AWS, Westwood ME, Mallett S, Deeks JJ, Reitsma JB, et al. Quadas-2: A revised tool for the quality assessment of diagnostic accuracy studies. *Ann Intern Med.* 2011;155(8):529–36.

49. Team RC. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. [Internet]. 2020. Available from: <https://www.r-project.org/>.
50. Klein D. Implementing a general framework for assessing interrater agreement in stata. *Stata J* [Internet]. 2018 Dec 1 [cited 2021 Jun 7];18(4):871–901. Available from: <https://journals.sagepub.com/doi/10.1177/1536867X1801800408>
51. Y Z, N D. Statistics for quantifying heterogeneity in univariate and bivariate meta-analyses of binary data: the case of meta-analyses of diagnostic accuracy. *Stat Med* [Internet]. 2014 Jul 20 [cited 2021 Jul 21];33(16):2701–17. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24903142/>
52. Deeks JJ, Macaskill P, Irwig L. The performance of tests of publication bias and other sample size effects in systematic reviews of diagnostic test accuracy was assessed. *J Clin Epidemiol*. 2005;58(9):882–93.
53. DANE. «Resultados Censo 2005 para Boyacá». 2019.
54. Institut Municipal d'Investigació Mèdica. Calculadora de Tamaño muestral GRANMO. [Internet]. 2011. Available from: <https://www.imim.cat/ofertadeserveis/software-public/granmo/>
55. Instituto Nacional de Salud. Guía para la vigilancia por laboratorio del *Trypanosoma cruzi* en Colombia. 2017;1–36.
56. GrupoBios Test ELISA Chagas III [Internet]. Available from: <https://grupobios.cl/es/cotizacion-online/555-test-elisa-chagas-iii.html>.
57. Vircell Microbiologists. Chagas ELISA IgG-IgM: producto para diagnóstico in vitro. Granada E 2019. A from: [https://www.vircell.com/media/INSERTS/CHAGAS%20ELISA%20IgG+IgM\\_T1020\\_ES.pdf](https://www.vircell.com/media/INSERTS/CHAGAS%20ELISA%20IgG+IgM_T1020_ES.pdf).
58. Caicedo Díaz RA, Forsyth C, Bernal OA, Marchiol A, Beltrán Duran M, Batista C, et al. Comparative evaluation of immunoassays to improve access to diagnosis for Chagas disease in Colombia. *Int J Infect Dis*. 2019;87:100–8.
59. Beltrán M, Duque S, Guhl F, Herrera CP, López MC, Moreno AL et al. Prueba de ELISA y prueba de inmunofluorescencia indirecta (IFI). Manual-

- procedimientos-diagnosticos-enfermedades-chagas.pdf. 2001. p. 32–48.
60. Mendicino D, Colussi C, Moretti E. Simultaneous use of two rapid diagnostic tests for the diagnosis of Chagas disease. *Trop Doct*. 2019;49(1):23–6.
  61. 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;13(12).
  62. <http://www.inbios.com/chagas-detecttm-plus-rapid-test-intl/>.
  63. <http://chembio.com/products/human-diagnostics/chagas-stat-pak-rapid-assay/>.
  64. Landis JR, Koch GG. Landis and Koch 1977 agreement of categorical data. *Biometrics*. 1977;33(1):159–74.
  65. Antinori S, Galimberti L, Grande R, Bianco R, Oreni L, Traversi L, et al. Chagas disease knocks on our door: a cross-sectional study among Latin American immigrants in Milan, Italy. *Clin Microbiol Infect*. 2018;24(12):1340.e1-1340.e6.
  66. Navarro M, Perez-Ayala A, Guionnet A, Perez-Molina JA, Navaza B, Estévez L, et al. Targeted screening and health education for chagas disease tailored to at-risk migrants in Spain, 2007 to 2010. *Eurosurveillance*. 2011;16(38):1–5.
  67. Aria L, Acosta M-E, Guillen Y, Rojas A, Meza T, Infanzón B. Desempeño del Kit ELISA Chagas IICS V.1 para el diagnóstico de la enfermedad de Chagas Laura. *Mem Inst Investig Cienc Salud*. 2016;14(3):7–13.
  68. Angheben A, Staffolani S, Anselmi M, Tais S, Degani M, Gobbi F, et al. Accuracy of a rapid diagnostic test (Cypress Chagas Quick Test®) for the diagnosis of chronic Chagas disease in a nonendemic area: A retrospective longitudinal study. *Am J Trop Med Hyg*. 2017;97(5):1486–8.
  69. Santos FLN, De Souza WV, Da Silva Barros M, Nakazawa M, Krieger MA, De Miranda Gomes Y. Chronic Chagas disease diagnosis: A comparative performance of commercial enzyme immunoassay tests. *Am J Trop Med Hyg*. 2016;94(5):1034–9.
  70. Dias JCP, Ramos AN, Gontijo ED, Luquetti A, Shikanai-Yasuda MA, Coura JR, et al. Consenso Brasileño en Enfermedad de Chagas, 2015. *Epidemiol e Serv saude Rev do Sist Unico Saude do Bras* [Internet]. 2016 [cited 2021 Apr

