

Artículo Original/ Original Article

[10.18004/mem.iics/1812-9528/2023.e21122311](https://doi.org/10.18004/mem.iics/1812-9528/2023.e21122311)

Concordancia entre una prueba *in-house* de inmunofluorescencia indirecta y un test comercial de hemoaglutinación indirecta para la detección de anticuerpos anti-*Trypanosoma cruzi*


Luz Chamorro¹ , Vivian Giménez.² , Diana Sanabria² , Ana María Godoy² ,
Cinthia Liuzzi² , María Mercedes Carpinelli² , * Sara Benegas² 

¹Universidad Nacional de Asunción, Facultad de Ciencias Químicas. San Lorenzo, Paraguay

²Universidad Nacional de Asunción, Instituto de Investigaciones en Ciencias de la Salud, Departamento de Inmunología. San Lorenzo, Paraguay

Cómo referenciar este artículo/
How to reference this article:

Chamorro L, Giménez V, Sanabria D, Godoy AM, Liuzzi C, Carpinelli MM, Benegas S. Concordancia entre una prueba *in-house* de inmunofluorescencia indirecta y un test comercial de hemoaglutinación indirecta para la detección de anticuerpos anti-*Trypanosoma cruzi*. Mem. Inst. Investig. Cienc. Salud. 2023; 21(1): e21122311.

Editor Responsable: María Gloria Pedrozo Arrúa . Universidad Nacional de Asunción, Instituto de Investigaciones en Ciencias de la Salud: San Lorenzo, Paraguay

RESUMEN

El diagnóstico serológico de la enfermedad de Chagas, causada por *Trypanosoma cruzi*, carece de "gold standard", siendo considerada la inmunofluorescencia indirecta (IFI) como prueba de referencia para la detección de anticuerpos. Actualmente en Paraguay, el diagnóstico se basa en combinar dos pruebas serológicas. El objetivo del estudio fue evaluar la concordancia entre una prueba *in-house* de IFI y un test comercial de hemoaglutinación indirecta (HAI), para la detección de anticuerpos IgG anti-*T. cruzi*. Se evaluaron 54 muestras de pacientes que acudieron al Instituto de Investigaciones en Ciencias de la Salud (IICS) con solicitud médica de serología para Chagas. Los sueros fueron primeramente analizados por IFI (29 positivos y 25 negativos) y almacenados en una seroteca, posteriormente, se descongelaron para su análisis por HAI. Se determinó la concordancia entre IFI y HAI utilizando el índice Kappa. La concordancia observada entre ambos métodos fue muy buena (Índice Kappa=0,96; $p < 0,0001$). No se observaron diferencias significativas en las frecuencias de muestras que presentaron IgG anti-*T. cruzi* en los niveles bajo ($p=0,759$), intermedio ($p=1,000$) y alto ($p=0,592$). Los anticuerpos medidos por ambos métodos mostraron buena correlación (Rho de Spearman= 0,715; $p < 0,01$). La sensibilidad y especificidad de HAI frente a IFI fue 96,6% y 100%, respectivamente. Los hallazgos sugieren que la combinación de ambas pruebas evaluadas, o bien HAI con otras pruebas serológicas, sería una buena elección diagnóstica en la enfermedad de Chagas en nuestro medio.

Palabras clave: Enfermedad de Chagas, *Trypanosoma cruzi*, diagnóstico serológico, pruebas serológicas.

Fecha de recepción: 22 de febrero de 2023. Fecha de aceptación: 04 de agosto de 2023.

*Autor correspondiente: Sara Benegas. Universidad Nacional de Asunción, Instituto de Investigaciones en Ciencias de la Salud, Departamento de Inmunología. San Lorenzo, Paraguay

Email: bioq.sbc@gmail.com



Este es un artículo publicado en acceso abierto bajo una [Licencia Creative Commons](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/)

Agreement between an in-house indirect immunofluorescence assay and a commercial indirect hemagglutination test for detection of anti-*Trypanosoma cruzi* antibodies

