

Ecología

Actualización del estado de conocimiento sobre las técnicas de diagnóstico de la leishmaniasis y enfermedad de Chagas

Update of the state of knowledge on diagnostic techniques of Leishmaniasis and Chagas disease

Julián Pineda-Rios ^{a,*}, Berenice González-Rete ^b, Isabel Cristina Cañeda-Guzmán ^c,
Ángel Rodríguez-Moreno ^a, Víctor Sánchez-Cordero ^a, Ingeborg Becker ^c
y Paz María Salazar-Schettino ^b

^a Universidad Nacional Autónoma de México, Instituto de Biología, Departamento de Zoología, Tercer Circuito s/n, Ciudad Universitaria, 04510 Ciudad de México, México

^b Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Medicina, Departamento de Microbiología y Parasitología, Laboratorio de Biología de Parásitos, Circuito Interior s/n, Ciudad Universitaria, 04510 Ciudad de México, México

^c Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Medicina, Unidad de Medicina Experimental, Hospital General de México "Dr. Eduardo Liceaga", Dr. Balmis Núm. 148, 06726 Ciudad de México, México

*Autor para correspondencia: julianpinedarios01@gmail.com (J. Pineda-Rios)

Recibido: 29 junio 2023; aceptado: 26 enero 2024

Resumen

La leishmaniasis y la enfermedad de Chagas son causadas por protozoarios que comparten características filogenéticas y eco-epidemiológicas comunes, lo cual provoca dificultad en su identificación y diagnóstico. El objetivo de este trabajo fue analizar la información disponible sobre las técnicas de identificación de *T. cruzi*, de *Leishmania* spp. y la coinfección con ambos parásitos, así como su impacto en la obtención de datos eco-epidemiológicos. Se realizó una búsqueda sistemática de técnicas de identificación para *T. cruzi*, *Leishmania* spp. o ambos. Los estudios se clasificaron por agente etiológico, tipo de publicación, técnica utilizada y hospedero. Se realizó una prueba de χ^2 para evaluar la relación entre el parásito y la técnica utilizada. También se analizó la relación entre los trabajos publicados por año, la técnica diagnóstica y el parásito. De 138 trabajos analizados, se determinó que no existe un "estándar de oro" para el diagnóstico de estas parasitosis y la coinfección. Por tanto, se requiere la estandarización de protocolos que incrementen la sensibilidad y especificidad, así como el uso de al menos 2 técnicas en la identificación. Es imprescindible estudiar la prevalencia e incidencia de estas parasitosis en la fauna silvestre y la población humana bajo el contexto de cambio climático.

Palabras clave: *Trypanosoma cruzi*; *Leishmania* spp.; Coinfección; Técnicas parasitológicas; Técnicas inmunológicas; Técnicas moleculares

Abstract

Leishmaniasis and Chagas disease are caused by protozoa that share common phylogenetic and eco-epidemiological characteristics, which makes them difficult to identify and diagnose. This work aimed to analyze the information available on identification techniques for *T. cruzi*, *Leishmania* spp., and coinfection with both parasites, as well as its impact on obtaining eco-epidemiological data. A systematic search for identification techniques for *T. cruzi*, *Leishmania* spp., or both was conducted. The studies were classified by etiological agent, type of publication, technique used, and host. A chi-square test was performed to assess the relationship between the parasite and the technique used. The relationship between the papers published per year, the diagnostic technique, and the parasite was also analyzed. Of 138 analyzed works, it will be prolonged that there is no “gold standard” for the diagnosis of these parasitic diseases and coinfection. Therefore, the standardization of protocols that increase the sensitivity and specificity is required, as well as the use of at least 2 techniques in identification. It is essential to study the prevalence and incidence of these parasites in wildlife and the human population in the context of climate change.

Keywords: *Trypanosoma cruzi*, *Leishmania* spp.; Coinfection; Parasitological techniques; Immunological techniques; Molecular techniques

Introducción

Las enfermedades tropicales desatendidas (ETD) están catalogadas como un conjunto de enfermedades infecciosas que afectan a países tropicales en vías de desarrollo y a la población socioeconómicamente vulnerable debido, principalmente, a la falta de acceso al medicamento y servicios de salud (OPS, 2018). Dentro de las ETD se incluyen a la leishmaniasis y la tripanosomiasis americana o enfermedad de Chagas (EC). Estas enfermedades son causadas por protozoarios parásitos, pertenecientes a la familia Trypanosomatidae que comparten varias características eco-epidemiológicas, como la distribución simpátrica en zonas endémicas (WHO, 2010). El ciclo de vida es heteroxeno, utilizando vectores artrópodos (De Lima et al., 2006; Kaufer et al., 2017; Molyneux, 1977) y una gran diversidad de mamíferos, incluido el humano como hospederos. Además, exhiben características genéticas y antigénicas comunes, y presentan una relación filogenética cercana (Ferguson, 1997; Hoyos et al., 2016; Hughes y Piontkivska, 2003; Monterrubio et al., 2018).

Las enfermedades de Chagas y leishmaniasis son un problema de salud pública importante, con una prevalencia especialmente elevada en las poblaciones rurales y marginadas. Estas poblaciones suelen tener acceso limitado a servicios de salud y educación. Además, ambas enfermedades tienen una alta morbilidad y mortalidad, lo que puede generar un impacto significativo en la economía de los países afectados (WHO, 2020, 2023). La información disponible sobre las técnicas utilizadas para identificar y diagnosticar *Trypanosoma cruzi* y *Leishmania* spp. presenta un reto fundamental debido a la alta variedad de técnicas disponibles, lo cual se refleja en el amplio intervalo de sensibilidad y especificidad de cada una, aunado a su falta de estandarización. En algunos

casos, requieren de equipos y materiales muy costosos, por lo cual se necesita tener pruebas más accesibles, rápidas y baratas.