19];25(ESP):7. Available from:

[http://scielo.iec.gov.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1679-49742016000500007&lng=pt&nrm=iso&tlng=pt](http://scielo.iec.gov.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1679-49742016000500007&lng=pt&nrm=iso&tlng=pt)

71. Cervantes-Landín AY, Martínez-Martínez I, Reyes PA, Shabib M, Espinoza-Gutiérrez B. Estandarización de la técnica Dot-ELISA para la detección de anticuerpos anti-Trypanosoma cruzi y su comparación con ELISA y Western blot. *Enferm Infecc Microbiol Clin* [Internet]. 2014;32(6):363–8. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.eimc.2013.05.006>
72. Iborra-Bendicho MA, Albert-Hernández M, Márquez-Contreras C, Segovia-Hernández M. ARCHITECT Chagas ®: una nueva herramienta diagnóstica en la enfermedad de Chagas. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2012;30(8):463–5.
73. Mendicino D, Stafuza M, Colussi C, Del Barco M, Streiger M, Moretti E. Diagnostic reliability of an immunochromatographic test for Chagas disease screening at a primary health care centre in a rural endemic area. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2014;109(8):984–8.
74. Barfield C., Barney R., Crudder C., Wilmoth J., Stevens D., S M-G, et al. A Highly Sensitive Rapid Diagnostic Test for Chagas Disease That Utilizes a Recombinant Trypanosoma cruzi Antigen. *IEEE Trans Biomed Eng*. 2011;58(3):814–7.
75. Hernández P, Heimann M, Riera C, Solano M, Santalla J, Luquetti AO, et al. Highly effective serodiagnosis for Chagas' disease. *Clin Vaccine Immunol*. 2010;17(10):1598–604.
76. Reithinger R, Grijalva MJ, Chiriboga RF, De Noya BA, Torres JR, Pavia-Ruz N, et al. Rapid detection of Trypanosoma cruzi in human serum by use of an immunochromatographic dipstick test. *J Clin Microbiol*. 2010;48(8):3003–7.
77. Whitman JD, Bulman CA, Gunderson EL, Irish AM, Townsend RL, Stramer SL, et al. Chagas Disease Serological Test Performance in U.S. Blood Donor Specimens. *J Clin Microbiol*. 2019;57(12):1–9.
78. Berrizbeitia M, Figueroa M, Ward BJ, Rodríguez J, Jorquera A, Figuera MA, et al. Development and application of an ELISA assay using excretion/secretion proteins from epimastigote forms of T. cruzi (ESEA Antigens) for the diagnosis

- of chagas disease. *J Trop Med*. 2012;1(1):1–7.
79. Llano M, Pavía P, Flórez AC, Cuéllar A, González JM, Puerta C. Evaluación preliminar de la prueba comercial Chagas (*Trypanosoma cruzi*) IgG-ELISA® en individuos colombianos. *Biomedica*. 2014;34(2):228–36.
  80. Santos FLN, Celedon PAF, Zanchin NIT, Souza WV de, da Silva ED, Foti L, et al. Accuracy of chimeric proteins in the serological diagnosis of chronic chagas disease – a Phase II study. *PLoS Negl Trop Dis*. 2017;11(3):1–20.
  81. 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):2506–12.
  82. López-Chejade P, Roca C, Posada, Elizabeth, Pinazo M de J, Gascon J, Portús M. Utilidad de un test inmunocromatográfico para el cribado de la enfermedad de Chagas en asistencia primaria. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2010;28(3):169–71.
  83. Bergmann-Araújo A, Aires-Berne ME. Conventional serological performance in diagnosis of Chagas' disease in southern Brazil. *Brazilian J Infect Dis*. 2013;17(2):174–8.
  84. Acosta de Hetter M. Desarrollo y evaluación de una prueba inmunocromatográfica para el diagnóstico de la infección con *Trypanosoma cruzi* [Internet]. Vol. I. Universidad Nacional de Asunción; 2013. Available from: <https://pesquisa.bvsalud.org/portal/resource/pt/lil-681484?lang=en>
  85. Santos L da S, Torres RM, Machado-de-Assis GF, Bahia MT, Martins HR, Teixeira-Carvalho A, et al. In-house ELISA method to analyze anti-*Trypanosoma cruzi* IgG reactivity for differential diagnosis and evaluation of Chagas disease morbidity. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2012;45(1):35–44.
  86. Tonelli Elisei RM, Matos CS, Carvalho AMRS, Chaves AT, Medeiros FAC, Barbosa R, et al. Immunogenomic screening approach to identify new antigens for the serological diagnosis of chronic Chagas' disease. *Appl Microbiol Biotechnol*. 2018;102(14):6069–80.
  87. Caicedo Díaz RA, Forsyth C, Bernal OA, Marchiol A, Beltrán Duran M, Batista