ABSTRACT

The serological diagnosis of Chagas disease, caused by *Trypanosoma cruzi*, lacks a "gold standard", being indirect immunofluorescence (IFI) considered the reference test for the detection of antibodies. Currently in Paraguay, the diagnosis is based on combining two serological tests. The objective of the study was to evaluate the agreement between an IFI *in-house* assay and a commercial indirect haemagglutination test (HAI) for the detection of IgG anti-*T. cruzi*. A total of 54 samples were evaluated, all from patients who attended the Instituto de Investigaciones en Ciencias de la Salud (IICS) with a medical request for Chagas serology. The specimens were first analyzed by IFI (29 positive and 25 negative) and stored in a serum bank, later they were thawed for analysis by HAI. Agreement between IFI and HAI was determined using the Kappa index. The agreement observed between both methods was very good (Kappa Index=0.96; $p<0.0001$). No significant differences were observed in the frequencies of samples that presented anti-*T. cruzi* IgG at low ($p=0.759$), intermediate ($p=1,000$) and high ($p=0.592$) levels. The antibodies measured by both methods showed a good correlation (Spearman's Rho= 0.715; $p<0.01$). The sensitivity and specificity of HAI versus IFI was 96.6% and 100%, respectively. The findings suggest that the combination of both tests, or HAI with other serological tests, would be a good diagnostic choice in Chagas disease at local level.

Keywords: Chagas disease, *Trypanosoma cruzi*, serological diagnosis, serological tests.

INTRODUCCIÓN

La enfermedad de Chagas causada por el protozoario hemoflagelado *Trypanosoma cruzi*, es una parasitosis endémica en América Latina⁽¹⁾, es frecuente pero desatendida debido a que gran parte de las personas afectadas son de áreas rurales o de escasos recursos económicos y no poseen acceso al diagnóstico y tratamiento, lo que sigue representando un problema para la Salud Pública^(2,3). En la Región Cono Sur de América el *Triatoma infestans* es el vector más común, un insecto hematófago que en Paraguay es conocido como "chichã guasú" o vinchuca⁽³⁾. En el 2018 se logró certificar la interrupción de la transmisión vectorial intradomiciliaria por *T. infestans* en todo el territorio paraguayo y actualmente se encuentra en estado de vigilancia entomológica^(4,5). La transmisión ocurre por contacto con excreciones del vector infestado, también por el trasplante de tejidos y órganos infectados, ingesta de comidas contaminadas con parásitos, transfusión de hemoderivados y vía congénita de madre a hijo en el embarazo⁽⁶⁾. La enfermedad está caracterizada clínicamente por tres fases. La fase aguda, generalmente es asintomática y no se generan anticuerpos, la etapa latente, segunda fase, tiene un lapso variable y es el momento en que no se evidencian síntomas, pero es posible detectar anticuerpos *anti-T.cruzi*. La fase crónica, en la que el diagnóstico de la enfermedad se realiza con mayor frecuencia, y que puede desencadenar complicaciones⁽⁷⁾.

Dada la eficiencia, simplicidad y bajo costo de los ensayos que implican anticuerpos, son elegidos como método diagnóstico en la enfermedad de Chagas en la fase crónica⁽⁶⁾. Sin embargo, presentan algunos desafíos como la acción de la respuesta inmune que libera anticuerpos con diferentes especificidades conforme a cada cepa de *T. cruzi*⁽⁸⁾. Algunos estudios han demostrado variabilidad antigénica entre sus cepas y entre formas evolutivas del parásito, lo cual es determinante en relación a las reacciones cruzadas reportadas en las pruebas diagnósticas que utilizan antígenos *T. cruzi*, por lo que el uso de cepas autóctonas del parásito

umentan la sensibilidad y especificidad de las pruebas diagnósticas, disminuyendo así de forma considerable la presencia de reacciones cruzadas frente a antígenos de otros parásitos como *Leishmania* spp.⁽⁹⁾

La IFI es una técnica de alta sensibilidad y especificidad considerada como prueba de referencia para el diagnóstico serológico de la enfermedad ⁽¹⁰⁾. Otro método inmunoserológico de detección es la HAI, cuya sensibilidad y especificidad se considera buena ⁽¹¹⁾. Estudios previos han observado que la utilización de un solo método serológico tiene baja precisión diagnóstica para la enfermedad y en la mayoría de los casos, es diagnosticada recién en su etapa crónica, donde los pacientes ya se encuentran con dificultades graves de salud. Por lo que, el tratamiento y diagnóstico precoz es de suma importancia ⁽¹²⁾.