Este trabajo de revisión sintetiza y analiza la información sobre las técnicas utilizadas para identificar la infección causada de manera individual por *T. cruzi* y *Leishmania* spp., y la presencia de coinfecciones con ambos parásitos. Además, analiza los beneficios e inconvenientes que presenta cada tipo de prueba, su frecuencia de uso, los cambios en el uso y desuso de las técnicas a lo largo del tiempo, así como su impacto en la obtención de datos eco-epidemiológicos.

Materiales y métodos

Se realizó una búsqueda sistemática de estudios que incluyeran métodos de identificación para *T. cruzi*, *Leishmania* spp. o ambos. La búsqueda sistemática incluyó estudios realizados en el periodo de 1983 a 2022. Se utilizaron los términos, “diagnóstico” OR “identificación” OR “detección” OR “comparación”, “co-infección” OR “co-endemismo” OR “reactividad cruzada”, siempre junto con “Chagas” OR “*trypanosoma*” AND/OR “*leishmania*”. Todos los términos anteriores fueron ingresados, tanto en inglés como en español, con las combinaciones lógicas posibles. Los buscadores usados en internet fueron PubMed, Google Scholar, Scopus, Springerlink, Web of Science y SciELO. Los documentos seleccionados incluyeron los términos ya sea en su título, palabras clave y resumen.

La clasificación de los trabajos revisados se realizó a partir de la especie de parásito que reportaron, por lo cual se obtuvieron 3 grupos principales: a) *Leishmania* spp., b) *T. cruzi* y c) coinfecciones. Además, cada grupo se subdividió en los 3 siguientes temas o subcategorías:

1) por tipo de publicación se agruparon en las siguientes categorías, *i*) notas: se incluyen los trabajos como artículos de comunicación corta, informes técnicos, notas técnicas y reportes; *ii*) revisión, se agrupan artículos y trabajos de revisión; *iii*) tesis, se integran las de licenciatura, maestría y doctorado y *iv*) artículos, que incluye solo artículos originales publicados. Se construyó un diagrama de tiempo para visualizar el patrón de publicación de trabajos por especie de parásito que se diagnosticó (*Leishmania* spp., *T. cruzi* o coinfección). 2) Por tipo de técnicas descritas en el trabajo: parasitológicas, inmunológicas y moleculares. 3) Por tipo de hospedero del que se obtuvo el órgano o tejido analizado. De esta subcategoría se generaron 3 subgrupos: *i*) hospederos silvestres (mamíferos de vida libre); *ii*) hospederos domésticos - ferales (se incluyen gatos y perros) y *iii*) muestras humanas. Para cada una de las categorías creadas se obtuvieron datos de frecuencia relativa por grupo y en combinación con las demás categorías: parásito por año; técnica diagnóstica por año; parásito por técnica diagnóstica y parásito por hospedero mamífero. Además, se construyó un diagrama de tiempo para visualizar el patrón de publicación de trabajos por especie de parásito que se diagnosticó (*Leishmania* spp., *T. cruzi* o coinfección).

Se empleó una prueba de X^2 para evaluar la relación entre el parásito diagnosticado y el tipo de técnica utilizada; se consideraron los trabajos con una sola técnica (parasitológica (P), inmunológica (I) y molecular (M)), así como las combinaciones entre éstas: parasitológicas-inmunológicas-moleculares (PIM), parasitológicas-inmunológicas (PI), parasitológicas-moleculares (PM) e inmunológicas-moleculares (IM). Asimismo, se realizó un análisis de correlación múltiple, en R Studio (2020), respecto de la cantidad de artículos por año, la categoría de técnica diagnóstica y el parásito identificado.

Resultados

En un lapso de 39 años (1983 - 2022) se registraron 138 trabajos (material suplementario; tabla S1) en los cuales se emplearon técnicas de identificación diagnóstica para *T. cruzi*, *Leishmania* spp. y coinfecciones (fig. 1). El parásito más frecuente en la revisión fue *T. cruzi* con 37.7% (n = 52), seguido de los trabajos con reporte de coinfección por ambos parásitos con 36.2% (n = 50) y, por último, el caso de *Leishmania* spp. con 26.1% (n = 36). De los trabajos revisados, el tipo de publicación más frecuente fue el de artículos originales con 81.1% (n = 112), mientras que los menos frecuentes fueron los artículos de revisión que alcanzaron únicamente 3.7% (n = 5).

En esta revisión observamos que las técnicas inmunológicas son las más frecuentes, con 36.95% (n = 51). En 21% (n = 29) de éstas, se reportaron posibles coinfecciones (tabla 1). Por otro lado, las menos frecuentes fueron las parasitológicas con 4.34% (n = 6). Las técnicas parasitológicas se basaron en muestras obtenidas a partir de biopsias, improntas o aislamiento del parásito y mantenimiento en cultivo para la identificación de *Leishmania* spp. en humanos. Sin embargo, 81% (n = 30) de los trabajos enriquecieron el diagnóstico empleando de 2 a 3 técnicas diferentes (material suplementario; tabla S2).

Por otro lado, las técnicas inmunológicas para detectar la presencia de múltiples especies de *Leishmania* incluyeron electroforesis de isoenzimas, ELISA, IFAT y Western blot. Se identificaron un total de 18 (35.29%) trabajos que utilizaron diversos métodos para el diagnóstico de *T. cruzi*, abarcando al menos una técnica encontrada durante la revisión. Los estudios inmunológicos fueron los que reportaron más casos de posibles coinfecciones (n = 29; 56.86%) respecto de los otros 2 tipos de técnicas (tabla 1).