- C, et al. Comparative evaluation of immunoassays to improve access to diagnosis for Chagas disease in Colombia. *Int J Infect Dis.* 2019;87(1):100–8.
88. Briceño L, Rodríguez E, Medina M, Campos Y, Mosca W, Briceño A, et al. An inexpensive antigen for serodiagnosis of Chagas' disease. *Invest Clin.* 2010;51(1):101–3.
89. Praast G, Herzogenrath J, Bernhardt S, Christ H, Sickinger E. Evaluation of the Abbott ARCHITECT Chagas prototype assay. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2011;69(1):74–81.
90. Caballero E. Z, Correa R, Nascimento MS, Villarreal A, Llanes A, Kesper, N. High sensitivity and reproducibility of in-house ELISAs using different genotypes of *Trypanosoma cruzi*. *Parasite Immunol.* 2019;41(7):1–12.
91. Pérez-Ayala A, Fradejas I, Rebollo L, Lora-Pablos D, Lizasoain M, Herrero-Martínez J. Usefulness of the Architect Chagas® assay as a single test for the diagnosis of chronic Chagas disease. *Trop Med Int Heal.* 2018;23(6):634–40.
92. Peverengo LM, Garcia V, Rodeles LM, Mendicino Di, Vicco M, Lagier C, et al. Development and assessment of an improved recombinant multiepitope antigen-based immunoassay to diagnose chronic Chagas disease. *Parasitology.* 2018;145(12):1594–9.
93. Chappuis F, Mauris A, Holst M, Albajar-Vinas P, Jannin J, Luquetti AO, et al. Validation of a rapid immunochromatographic assay for diagnosis of *Trypanosoma cruzi* infection among Latin-American migrants in Geneva, Switzerland. *J Clin Microbiol.* 2010;48(8):2948–52.
94. Pierimarchi P, Cerni L, Alarcón de Noya B, Nicotera G, Díaz-Bello Z, Angheben A, et al. Rapid Chagas diagnosis in clinical settings using a multiparametric assay. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2013;75(4):381–9.
95. Longhi SA, Brandariz SB, Lafon SO, Niborski LL, Luquetti AO, Schijman AG, et al. Evaluation of in-house ELISA using *Trypanosoma cruzi* lysate and recombinant antigens for diagnosis of chagas disease and discrimination of its clinical forms. *Am J Trop Med Hyg.* 2012;87(2):267–71.
96. Santos FLN, Campos ACP, Amorim LDAF, Silva ED, Zanchin NIT, Celedon PAF, et al. Highly accurate chimeric proteins for the serological diagnosis of