Debido a la falta de un "patrón de oro", tanto la Organización Mundial de la Salud (OMS) como la Organización Panamericana de la Salud (OPS), definen el diagnóstico de infección de Chagas en su fase crónica mediante la positividad de dos pruebas serológicas realizadas por métodos diferentes, además de la clínica del paciente ⁽¹³⁾. En Paraguay, es limitado el acceso a técnicas diagnósticas complejas como las moleculares, siendo los métodos serológicos la opción más accesible para nuestra población, no obstante, es muy escasa la información a nivel local sobre el comportamiento de estas pruebas serológicas. El objetivo del estudio fue evaluar la concordancia entre una prueba *in-house* de IFI desarrollada en el IICS y un test comercial de HAI, para la detección de anticuerpos IgG anti- *T. cruzi*, como una herramienta probable para el diagnóstico serológico de la enfermedad de Chagas en nuestra comunidad.

MATERIALES Y MÉTODOS

Diseño y muestras de estudio

Se llevó a cabo un estudio observacional de corte transversal y de tipo pruebas diagnósticas. Fueron evaluadas 54 muestras séricas de pacientes de ambos sexos, con edad ≥ 18 años, que acudieron al IICS con solicitud médica de serología para Chagas por motivo diagnóstico o control, de enero del 2018 a octubre del 2020. Posterior al análisis por IFI, estas muestras fueron almacenadas a -20°C en la seroteca del Departamento de Inmunología del IICS y descongeladas al momento del estudio (periodo 2021) para su análisis por HAI.

Las variables de interés en este estudio fueron, los resultados cualitativos (positivo o negativo) de la serología para Chagas por IFI y de la serología para Chagas por HAI, así como también los niveles de anticuerpos (títulos de diluciones ensayadas) IgG para cada metodología de laboratorio estudiada. Además, se describen brevemente las características demográficas de los pacientes cuyas muestras fueron analizadas, extraídas del sistema informático de base de datos del laboratorio (LIS) como: edad, sexo, procedencia y motivo de solicitud de la prueba serológica para Chagas (sospecha clínica de la enfermedad, control prenatal, control laboral).

Prueba *in-house* de inmunofluorescencia indirecta (IFI) para detección de IgG anti-*T. cruzi*

Se utilizó como antígeno al parásito completo *T. cruzi*, cepa *Ypsilon* (Y), en estadio epimastigote, fijado en láminas preparadas en el laboratorio de Inmunología del IICS. En el primer paso se realizaron las diluciones de los sueros con buffer fosfato salino (PBS), ensayándose las siguientes diluciones: 1:20; 1:40; 1:80; 1:160, las que fueron alicuotadas sobre las láminas con antígeno e incubadas en estufa a 37°C . Luego del periodo de incubación se realizaron lavados con PBS y posteriormente el agregado del conjugado anti- IgG de la marca Sigma-Aldrich - USA (nº de catálogo: F9512-1ML) marcado con isotiocianato de fluoresceína, para finalmente observar las reacciones bajo el microscopio de fluorescencia Olympus Optical CO., LTD modelo BH2-RFL-T3, Japonés. Se consideró la muestra como positiva o negativa según la presencia o no, respectivamente, de inmunotinción fluorescente específica (fluorescencia de color verde) en los parásitos presentes en las láminas, así, se definieron como sueros positivos los que presentaron

fluorescencia en la dilución $\geq 1:20$, este punto de corte fue determinado en el laboratorio de Inmunología del IICS durante el proceso de estandarización de esta prueba (datos no publicados).

Prueba comercial de hemoaglutinación indirecta (HAI) para detección de IgG anti-*T. cruzi*

La HAI se realizó utilizando el kit disponible comercialmente (Wiener Laboratorios S.A.I.C., Argentina) y se trabajó según las indicaciones del fabricante. Brevemente, en el primer paso se colocó una gota de diluyente de sueros HAI en todos los pocillos a usar, luego se prepararon las diluciones seriadas de 1:2 a 1:4098 de los sueros a ensayar y, una gota de glóbulos rojos no sensibilizados para control de heterofilia fue puesta en los pocillos conteniendo las diluciones 1:2 y 1:4, en el resto de los pocillos, se agregó una gota de antígeno HAI (liofilizado de glóbulos rojos de carnero sensibilizados con antígenos citoplasmáticos de *T. cruzi*). A continuación, se mezcló y dejó en reposo por 90 minutos. Pasado ese tiempo se realizó la lectura de las muestras, considerándose como resultado positivo la formación de hemoaglutinación a títulos $\geq 1:16$.