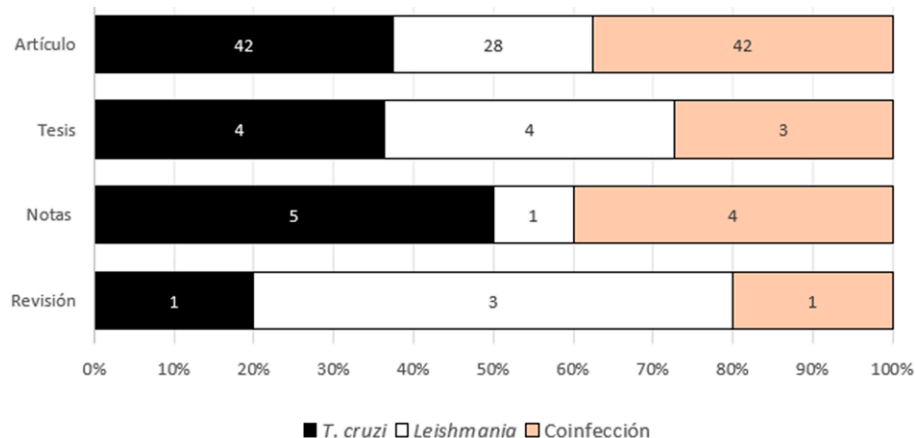


Figura 1. Número de publicaciones por categoría sobre la enfermedad de Chagas y leishmaniasis entre 1983 y 2022.

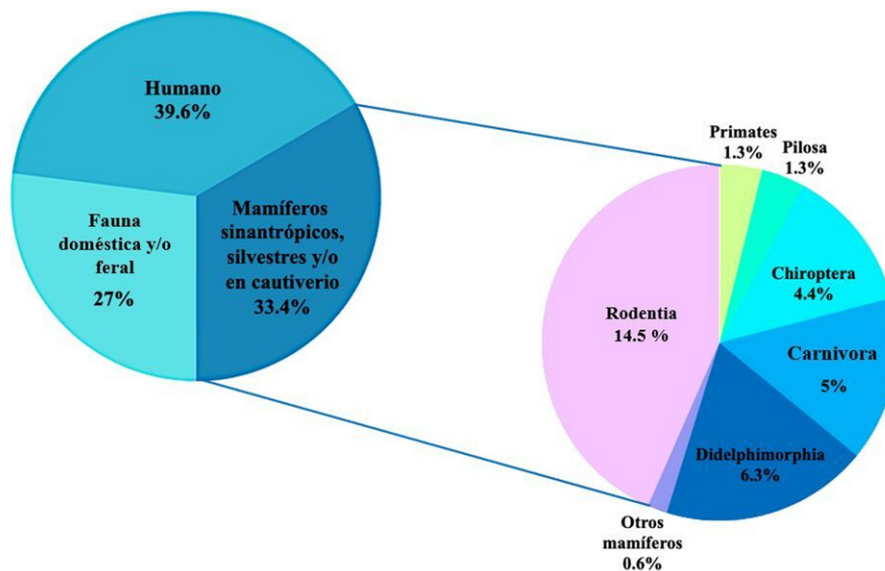


Figura 2. Grupos y subgrupos de hospederos infectados con *Leishmania* spp. y *T. cruzi*.

En relación con las técnicas de diagnóstico molecular, se encontró que estas pruebas fueron las que más reportes individuales tuvieron, pero identificaron menos casos de coinfección entre *T. cruzi* - *Leishmania* spp. ($n = 7$; 15%). Se observó un incremento en el número de estudios que utilizaron la combinación de técnicas moleculares con técnicas parasitológicas e inmunológicas (11.6%, $n = 16$), lo cual corresponde a 43.24% de los trabajos en donde se utiliza más de una prueba diagnóstica para la identificación de leishmaniasis y EC (tabla 1).

De los 138 artículos revisados, observamos que las muestras obtenidas para el diagnóstico de *Leishmania* spp. Y *T. cruzi* provienen principalmente de 3 tipos de hospederos: humanos con 39.6%, mamíferos silvestres con 33.4% y la fauna doméstica con 27%. El grupo de mamíferos silvestres está representado por 6 órdenes, de los cuales Rodentia es el más frecuente, ya que representa 14.5% de los organismos estudiados; le sigue Didelphimorphia (6.3%) y Carnivora (5%; fig. 2). Además, se observó una asociación significativa entre el tipo de técnica diagnóstica y el parásito identificado ($X^2 = 29.61$, g. l. 12, $p < 0.05$). Se encontró una correlación significativa entre las mismas ($V = 56.5\%$). Por lo tanto, existe una relación entre el tipo de técnica que se utiliza y el parásito que se diagnostica.

Asimismo, se pueden observar las aportaciones relativas de cada una de las variables a la relación de dependencia que se encontró con la X^2 (fig. 3). Por un lado, el análisis realizado sobre *T. cruzi* contribuye en mayor proporción a la relación de variables de dependencia entre las técnicas utilizadas (parasitológicas e inmunológicas) y el parásito

identificado, con respecto a la información correspondiente a *Leishmania* spp. y las coinfecciones. De igual manera, la contribución relativa por parte de *Leishmania* spp. Es mayor en la interacción de las combinaciones PI, PIM y PM. Por último, las coinfecciones contribuyen más a esta relación de variables al presentar mayor influencia en los análisis moleculares y la combinación IM, no así a las pruebas parasitológicas y combinaciones como PI, PIM y PM. En cuanto a las asociaciones que menos contribuyeron al valor obtenido de X^2 , se tiene a *Leishmania* spp. Con las pruebas parasitológicas e inmunológicas, mientras que *T. cruzi* aporta, en menor medida, a la asociación con las técnicas moleculares y todas las combinaciones (IM, PI, PIM y PM; fig. 3).

Con respecto a la correlación múltiple realizada, observamos que cada año se incrementan los estudios publicados de las técnicas moleculares (independientemente de cuál sea el patógeno; $r = 0.54$, $p = 0.001$), las cuales enriquecen el diagnóstico, ya sea aplicando 2 o 3 técnicas en el mismo trabajo (fig. 4). Por ejemplo, en la combinación PIM ($r = 0.44$, $p = 0.009$) y PM ($r = 0.55$, $p = 0.0008$), lo que se sugiere es que existe una tendencia directa entre los años y el tipo de técnica que se utiliza. No obstante, para estos casos existen diferencias dependiendo del agente causal.