- chronic chagas disease: A latent class analysis. *Am J Trop Med Hyg.* 2018;99(5):1174–9.
97. 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;13(12):1–13.
  98. Mucci J, Carmona SJ, Volcovich R, Altcheh J, Bracamonte E, Marco JD, et al. Next-generation ELISA diagnostic assay for Chagas Disease based on the combination of short peptidic epitopes. *PLoS Negl Trop Dis.* 2017;11(10):1–19.
  99. Reis-Cunha JL, Mendes TADO, De Almeida Lourdes R, Ribeiro DRDS, Machado-de-Avila RA, De Oliveira Tavares M, et al. Genome-wide screening and identification of new *Trypanosoma cruzi* antigens with potential application for chronic chagas disease diagnosis. *PLoS One.* 2014;9(9):1–9.
  100. Higgins JPT, Thompson SG, Deeks JJ, Altman DG. Measuring inconsistency in meta-analyses. *Br Med J [Internet].* 2003 Sep 6 [cited 2021 Jun 7];327(7414):557–60. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12958120/>
  101. Dopico E, Del-Rei RP, Espinoza B, Ubillos I, Zanchin NIT, Sulleiro E, et al. Immune reactivity to *Trypanosoma cruzi* chimeric proteins for Chagas disease diagnosis in immigrants living in a non-endemic setting. *BMC Infect Dis.* 2019;19(1):1–7.
  102. Del-Rei RP, Leony LM, Celedon PAF, Zanchin NIT, dos Reis MG, de Miranda Gomes Y, et al. Detection of anti-*Trypanosoma cruzi* antibodies by chimeric antigens in chronic Chagas disease-individuals from endemic South American countries. *PLoS One.* 2019;14(4):1–12.
  103. Izquierdo L, Marques AF, Gállego M, Sanz S, Tebar S, Riera C, et al. Evaluation of a chemiluminescent enzyme-linked immunosorbent assay for the diagnosis of *Trypanosoma cruzi* infection in a nonendemic setting. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 2013;108(7):928–31.
  104. Acosta de Hetter M. Desarrollo y evaluación de una prueba inmunocromatográfica para el diagnóstico de la infección con *Trypanosoma*

- cruzi [Internet]. Vol. I. Universidad Nacional de Asunción; 2006. Available from: <https://pesquisa.bvsalud.org/portal/resource/pt/lil-681484?lang=en>
105. Santos FLN, Celedon PAF, Zanchin NIT, De Arruda Campos Brasil T, Foti L, De Souza WV, et al. Performance assessment of four chimeric *Trypanosoma cruzi* antigens based on antigen-antibody detection for diagnosis of chronic chagas disease. *PLoS One*. 2016;11(8):1–15.
  106. Zhou Y, Dendukuri N. Statistics for quantifying heterogeneity in univariate and bivariate meta-analyses of binary data: The case of meta-analyses of diagnostic accuracy. *Stat Med*. 2014;33(16):2701–17.
  107. Brasil PEAA, De Castro L, Hasslocher-Moreno AM, Sangenis LHC, Braga JU. ELISA versus PCR for diagnosis of chronic Chagas disease: Systematic review and meta-analysis. *BMC Infect Dis*. 2010;10.
  108. Afonso AM, Ebell MH, Tarleton RL. A Systematic Review of High Quality Diagnostic Tests for Chagas Disease. *PLoS Negl Trop Dis*. 2012;6(11).
  109. Angheben A, Buonfrate D, Cruciani M, Jackson Y, Alonso-Padilla J, Gascon J, et al. Rapid immunochromatographic 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).
  110. Zamora J, Abaira V. Análisis de la calidad de los estudios de evaluación de pruebas diagnósticas | Nefrología. *Nefrología* [Internet]. 2008 [cited 2021 Aug 16];28(S2):1–50. Available from: <https://www.revistanefrologia.com/es-analisis-calidad-los-estudios-evaluacion-pruebas-diagnosticas-articulo-X0211699508031945>
  111. Whiting PF, Rutjes AWS, Westwood ME, Mallett S. A systematic review classifies sources of bias and variation in diagnostic test accuracy studies. *J Clin Epidemiol*. 2013;66(10):1093–104.
  112. Afonso A, Ebell M, Tarleton R. A Systematic Review of High Quality Diagnostic Tests for Chagas Disease. *PLoS Negl Trop Dis*. 2012;6(11).
  113. Cervantes-Landín AY, Martínez-Martínez I, Reyes PA, Shabib M, Espinoza-Gutiérrez B. Estandarización de la técnica Dot-ELISA para la detección de anticuerpos anti-*Trypanosoma cruzi* y su comparación con ELISA y Western