ASUNTOS ÉTICOS

Los sueros utilizados pertenecen a la seroteca del Departamento de Inmunología del IICS, los cuales se mantienen codificados para proteger el anonimato de pacientes. Las muestras fueron previamente analizadas por IFI, con fines diagnósticos o control por solicitud médica, y al momento del estudio fueron descongeladas para analizarlas por HAI, respetando la confidencialidad de los datos, no existiendo riesgo adicional para el paciente, motivos por los que no hubo necesidad de aplicar consentimientos informados. El protocolo de trabajo fue aprobado por el Comité de Ética en Investigación del IICS (Código: P26/2021).

ANÁLISIS ESTADÍSTICOS

Todos los datos fueron asentados en una hoja de cálculos de Microsoft Excel 8.0. Para el análisis de los mismos se emplearon los programas estadísticos Epi InfoTM CDC (Atlanta, USA) y SPSS Statistics 23 (IBM Corp. NY, USA). Las variables cualitativas se describen mediante frecuencias absolutas (n) y porcentajes (%); las cuantitativas se presentan utilizando medianas y rangos intercuartílicos. Para evaluar el desempeño de la prueba serológica HAI con respecto a la IFI, se efectuó el cálculo de especificidad, sensibilidad, valores predictivos positivo y negativo por las fórmulas correspondientes, y como medida de concordancia se utilizó el índice Kappa con valor de significancia $p < 0,05$. Un cálculo adicional fue la correlación entre los niveles de anticuerpos medidos por ambas pruebas, mediante el test no paramétrico de Spearman.

RESULTADOS

En este estudio fueron evaluadas 54 muestras séricas de pacientes que acudieron al IICS con solicitud médica de serología para Chagas. El rango de edad de estos pacientes fue de 18 a 78 años, con mediana de 39 años y rango intercuartílico de 29 a 50 años. Se observó un predominio del sexo femenino (57%) y un 80% eran de ciudades del Departamento Central y Asunción. El control por sospecha clínica (52%) fue el motivo más frecuente de solicitud médica del análisis. Estas características se muestran en la Tabla 1.

Tabla 1. Caracterización de pacientes cuyas muestras fueron evaluadas en este estudio. (n=54)

Características	n (%)
Sexo	
Femenino	31 (57)
Masculino	23 (43)
Procedencia	
Asunción	7 (13)
Departamento Central	36 (67)
Ciudades del interior	11 (20)
Motivo del análisis	
Sospecha clínica	28 (52)
Control prenatal*	15 (28)
Control laboral	11 (20)

n: número de pacientes, % porcentaje, *:4 pacientes embarazadas dieron resultado positivo para Chagas.

Concordancia entre los resultados de la prueba *in-house* de IFI y el test comercial de HAI

Se evaluaron 54 muestras séricas previamente analizadas por IFI (periodo 2018-2020) y descongeladas al momento del estudio (periodo 2021) para el análisis por HAI. Por ambos métodos se observó que, 28 sueros resultaron positivos y 25 sueros arrojaron resultados negativos, solo en una muestra se observó resultados discordantes entre ambas pruebas, siendo positiva para IFI con un título bajo de 1:20 y negativa para HAI (Tabla 2). Según estos datos la concordancia total observada entre los resultados fue de 98%. Esto mismo quedó demostrado al evaluar ambos métodos serológicos mediante el índice kappa, obteniéndose una muy buena concordancia (Índice Kappa=0,96; $p < 0,001$).

Tabla 2. Concordancia entre los resultados de las pruebas serológicas de IFI y HAI. (n=54).

		Prueba <i>in-house</i> de IFI		
		Positivo	Negativo	Total
Test comercial de HAI	Positivo	28	0	28
	Negativo	1	25	26
Total		29	25	54

Aplicando las fórmulas correspondientes, la sensibilidad y especificidad de la prueba HAI con respecto a la IFI, considerada como prueba de referencia en el laboratorio, fueron de 96,6% y 100%, respectivamente. Los valores predictivos positivo y negativo fueron 100% y 96,1%, respectivamente, para la prueba HAI con respecto a la IFI.

Comportamiento de los niveles séricos de anticuerpos IgG anti-*T. cruzi* y correlación entre ambos métodos

En la mayoría de los pacientes con resultados positivos en las pruebas serológicas se observaron títulos altos de anticuerpos por IFI (55%) y por HAI (64%). No se observaron diferencias en las frecuencias de muestras según niveles de anticuerpos (bajo, intermedio y alto), obtenidos por ambas pruebas serológicas (Tabla 3).