Se encontró que para *T. cruzi* existe una asociación significativa entre el año y el número de publicaciones ($r = 0.4$, $p = 0.02$; fig. 4). Además, al analizar el tipo de técnica con el parásito diagnosticado, se determinó que la relación de *T. cruzi* con las técnicas inmunológicas ($r =$

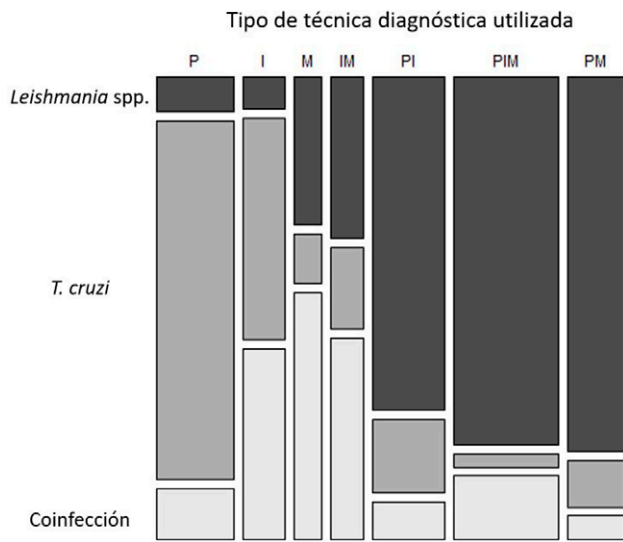


Figura 3. Diagrama de mosaico del aporte relativo a X^2 por tipo de técnica utilizada y el parásito identificado. En el diagnóstico se utiliza una técnica y la combinación de 2 o hasta 3 técnicas. P = Parasitológicos, I = inmunológicos, M = moleculares.

0.67, $p = 0.0001$), moleculares ($r = 0.60$, $p = 0.0002$) y la combinación de técnicas (PI; $r = 0.48$, $p = 0.004$ y PIM; $r = 0.37$, $p = 0.03$) es positiva-moderada y significativa (fig. 4). En el caso de *Leishmania* spp., se encontró que las pruebas moleculares ($r = 0.61$, $p = 0.0001$), parasitológicas ($r = 0.39$, $p = 0.02$) y su combinación (PM; $r = 0.46$, $p = 0.006$), muestran una asociación positiva-moderada y

significativa, aunque no fue así al relacionarlas con el año, puesto que mostró una tendencia positiva pero no significativa ($r = 0.3$, $p = 0.08$) (fig. 4).

En lo referente a las coinfecciones, se encontró que existe una asociación significativa entre el año y la cantidad de publicaciones realizadas ($r = 0.45$, $p = 0.007$). Además, se acentúa el uso de las técnicas inmunológicas ($r = 0.55$, $p = 0.0007$), moleculares ($r = 0.49$, $p = 0.003$) y su combinación IM ($r = 0.41$, $p = 0.01$), lo cual resulta en una asociación positiva-moderada y significativa (fig. 4).

Contrario a lo anterior, durante nuestro análisis también se identificaron relaciones negativas, débiles y no significativas, las cuales refieren que no existe una tendencia directa entre las variables, como las técnicas parasitológicas y su relación con el año de publicación ($r = -0.05$, $p = 0.7$), con el diagnóstico de *T. cruzi* ($r = -0.2$, $p = 0.25$) y con las coinfecciones ($r = -0.04$, $p = 0.8$; fig. 4).

Discusión

En los artículos analizados para esta exploración sistemática destaca el grupo de revisiones. Dentro de las aportaciones más destacables, encontramos las de Da Silveira et al. (2001), quienes enfatizan la necesidad de utilizar antígenos recombinantes y péptidos sintéticos para mejorar la especificidad de las técnicas de diagnóstico de la enfermedad de Chagas. Por su parte, Van Wynsberghe et al. (2009) y Roque y Jansen (2014), concluyen que los métodos parasitológicos son menos efectivos en mamíferos silvestres, pero aún se consideran adecuados para el diagnóstico de *Leishmania* spp. en humanos.

Tabla 1

Número de publicaciones sobre las técnicas diagnósticas utilizadas para la identificación de *Leishmania* spp., *Trypanosoma cruzi* y coinfección.

Técnica	Infección por:			Total
	<i>Leishmania</i> spp.	<i>Trypanosoma cruzi</i>	Coinfección	
Parasitológica (P)	2	1	3	6
Inmunológica (I)	4	18	29	51
Molecular (M)	16	21	7	44
Utilizando más de una técnica diagnóstica				
P x I	1	2	3	6
P x M	2	5	1	8
I x M	1	2	4	7
P x I x M	6	5	5	16
Total	32	54	52	138

P = Parasitológicos, I = inmunológicos, M = moleculares.

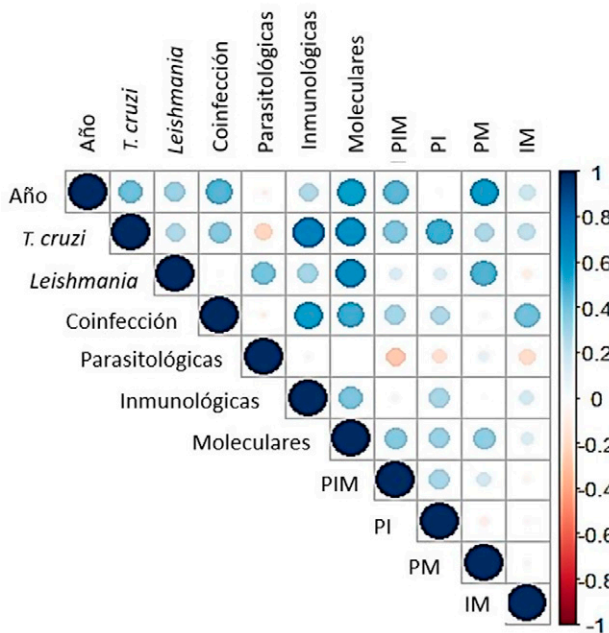


Figura 4. Matriz de correlación múltiple entre el tipo de técnica utilizada y el parásito diagnosticado. Se indica el valor de correlación r con la intensidad del color y valor de p con el tamaño del círculo dentro de la celda. Los tonos azules muestran una correlación positiva, mientras que rojos indican una asociación negativa. P = Parasitológica, I = inmunológica y M = molecular.