- blot. *Enferm Infecc Microbiol Clin* [Internet]. 2013;32(6):363–8. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.eimc.2013.05.006>
114. García-Bermejo I, de Ory F. Diagnóstico rápido en serología. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2017 Apr 1;35(4):246–54.
  115. Romero Peñuela MH, Sánchez Valencia JA. Uso de antígenos recombinantes para la evaluación serológica de Leishmaniasis visceral y Tripanosomiasis canina. *Biosalud*. 2009;8(1):77–83.
  116. Briceño D, Caballero G, Lares M, Viettri M, Medina M. Diagnóstico inmunológico de la Enfermedad de Chagas a partir de muestras colectadas en papel de filtro. *Salus* [Internet]. 2012 [cited 2021 Jul 25];16(1). Available from: [http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1316-71382012000100007](http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1316-71382012000100007)
  117. Nodarse JF, Alvarez AMM, Auwera G Van Der, Maes I. Aportes a la evolución y clasificación taxonómica de los géneros de importancia médica de la familia Trypanosomatidae basado en el análisis filogenético del gen de la proteína de choque térmico 70. 2019;
  118. Gil J, Cimino R, López Quiroga I, Cajal S, Acosta N, Juaréz M, et al. Reactividad del antígeno GST-SAPA de *Trypanosoma cruzi* frente a sueros de pacientes con enfermedad de Chagas y leishmaniasis. *Med* [Internet]. 2011 [cited 2021 Jul 25];71(2):113–9. Available from: [http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0025-76802011000200001](http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0025-76802011000200001)
  119. Lorca M, Contreras M del C, Salinas P, Guerra A, Raychaudhuri S. Evaluación de una prueba rápida para el diagnóstico de la infección por *Trypanosoma cruzi* en suero TT - Evaluation of a rapid diagnosis test for trypanosoma cruzi infection in serum sample. *Parasitol latinoam* [Internet]. 2008;63(1/4):29–33. Available from: [http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0717-77122008000100005](http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0717-77122008000100005)
  120. Roddy P, Goiri J, Flevaud L, Palma PP, Morote S, Lima N, et al. Field evaluation of a rapid immunochromatographic assay for detection of *Trypanosoma cruzi* infection by use of whole blood. *J Clin Microbiol*.

2008;46(6):2022–7.

121. Verani JR, Seitz A, Gilman RH, LaFuente C, Galdos-Cardenas G, Kawai V, de LaFuente E, Ferrufino L, Bowman NM, Pinedo-Cancino V, Levy MZ, Steurer F, Todd CW, Kirchhoff LV, Cabrera L, Verastegui M BC. Geographic variation in the sensitivity of recombinant antigen-based rapid tests for chronic *Trypanosoma cruzi* infection. *Am J Trop Med Hyg.* 2009;80(4):410–5.
122. Bravo-Grau S, Cruz P, Q J. Estudios de exactitud diagnóstica: Herramientas para su Interpretación Diagnostic accuracy studies: Tools for its Interpretation. *Rev Chil Radiol* año. 2015;21(4):158–64.
123. Flores-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):284–93.
124. Kraemer HC, Periyakoil VS, Noda A. Kappa coefficients in medical research. *Stat Med.* 2002;21(14):2109–29.

## ANEXOS



COMITÉ DE ÉTICA Y BIOÉTICA DE LA UNIVERSIDAD DE BOYACÁ  
MEMORANDO 039-2019 CB

**PARA:** SANDRA HELENA SUESCÚN CARRERO  
Docente Investigadora

**DE:** COMITÉ DE ÉTICA Y BIOÉTICA DE LA UNIVERSIDAD DE BOYACÁ

**FECHA:** 24 de mayo de 2019

**ASUNTO:** Respuesta Comité de Ética y Bioética

Cordial saludo,

Con el objetivo de cumplir con la función de análisis y reflexión desde la Bioética de los proyectos de investigación y para garantizar la protección acorde con la dignidad de los seres humanos y el valor de los animales de acuerdo con las normas nacionales y las normas internacionales establecidas, me permito emitir el concepto correspondiente al trabajo titulado "EVALUACIÓN DE DOS PRUEBAS RAPIDAS PARA EL DIAGNOSTICO DE LA INFECCIÓN POR TRYPANOSOMA CRUZI EN UNA POBLACIÓN COLOMBIANA."

**Población objeto de estudio:** 150 individuos de cualquier edad con infección chagásica demostrada sin tratamiento y 150 individuos de cualquier edad no infectados e individuos no chagásicos con Leishmaniasis. **Cumple con el requisito.**

**Riesgos Potenciales:** Según la resolución 008430 de 1993, es una investigación de Riesgo mínimo y se describen los riesgos para los investigadores y la forma de mitigación de los mismos. **Cumple con el requisito.**

**Beneficios:** Se describen beneficios directos e indirectos derivados de la investigación. **Cumple con el requisito.**

**Selección de los Participantes:** Se identifican criterios de inclusión y exclusión. **Cumple con el requisito.**

**Consentimiento Informado CI:** Se identifica el consentimiento informado y asentimiento para los participantes y para su representante legal. **Cumple con el requisito.**