Tabla 3. Frecuencia de muestras séricas según los diferentes niveles séricos de anticuerpos IgG anti *T. cruzi*-

Niveles de anticuerpos	IFI* (n=29)	HAI** (n=28)	Valor p [#]
	n (%)	n (%)	
Bajo	8 (27)	6 (21)	0,759
Intermedio	5 (17)	4 (14)	1,000
Alto	16 (55)	18 (64)	0,592

*Los niveles se consideraron según las diluciones: Bajo 1:20 y 1:40, Intermedio 1:80, Alto \geq 1:160 (asignación según experiencia de trabajo en nuestro laboratorio). **El rango de títulos para HAI: Bajo 1:16, 1:32 y 1:64, Intermedio 1:128, 1:256 y 1:512, Alto 1:1024, 1:2048 y \geq 1:4096 (según inserto del fabricante). #Los valores de p fueron obtenidos por la prueba exacta de Fisher

Finalmente, se evaluó la correlación entre los niveles de anticuerpos IgG anti-*T. cruzi*, medidos como títulos según las diluciones séricas ensayadas por las pruebas serológicas IFI y HAI, observándose una buena correlación (Rho de Spearman=0,715; $p < 0,01$).

DISCUSIÓN

El diagnóstico de la enfermedad de Chagas, en la mayoría de los casos, es realizado en fase crónica de la patología. Las pruebas serológicas que se basan en la detección de anticuerpos anti-*T. cruzi* son los métodos de elección y el empleo de dos o más pruebas inmunoserológicas que utilicen antígenos diferentes para el diagnóstico en esta etapa de la enfermedad es frecuente^(14,15). La OMS y la OPS recomiendan emplear la combinación de dos técnicas serológicas, y una tercera en caso de resultados discordantes para dar un diagnóstico de la enfermedad⁽¹⁰⁾.

La HAI y la IFI son técnicas inmunoserológicas, las cuales, debido a su simplicidad, bajo costo y a los buenos resultados en términos de especificidad y sensibilidad, son ampliamente usadas para el diagnóstico de la enfermedad^(6,10), no obstante, en laboratorios de nuestro medio no contábamos con información sobre el comportamiento y desempeño de estas dos pruebas.

En este estudio se determinó la concordancia (Índice Kappa=0,96; $p < 0,001$) entre los resultados obtenidos por el test comercial de HAI y por la técnica *in-house* de IFI, siendo este índice correspondiente a una muy buena concordancia, semejante a lo reportado por Mamani *et al*⁽¹⁶⁾. La inmunofluorescencia indirecta se consideró como prueba de referencia en este estudio⁽¹⁰⁾, como sustrato antigénico empleamos parásitos completos de epimastigotes de la cepa *Ypsilon* de referencia. Se han reportado en otras investigaciones que la utilización de cepas autóctonas aumenta la sensibilidad y especificidad de los métodos de detección de anticuerpos anti-*T. cruzi*⁽⁹⁾, lo cual disminuiría la posibilidad de reacciones cruzadas. Sin embargo, también se reportó que la IFI para *T. cruzi* puede presentar reacciones inespecíficas con otros parásitos⁽¹⁷⁾, por ejemplo con el parásito *Leishmania* spp, con el que puede coexistir en las mismas regiones y comparten características antigénicas⁽¹⁸⁾. No obstante, esta reacción cruzada se da por lo general a títulos bajos de anticuerpos⁽¹⁸⁾, además de poseer patrones de tinción diferentes por inmunofluorescencia indirecta⁽¹⁷⁾, por ello consideramos que en este estudio no tendría una interferencia importante ya que los títulos de anticuerpos de la mayoría de las muestras fueron altos.

Además, la IFI requiere de un equipo adicional, el microscopio y personal entrenado para las observaciones, a diferencia de la HAI que es una técnica manual, económica, simple y de fácil interpretación^(19,20) por lo que se puede considerar a la HAI como una metodología confiable por el buen desempeño de la prueba frente a la IFI, lo que concuerda con otra investigación de la región⁽⁹⁾.

Se han observado valores similares en el estudio de Mamani *et al*.⁽¹⁶⁾ en cuanto a sensibilidad, especificidad, VPP y VPN de la HAI con respecto a la IFI. Esto es muy importante a nivel local, ya que según el protocolo aplicado en nuestro país, para confirmar un resultado positivo de una prueba de tamizaje que normalmente es la inmunocromatografía (ICT), se recomienda emplear una prueba serológica de alta especificidad⁽¹⁰⁾, lo que nos hace plantear que la HAI podría emplearse como

alternativa a las pruebas rápidas ICT y utilizarla en conjunto con otras pruebas serológicas para el diagnóstico de la enfermedad de Chagas, sobre todo en etapa crónica.