En este trabajo de revisión, se presenta un análisis exhaustivo y actualizado sobre la importancia del empleo de las diferentes técnicas de diagnóstico para la identificación de *Leishmania* spp. y *T. cruzi*. Se incluye la detección y reporte de coinfección con ambos parásitos, y su impacto en la generación de datos eco-epidemiológicos. Adicionalmente, se brinda una visión de la evolución que muestran las publicaciones respecto de las técnicas de diagnóstico empleadas en la detección de estos parásitos. De acuerdo con nuestros análisis, se anticipa un aumento en la frecuencia de publicaciones donde se hace uso de técnicas moleculares e inmunológicas, mientras que otras podrían volverse menos frecuentes en su publicación, como es el caso de las pruebas parasitológicas.

Técnicas parasitológicas: uso y desuso en la identificación y diagnóstico de la leishmaniasis y enfermedad de Chagas. Una de las tendencias importantes que se encontró durante la revisión fue el desuso paulatino de las pruebas parasitológicas en las publicaciones. De acuerdo con los resultados del análisis que se obtuvo, se espera que la frecuencia de trabajos con técnicas parasitológicas disminuya con el paso del tiempo. Es importante aclarar que no necesariamente implica que sean

técnicas que dejen de utilizarse, pues en general, estas son consideradas como métodos con una alta especificidad, por lo que la reactividad cruzada es bastante baja; además, en algunos casos y lugares son la única alternativa de diagnóstico.

Dentro de las desventajas más importantes que presentan este tipo de métodos, están: 1) la necesidad de contar con un técnico especializado para la identificación y diferenciación de los parásitos, lo cual involucra la obtención de la muestra, el cultivo y la revisión en el microscopio. Esto requiere de conocimientos del procedimiento completo, así como de la interpretación de los resultados obtenidos; 2) falta de confirmación de la carga parasitaria, donde si bien se puede encontrar de manera directa al parásito, es difícil cuantificar la carga debido a que eso depende del tipo de muestra de donde se obtenga al parásito y la etapa de infección en el hospedero; y 3) variación en el tiempo de obtención de los resultados debido a que se puede hacer, desde un frotis y montaje para ver bajo microscopio, hasta la confirmación del diagnóstico con cultivos y xenocultivos (López-Céspedes, 2013; Piarroux et al., 1994). A pesar de lo anterior, varios autores recomiendan su uso como complemento de otras técnicas en el diagnóstico de los parásitos (e.g., Ávila et al., 1993; Mettler et al., 2005; Minaya et al., 2005; Saridomichelakis et al., 2005).

Técnicas inmunológicas: uso, mantenimiento y mejoras en la identificación y diagnóstico de la leishmaniasis y enfermedad de Chagas. Con respecto a estas técnicas y de acuerdo con las tendencias obtenidas, su uso también se mantendrá e inclusive aumentará, aunque con una velocidad menor que las técnicas moleculares. En este sentido, se espera que su uso para el diagnóstico por separado se mantenga, no así para la identificación de coinfecciones. Lo anterior se debe, principalmente, a la desventaja más importante que es la reactividad cruzada que muestran al tratar de identificar parásitos relacionados, como *Leishmania* spp. y *T. cruzi* en el mismo individuo (Ávila et al., 1993; Córdova et al., 2020; Daltro et al., 2019; Moser et al., 1989; Riera et al., 2012).

Otros puntos a resaltar son sobre la viabilidad y el rango de sensibilidad-especificidad de cada prueba inmunológica que dependen en gran medida del tipo de muestra que se analice, el estado del individuo (con infección aguda o crónica, coinfección), si tuvo tratamiento antiparasitario e inclusive el antígeno/anticuerpo que se busque (Abrás et al., 2016; Álvarez y Ferrer, 2014; Arjona et al., 2017; Vietri, 2017).

Aunque pareciera que estas técnicas presentan muchos inconvenientes en su uso, es de destacar que la mayoría de los artículos encontrados ($n = 80$) utilizó una técnica de esta categoría, ya sea en individual o en conjunto con alguna

otra técnica. Además, en varios artículos se menciona una prueba en particular (ELISA) como la más adecuada y confiable, ya que presenta una sensibilidad (ca. 93 - 100%) y especificidad (> 90%) mayor a las otras pruebas de este grupo (Abrás et al., 2016; Daltro et al., 2019; Freitas et al., 2022; Santos et al., 2017; Zamora-Ledesma et al., 2020).

También se menciona que el uso de fracciones antigénicas en específico e incluso antígenos recombinantes (e.g., Ag163B6, rTc24, GSP-SAPA, Fe-SODe; IBMP), la combinación o modificación de las pruebas (ELISA - Western Blot, ELISA - inmunohistoquímica, etc.), y el mejoramiento de los sistemas de detección (quimio-luminiscencia, membranas permeables, etc.) pueden emplearse para aumentar la eficiencia de los resultados. Ésto con el objetivo de minimizar los falsos positivos y negativos en regiones coendémicas y no endémicas para estas enfermedades.

Técnicas moleculares: avance en la identificación y diagnóstico de la leishmaniasis y enfermedad de Chagas. En el caso de las pruebas PCR, se espera que se aumente su uso para el diagnóstico e identificación de infecciones, tanto de forma individual como en conjunto para las coinfecciones en los próximos años. Lo anterior se debe a que estas técnicas cuentan con una alta sensibilidad y especificidad (en ambos casos > 97%). Además, pueden detectar el material genético de un solo organismo por cada µl de muestra (INDRE, 2019a, b; Passos et al., 1997; Pérez-España et al., 2019; Vietri et al., 2022).