**Observaciones y registros:** No aplica. **Cumple con el requisito.**

**Confidencialidad, privacidad y protección de la identidad:** Se establecen mecanismos de protección de identidad de los participantes. **Cumple con el requisito.**

**COMITÉ DE ÉTICA Y BIOÉTICA DE LA UNIVERSIDAD DE BOYACÁ**

**Reserva y manejo de la información:** Se establecen mecanismos de manejo de la información de los participantes **Cumple con el requisito.**

**Conflicto de Intereses:** No se declaran ni identifican conflictos de intereses **Cumple con el requisito.**

**Declaración de los Investigadores:** **Cumple con el requisito.**

**Documentos Adjuntos:** Se anexan por parte de los investigadores: carta de compromiso por parte de los investigadores para la divulgación del proyecto; carta de confidencialidad de los investigadores. **Cumple con el requisito**

Dado lo anterior, el Comité de Ética y Bioética de la Universidad de Boyacá se permite **aprobar** para el desarrollo del estudio.

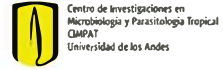
Atentamente,



**Rosita Cuervo Payeras.**  
Presidenta Comité de Ética y Bioética

5<sup>ta</sup> REUNIÓN COLOMBIANA  
**LEISHMANIASIS**  
Y ENFERMEDAD  
DE **CHAGAS**

**XVII SIMPOSIO**  
**PECET**



Certifican que

Sandra Helena Suescún Carrero

Participó en

La 5<sup>ta</sup> Reunión Colombiana de Leishmaniasis y enfermedad de Chagas y  
el XVII Simposio PECET: Avances en la investigación de enfermedades tropicales

en calidad de

**PONENTE**

Medellín, agosto 4, 5 Y 6 de 2020



Iván Darío Vélez Bernal  
Director PECET  
Universidad de Antioquia

Felipe Cuhl Nannetti  
Director CIMPAT  
Universidad de Los Andes





**LA VICERRECTORÍA DE INVESTIGACIÓN CIENCIA E INNOVACIÓN**

**CERTIFICA QUE**

**Sandra Helena Suescun Carrero**

CC52083102 Bogotá

Participó en la Semana de la Investigación de la Universidad de Boyacá 2020 llevada a cabo del 7 al 11 de septiembre de 2020, en calidad de Ponente con la investigación titulada: Pruebas de diagnóstico rápido versus ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas ELISA para el diagnóstico de la enfermedad de Chagas crónica: Revisión sistemática y meta-análisis.

Claudia Patricia Quevedo Vargas

Vicerrectora de Investigación Ciencia e Innovación

Elsa Andrea Cobo Mejía

Directora del Centro de Investigaciones para el Desarrollo - CIPADE

SEMANA DE LA  
**INVESTIGACIÓN**  
2020



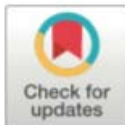
RESEARCH ARTICLE

# Sensitivity and Specificity of two rapid tests for the diagnosis of infection by *Trypanosoma cruzi* in a Colombian population

Sandra Helena Suescún-Carrero<sup>1\*</sup>, Lyda Pilar Salamanca-Cardozo<sup>2</sup>, María-Jesus Pinazo<sup>3</sup>, Lluís Armadans-Gil<sup>4</sup>

**1** Grupo de Investigación del Laboratorio de Salud Pública de Boyacá, Secretaría de Salud de Boyacá, Tunja, Colombia, Doctorado en Metodología de la Investigación Biomédica y Salud Pública, Universitat Autònoma de Barcelona, Barcelona, Spain, **2** Grupo de Investigación del Laboratorio de Salud Pública de Boyacá, Secretaría de Salud de Boyacá, Tunja, Colombia, **3** Barcelona Institute for Global Health (ISGlobal), Hospital Clínic—University of Barcelona, Barcelona, Spain, **4** Servicio de Medicina Preventiva y Epidemiología, Hospital Universitari Vall d'Hebron—Universitat Autònoma de Barcelona, Barcelona, Spain

\* sandrahsc@yahoo.com



## Abstract

### Objective

To evaluate diagnostic precision of two rapid diagnostic tests (RDT's) on patients with chronic Chagas disease.

### OPEN ACCESS

**Citation:** Suescún-Carrero SH, Salamanca-Cardozo LP, Pinazo M-J, Armadans-Gil L (2021) Sensitivity and Specificity of two rapid tests for the diagnosis of infection by *Trypanosoma cruzi* in a Colombian population. PLoS Negl Trop Dis 15(6): e0009483. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0009483>