En este estudio también describimos el comportamiento de los niveles séricos de anticuerpos IgG obtenidos por ambos métodos. Se observó una elevada frecuencia de muestras con títulos altos por las dos pruebas serológicas, coincidente con lo reportado por Araújo *et al.* ⁽²¹⁾. Estos títulos altos de anticuerpos podrían deberse a que los pacientes ya se encuentran en una fase crónica avanzada de la enfermedad, donde la respuesta a la infección chagásica produce niveles elevados de anticuerpos IgG ⁽¹¹⁾. Así mismo, los métodos utilizados en este trabajo son los de elección para esta fase de la enfermedad ^(6,22). Además, la presencia de anticuerpos anti-*T. cruzi* a títulos elevados en la fase crónica, son un indicador clave para el diagnóstico en esta etapa donde la parasitemia es baja ^(15,22). Por otra parte, no observamos diferencias significativas entre las frecuencias de resultados positivos según los niveles bajo, intermedio y alto de anticuerpos entre ambas pruebas serológicas, hecho que refuerza la buena concordancia observada. Adicionalmente, en este estudio correlacionamos los títulos de anticuerpos de las muestras evaluadas por IFI y por HAI, obteniéndose una buena correlación ($Rho=0,715$; $p<0,01$), lo cual sugiere que la combinación de ambas pruebas no sólo posee buena concordancia con respecto a un resultado cualitativo positivo o negativo, sino que también con los títulos de los anticuerpos.

Con relación a los datos demográficos de los pacientes cuyas muestras evaluamos, la mediana de edad fue de 39 años, diferente a la mediana de 47 años reportado en Colombia por Suescún-Carrero *et al.* ⁽²³⁾. Esto podría significar que en nuestro medio la detección es más temprana que en otros países de la región, lo que contribuiría al tratamiento oportuno y prevención de las complicaciones en edades avanzadas⁽⁷⁾, o bien, podría deberse al tamaño reducido de muestra que evaluamos. Cabe mencionar que nuestro país cuenta con el Programa Nacional de Control de la Enfermedad de Chagas (PNCH), dependiente del Servicio Nacional de Erradicación del Paludismo (SENEPA), que realiza campañas de vigilancia y control, lo que podría ayudar a una detección temprana⁽²⁴⁾. Por otro lado, observamos predominancia del sexo femenino (57%), lo que concuerda con trabajos previos⁽¹⁶⁾. Esto podría deberse a que la serología para Chagas se incluye en los análisis realizados a embarazadas. Además, observamos que los motivos de análisis más frecuentes fueron la sospecha clínica y el control prenatal. Actualmente en nuestro país, la principal vía de transmisión de *T. cruzi* es la transplacentaria⁽²⁴⁾. Considerando la procedencia de los pacientes, la mayoría era de Asunción y del Departamento Central, similar al último reporte del SENEPA sobre la situación a nivel país⁽²⁵⁾. Nuestros datos de procedencia corresponden al momento del estudio, no obstante, algunos pacientes podrían ser originarios de zonas rurales y haber migrado a zonas urbanas, un antecedente importante, ya que comúnmente el hábitat del vector corresponde a regiones del interior del país, siendo esta la población potencialmente más expuesta ^(3,5).

La principal limitación de este estudio fue el reducido tamaño de muestra, además, las diluciones consideradas como punto de corte y para asignación de niveles de anticuerpos, representan valores arbitrarios según la experiencia de trabajo con la prueba de IFI en nuestro laboratorio. Sin embargo, nuestros resultados de desempeño de la prueba HAI con relación a la IFI concuerdan con lo reportado previamente en países de la región, siendo este estudio el primer reporte de datos sobre el comportamiento de estas dos pruebas serológicas para diagnóstico de Chagas en nuestro país. En conclusión, nuestros hallazgos de concordancia y correlación entre el test comercial HAI y la prueba *in-house* de IFI, sugieren que la combinación de ambas sería una buena elección diagnóstica para la enfermedad de Chagas en nuestro medio. Además, el hecho de que la HAI presente buena concordancia con la IFI que es considerada una prueba serológica de referencia pero limitada por el equipo y el entrenamiento para realizarla, hace suponer que sería confiable combinar la HAI con otra prueba serológica, teniendo en cuenta que actualmente se utilizan dos pruebas simultáneamente para el diagnóstico serológico de la enfermedad de Chagas.