Sin embargo, a pesar de ser considerada una de las mejores opciones de diagnóstico en investigación, este tipo de técnicas presentan algunas desventajas que evitan su uso universal y estandarizado, como son: 1) la elección del órgano/fluido blanco para la muestra, ya que dependiendo de la etapa de la enfermedad (aguda o crónica en EC), la sensibilidad cambia, 2) la purificación del material para amplificar (DNA-RNA) se puede contaminar y generar resultados falsos, y 3) la elección adecuada de los oligonucleótidos para la reacción, puesto que existe una amplia variedad de genes que se pueden amplificar para identificar una especie. Por tanto, es necesario elegir aquel oligonucleótido que permita obtener resultados de alta especificidad y sensibilidad para la detección de microorganismos de interés (Kirchhoff et al., 1996; López-Céspedes, 2013; Marcelino et al., 2020).

¿Estándar de oro? Si bien el análisis realizado indica que el uso de las técnicas moleculares se está expandiendo, su aplicación para fines diagnósticos es limitada debido a los costos elevados, la logística de obtención, la extracción y análisis de muestras e instalaciones especiales que se requieren. Asimismo, se vuelve más compleja la obtención de datos epidemiológicos específicos, ya que se debe considerar no solo el nivel taxonómico de género.

Además, deben usarse técnicas que incluyan el diagnóstico e identificación intra e interespecífica de cada grupo de parásitos con la finalidad de evitar subestimaciones de los registros y tener un panorama más completo y robusto del escenario eco-epidemiológico de la región o población estudiada (Marcelino et al., 2020; Vietri et al., 2022).

A pesar de que se han desarrollado diversas pruebas inmunológicas y moleculares, ninguna cumple con todos los requisitos propuestos por la Organización Mundial de la Salud: económica, rápida, de un solo paso y con una sensibilidad y especificidad de 100%. Esta falta de un estándar de referencia confiable dificulta la obtención de datos precisos sobre la eco-epidemiología de estas enfermedades en áreas endémicas. Aunque las pruebas diagnósticas actuales son útiles para determinar la prevalencia de estas enfermedades en humanos y animales, es necesario seguir investigando y desarrollando técnicas adicionales que puedan identificar infecciones simples, mixtas y coinfecciones con otros parásitos. Es destacable mencionar que las pruebas parasitológicas se habían posicionado como el “estándar de oro” en la mayoría de los centros de salud debido a que demuestran la presencia directa del parásito *T. cruzi* y *Leishmania* spp., y son las técnicas más accesibles en muchos de estos centros de salud (Leiby et al., 2000; Oliveira et al., 2018; Pereira et al., 2015).

Es recomendable incorporar distintos métodos en conjunto (inmunológicos y moleculares) para la identificación de estos parásitos y las posibles coinfecciones presentes en las poblaciones, para tener menores sesgos y poder describir prevalencias más robustas (Flores-Chávez et al., 2010; López-Céspedes et al., 2012; Vietri, 2017; Vietri et al., 2022). Lo anterior, debido a que no todas las pruebas de identificación son las mismas y su sensibilidad - especificidad depende del contexto epidemiológico de la población, en dónde se realicen las distintas técnicas y el origen de la muestra (sangre, tejido, etc.).

Otro de los puntos importantes que se logró identificar en esta revisión es el sesgo que se tiene en las publicaciones por el origen de la muestra/organismo estudiado. Por ejemplo, se encontró que 2/3 partes corresponden a humanos y fauna doméstica - feral, de tal manera que solo 47 artículos se refieren a fauna silvestre. Lo anterior es importante, ya que se ha reportado el papel fundamental que juega la fauna feral (perros y gatos) en los ciclos de transmisión, y de ahí el número de publicaciones al respecto.

En el caso particular de la leishmaniasis y la enfermedad de Chagas, se ha encontrado que las especies de mamíferos favorecidas por cambios ecológicos antrópicos son las mismas especies que desempeñan un papel importante en la transmisión de enfermedades. Ésto en virtud de

que actúan como hospederos eficientes y generalistas (Fernandes et al., 2016; Hernández-Cortazar et al., 2018; Jiménez-Coello et al., 2010; Longoni et al., 2011; Viquez-Rodríguez, 2015; Zamora-Ledesma et al., 2020).

Además, los artículos revisados hacen hincapié en que es necesario desarrollar estudios de la fauna peridoméstica y sinantrópica (por su cercanía e interacción con los asentamientos humanos), y enfocar los esfuerzos en el estudio y monitoreo de la prevalencia de estas enfermedades en la fauna silvestre (hospederos y vectores) (Barbosa-Pliego et al., 2011; Estrada-Franco et al., 2006; Longoni et al., 2012; López-Céspedes, 2013; Taranto et al., 2003). Las publicaciones con datos clínicos se enfocaron en determinar las prevalencias en poblaciones humanas y la estandarización de las pruebas para el diagnóstico de *Leishmania* spp. y *T. cruzi*. Ésto refleja la falta de un “estándar de oro” para pruebas diagnósticas en humanos y cómo la diversidad de estos parásitos genera una importante disyuntiva al momento de elegir cuáles técnicas de identificación se utilizarán.

Se puede concluir que existe consenso sobre la falta de un estándar ideal para el diagnóstico de la tripanosomiasis, leishmaniasis y las coinfecciones, por lo que es necesario enfocar los esfuerzos en el desarrollo de nuevos protocolos diagnósticos y en la evaluación rigurosa de cada técnica. Las pruebas comunes requieren mejoras y estandarización de protocolos para aumentar la sensibilidad y especificidad del diagnóstico, especialmente en la detección de infecciones simples y coinfecciones. Además, se requieren estudios futuros que consideren el uso de al menos 2 técnicas diagnósticas y la búsqueda de una tercera que cumpla con los requisitos propuestos por la Organización Mundial de la Salud. En la identificación y diagnóstico de la enfermedad de Chagas, la prueba de ELISA se destaca como la más favorable, ya que puede detectar la respuesta inmunológica en infecciones crónicas, con índices altos de sensibilidad y especificidad. En el caso de la identificación y diagnóstico de leishmaniasis, se recomienda el uso de pruebas moleculares como la PCR, debido a la diversidad de especies de *Leishmania* spp. y la necesidad de diagnósticos específicos y precisos. En caso de coinfecciones, se recomienda combinar técnicas inmunológicas y moleculares como la ELISA y PCR para evitar falsos positivos y negativos, y lograr un diagnóstico más robusto y preciso en zonas coendémicas y no endémicas. Las pruebas parasitológicas son una alternativa válida cuando otras técnicas no están disponibles, pero presentan limitaciones en términos de sensibilidad y requisitos de personal y tiempo.

Finalmente, se resalta la necesidad de estudiar el sistema hospedero parásito-vector bajo los escenarios actuales y de cambio climático, el cambio de uso de suelo y el impacto

de las actividades humanas. Asimismo, se recomienda estudiar el efecto de esos 3 escenarios actuales en los patrones de prevalencia e incidencia de las parasitosis en la fauna silvestre y en las poblaciones humanas. Ésto en el contexto de la pérdida de biodiversidad, que favorece el incremento en la interacción y contacto entre humanos, hospederos, vectores y patógenos.

Agradecimientos

Al Posgrado de Ciencias Biológicas de la UNAM. Al programa de becas del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (Conacyt: 1085605) por la beca otorgada y al proyecto PAPIIT IG201221 (DGAPA-UNAM) —a cargo de I. Becker y V. Sánchez-Cordero—, por el apoyo económico para la realización de este proyecto. También a los árbitros anónimos y al editor asociado por la revisión y comentarios al manuscrito.

Referencias

- Abras, A., Gállego, M., Llovet, T., Tebar, S., Herrero, M., Berenguer, P. et al. (2016). Serological diagnosis of chronic Chagas disease: is it time for a change? *Journal of Clinical Microbiology*, *54*, 1566–1572. <https://doi.org/10.1128/JCM.00142-16>
- Álvarez, Y. y Ferrer, E. (2014). Aproximación a la problemática de la coendemicidad enfermedad de Chagas-leishmaniasis desde un enfoque de Ecosalud. *Comunidad y Salud*, *12*, 55-61.
- Arjona, J., Zaragoza, M., Zaragoza, C., García-Herrera, R., Sánchez, M., Santamaria, M. et al. (2017). Antibodies of *Trypanosoma cruzi*, *Leishmania mexicana* and *Leishmania braziliensis* in domiciled dogs in Tabasco, Mexico. *Revista MVZ Córdoba*, *22*, 5829–5836.
- Ávila, H., Pereira, J., Thiemann, O., De Paiva, E., Degrave, W., Morel, C. et al. (1993). Detection of *Trypanosoma cruzi* in blood specimens of chronic chagasic patients by polymerase chain reaction amplification of kinetoplast minicircle DNA: comparison with serology and xenodiagnosis. *Journal of Clinical Microbiology*, *31*, 2421–2426. <https://doi.org/10.1128/jcm.31.9.2421-2426.1993>
- Barbosa-Pliego, A., Gil, P., Hernández, D., Aparicio-Burgos, J., de Oca-Jiménez, R., Martínez-Castañeda, J. et al. (2011). Prevalence of *Trypanosoma cruzi* in dogs (*Canis familiaris*) and triatomines during 2008 in a sanitary region of the State of Mexico, Mexico. *Vector-Borne and Zoonotic Diseases*, *11*, 151–156. <https://doi.org/10.1089/vbz.2009.0163>
- Córdova, N., Zurita, J., Guzmán, M., Verduguez, A. y Rojas, E. (2020). Patrones diferenciales entre leishmaniasis y Chagas, empleando epimastigotes de *Trypanosoma cruzi*. *Gaceta Médica Boliviana*, *43*, 120–126.
- Daltro, R., Leony, L., Freitas, N., Silva, Â., Santos, E., Del-Rei, R. et al. (2019). Cross-reactivity using chimeric