Contribución de autores

Luz Chamorro: Recolección de datos y/o pacientes, análisis de resultados, redacción del manuscrito y evaluación estadística.

Vivian Giménez: Diseño del estudio, recolección de datos y/o pacientes, análisis de resultados y redacción del manuscrito.

Diana Sanabria: Diseño del estudio, análisis de resultados, redacción del manuscrito y evaluación estadística.

Ana Godoy y Cinthia Liuzzi: Recolección de datos y/o pacientes y análisis de resultados.

María Mercedes Carpinelli: Análisis de Resultados, redacción del manuscrito.

Sara Benegas: Diseño del estudio, recolección de datos y/o pacientes, análisis de resultados, redacción del manuscrito y evaluación estadística.

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

Financiación: Este trabajo no recibió ningún tipo de financiación.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Acosta N, López E. Cepas de *Trypanosoma cruzi* en el Paraguay. *Mem Inst Investig Cienc Salud*. 2013; 11(2):78-89. Disponible en: http://scielo.iics.una.py/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1812-95282013000200009
2. Vera E, San Miguel MC, Chaparro F, Franco G. Conocimientos sobre Enfermedad de Chagas y *Triatoma infestans* en Pobladores del Departamento de San Pedro, Paraguay 2019. *An Fac Ciencias Médicas*. 2020; 53(1): 81-92. Doi: <https://doi.org/10.18004/anales/2020.053.01.81-092>
3. Sánchez Casaccia P, González-Britez N, Acosta N, López E. Vectores de *Trypanosoma cruzi* en ambientes domésticos y silvestres de las comunidades Ayoreo Totobiegosode del Alto Paraguay. *Rev. Soc. cient. Parag*. 2019; 24(1): 218-29. Doi: <https://doi.org/10.32480/rscp.2019-24-1.218-229>
4. Canese A, Canese A. Manual de Microbiología y Parasitología. 7ma edición General Díaz 970 Asunción, Paraguay. 2012; 275-99.
5. Sanchez Z, Guillén L, Pineda D, Paredes B, Russomando G. Técnicas moleculares integradas a la vigilancia entomológica de vectores de la enfermedad de Chagas: Estudio del vector secundario *Triatoma sordida* en la Región Oriental del Paraguay. *Mem Inst Investig Cien Salud*. 2020; 18(1):76-83. Doi: <https://doi.org/10.18004/mem.iics/1812-9528/2020.018.01.76-083>
6. Del-Rei RP, Leony LM, Celedon PAF, Zanchin NIT, Reis MGd, Gomes YdM, 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. Doi: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0215623>
7. Murillo-Godínez G. Enfermedad de Chagas (trypanosomiasis americana). *Med Int Méx*. 2018; 34(6): 959-70. Doi: <https://doi.org/10.24245/mim.v34i6.2217>
8. Daltro RT, Leony LM, Freitas NEM, Silva ÁAO, Santos EF, Del-Rei RP, et al. Cross-reactivity using chimeric *Trypanosoma cruzi* antigens: diagnostic performance in settings where Chagas disease and American cutaneous or visceral leishmaniasis are coendemic. *J Clin Microbiol*. 2019; 57(8): e00762-19. Doi: <https://doi.org/10.1128/JCM.00762-19>
9. Berrizbeitia M, Seijas N, Rodríguez J, Jorquera A, Romero L. Estandarización, validación y aplicación de la inmunofluorescencia indirecta en un estudio epidemiológico de la infección por *Trypanosoma cruzi*. *Rev. Soc. Ven. Microbiol. Caracas*. 2015; 35(1): 53-59. Disponible en: http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1315-25562015000100010
10. OPS, OMS. Guía para el diagnóstico y el tratamiento de la enfermedad de Chagas. Washington, D.C. OPS. 2018. Disponible en: https://iris.paho.org/bitstream/handle/10665.2/49653/9789275320433_spa.pdf
11. Farfán-García AE, Castellanos-Domínguez YZ, Luna-Marín KP, Angulo-Silva VM. Concordancia de dos pruebas serológicas para el diagnóstico de la enfermedad de Chagas. *Rev Salud Pública*. 2013; 15(2): 192-202. Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/rsap/v15n2/v15n2a03.pdf>
12. González L, Scollo K, Bardach A, Sáez-Alquezar A, Ferlín C, Albajar-Viñas P, et al. Inmunoserología y métodos

- moleculares para el diagnóstico de Chagas: revisión sistemática rápida. *Acta bioquím. clín. latinoam.* 2017; 51(1): 63-74. Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/535/53550497010.pdf>
13. OPS, OMS. Organización Panamericana de la Salud [Internet]. Enfermedad de Chagas. [citado 12 Sep 2021]. Disponible en: <https://www.paho.org/es/temas/enfermedad-chagas>
 14. Villagrán-Herrera ME, Sánchez-Moreno M, Rodríguez-Méndez AJ, Hernández-Montiel HL, Dávila-Esquivel F de J, González-Pérez G, et al. Comparative serology techniques for the diagnosis of *Trypanosoma cruzi* infection in a rural population from the state of Querétaro, Mexico. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 2014; 109(7): 964–9. Doi: <https://doi.org/10.1590/0074-0276130413>
 15. Organización Mundial de la Salud. La enfermedad de Chagas (Tripanosomiasis americana): Nota descriptiva N°340; 2016. Disponible en: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs340/es/>
 16. Mamani JI, Bilbao L, Collino JG. Comparación de dos métodos para la determinación de anticuerpos anti *Trypanosoma cruzi* incorporando un sistema documental. *Revista Bioquímica y Patología Clínica. Bioquímica y Patol Clínica (ByPC). Rev la Asoc Bioquímica Argentina (ABA).* 2021; 85(3): 44–50. Disponible en: <https://www.revistabyperc.org.ar/index.php/byperc/article/view/188>
 17. Vásquez L, Ruelas N, Córdova E. Patrones de coloración en la inmunofluorescencia indirecta y su utilidad en el diagnóstico de leishmaniasis tegumentaria y enfermedad de Chagas. *Acta Med Per.* 2011; 28(1): 19-22. Disponible en: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1728-59172011000100004
 18. Córdova M, Zurita J, Guzmán M, Verduguez A, Rojas Ernesto. Patrones diferenciales entre Leishmaniasis y chagas, empleando epimastigotes de *Trypanosoma cruzi*. *Gac Médica Boliv.* 2020; 43(2): 120-6. Disponible en: <https://doi.org/10.47993/gmb.v43i1.11>
 19. Ferrer E, Lares M, Viettri M, Medina M. Comparación entre técnicas inmunológicas y moleculares para el diagnóstico de la enfermedad de Chagas. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2013 May 1; 31(5): 277–82. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.eimc.2012.09.007>
 20. Romero-Ruiz S, Miranda-Ulloa E, Briceño-Espinoza R. Rendimiento diagnóstico de la prueba de inmunofluorescencia indirecta para la detección de anticuerpos contra HTLV-1. *Rev Peru Med Exp Salud Publica* 2017; 34(3):459–65. Doi: <https://doi.org/10.17843/rpmesp.2017.343.2635>
 21. Araújo A, Aires M. Conventional serological performance in diagnosis of Chagas' disease in southern. *Braz J Infect Dis.* 2013;17(2);174-8. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.bjid.2012.10.013>
 22. SENEPA. Programa Nacional de control de la enfermedad de Chagas. [Internet]. Paraguay. [citado 2 Feb 2022]. Disponible en: <http://senepa.gov.py/programa-nacional-de-control-de-la-enfermedad-de-chagas/>
 23. Suescún-Carrero SH, Salamanca-Cardozo LP, Pinazo MJ, Armadans-Gil L. Sensitivity and Specificity of two rapid tests for the diagnosis of infection by *Trypanosoma cruzi* in a Colombian population. *PLoS Negl Trop Dis.* 2021 2; 15(6): e0009483. Doi: 10.1371/journal.pntd.0009483
 24. SENEPA. Educación comunitaria Por Un Paraguay Sin Chagas. [Internet]. Paraguay. [citado 29 de enero 2022]. Disponible en: <http://senepa.gov.py/2021/06/08/educacion-comunitaria-porunparaguaysinchagas/>
 25. SENEPA. Paraguay refuerza la lucha contra la Enfermedad de Chagas con las primeras guías de manejo de la patología. [Internet]. Paraguay. [citado 20 ene 2022]. Disponible en: <http://senepa.gov.py/2021/07/09/paraguay-refuerza-la-lucha-contra-la-enfermedad-de-chagas-con-las-primeras-guias-de-manejo-de-la-patologia>