- Trypanosoma cruzi* antigens: diagnostic performance in settings where Chagas disease and American cutaneous or visceral leishmaniasis are coendemic. *Journal of Clinical Microbiology*, 57, e00762-19. <https://doi.org/10.1128/JCM.00762-19>
- Da Silveira, J., Umezawa, E. y Luquetti, A. (2001). Chagas disease: Recombinant *Trypanosoma cruzi* antigens for serological diagnosis. *Trends in Parasitology*, 17, 286–291. [https://doi.org/10.1016/s1471-4922\(01\)01897-9](https://doi.org/10.1016/s1471-4922(01)01897-9)
- De Lima, H., Carrero, J., Rodríguez, A., de Guglielmo, Z. y Rodríguez, N. (2006). Trypanosomatidae de importancia en salud pública en animales silvestres y sinantrópicos en un área rural del municipio Tovar del estado Mérida, Venezuela. *Biomédica*, 26, 42–50. <https://doi.org/10.7705/biomedica.v26i1.1393>
- Estrada-Franco, J., Bhatia, V., Díaz-Albiter, H., Ochoa-García, L., Barbabosa, A., Vázquez-Chagoyan, J. et al. (2006). Human *Trypanosoma cruzi* infection and seropositivity in dogs, Mexico. *Emerging Infectious Diseases*, 12, 624–630. <https://doi.org/10.3201/eid1204.050450>
- Ferguson, M. (1997). The surface glycoconjugates of trypanosomatid parasites. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London*, B352, 1295–1302. <https://doi.org/10.1098/rstb.1997.0113>
- Fernandes, A., Pimenta, C., Vidal, I., Oliveira, G., Sartori, R., Araújo, R. et al. (2016). Risk factors associated with seropositivity for *Leishmania* spp. and *Trypanosoma cruzi* in dogs in the state of Paraíba, Brazil. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, 25, 90–98. <https://doi.org/10.1590/S1984-29612016010>
- Flores-Chávez, M., Cruz, I., Rodríguez, M., Nieto, J., Franco, E., Gárate, T. et al. (2010). Comparación de técnicas serológicas convencionales y no convencionales para el diagnóstico de la enfermedad de Chagas importada en España. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 28, 284–293. <https://doi.org/10.1016/j.eimc.2009.07.005>
- Freitas, N., Santos, E., Leony, L., Silva, Â., Daltro, R., Vasconcelos, L. et al. (2022). Double-antigen sandwich ELISA based on chimeric antigens for detection of antibodies to *Trypanosoma cruzi* in human sera. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 16, e0010290. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0010290>
- Hernández-Cortázar, I., Guardia, K., Torres-Castro, M., Acosta-Viana, K., Guzmán-Marín, E., Chan-Pérez, J. et al. (2018). Frequency of *Trypanosoma cruzi* infection in synanthropic and wild rodents captured in a rural community in southeast of Mexico. *Veterinary Medicine International*, 2018, 8059613. <https://doi.org/10.1155/2018/8059613>
- Hoyos, C., Cajal, S., Juárez, M., Marco, J., Alberti D'Amato, A., Cayo, M. et al. (2016). Epidemiology of American tegumentary Leishmaniasis and *Trypanosoma cruzi* infection in the Northwestern Argentina. *BioMed Research International*, 2016, 6456031. <https://doi.org/10.1155/2016/6456031>
- Hughes, A. y Piontkivska, H. (2003). Molecular phylogenetics of Trypanosomatidae: contrasting results from 18S rRNA and protein phylogenies. *Kinetoplastid Biology and Disease*, 2, 15. <https://doi.org/10.1186/1475-9292-2-15>
- INDRE (Instituto de Diagnóstico y Referencia Epidemiológica). (2019a). Lineamiento para la vigilancia por laboratorio de la enfermedad de Chagas (tripanosomiasis americana). Secretaría de Prevención y Promoción de la Salud, Dirección General de Epidemiología. Recuperado el 14 de abril, 2023 de https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/483705/Lineamientos_Chagas_4T.pdf
- INDRE (Instituto de Diagnóstico y Referencia Epidemiológica). (2019b). Lineamiento para la vigilancia por laboratorio de la leishmaniasis. Secretaría de Prevención y Promoción de la Salud, Dirección General de Epidemiología. Recuperado el 14 de abril, 2023 de https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/487575/LVL_Leishmania_2019_4T.pdf
- Jiménez-Coello, M., Guzmán-Marín, E., Ortega-Pacheco, A. y Acosta-Viana, K. (2010). Serological survey of American trypanosomiasis in dogs and their owners from an urban area of Mérida Yucatán, México. *Transboundary and Emerging Diseases*, 57, 33–36. <https://doi.org/10.1111/j.1865-1682.2010.01130.x>
- Kaufer, A., Ellis, J., Stark, D. y Barratt, J. (2017). The evolution of trypanosomatid taxonomy. *Parasite & Vectors*, 10, 287. <https://doi.org/10.1186/s13071-017-2204-7>
- Kirchhoff, L., Votava, J., Ochs, D. y Moser, D. (1996). Comparison of PCR and microscopic methods for detecting *Trypanosoma cruzi*. *Journal of Clinical Microbiology*, 34, 1171–1175. <https://doi.org/10.1128/jcm.34.5.1171-1175.1996>
- Leiby, D., Wendel, S., Takaoka, D., Fachini, R., Oliveira, L. y Tibbals, M. (2000). Serologic testing for *Trypanosoma cruzi*: Comparison of radioimmunoprecipitation assay with commercially available indirect immunofluorescence assay, indirect hemagglutination assay, and enzyme-linked immunosorbent assay kits. *Journal of Clinical Microbiology*, 38, 639–642. <https://doi.org/10.1128/jcm.38.2.639-642.2000>
- Longoni, S., López-Céspedes, A., Sánchez-Moreno, M., Bolio-González, M., Sauri-Arceo, C., Rodríguez-Vivas, R. et al. (2012). Detection of different *Leishmania* spp. and *Trypanosoma cruzi* antibodies in cats from the Yucatan Peninsula (Mexico) using an iron superoxide dismutase excreted as antigen. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases*, 35, 469–476. <https://doi.org/10.1016/j.cimid.2012.04.003>
- Longoni, S., Marín, C., Sauri-Arceo, C., López-Céspedes, A., Rodríguez-Vivas, R., Villegas, N. et al. (2011). An iron-super-oxide dismutase antigen-based serological screening of dogs indicates their potential role in the transmission of cutaneous leishmaniasis and trypanosomiasis in Yucatan, Mexico. *Vector-Borne and Zoonotic Diseases*, 11, 815–821. <https://doi.org/10.1089/vbz.2010.0125>
- López-Céspedes, Á. (2013). *Fe-SODE: diagnóstico y seroprevalencia de la leishmaniasis y la enfermedad de Chagas en México (Tesis doctoral)*. Facultad de Ciencias, Universidad de Granada, Departamento de Parasitología, Granada, España.

- López-Céspedes, Á., Villagrán, E., Briceño-Álvarez, K., de Diego, J., Hernández-Montiel, H., Saldaña, C. et al. (2012). *Trypanosoma cruzi*: seroprevalence detection in suburban population of Santiago de Querétaro (México). *The Scientific World Journal*, 2012, 914129. <http://doi.org/10.1100/2012/914129>
- Marcelino, A., de Souza-Filho, J., Bastos, C., Ribeiro, S., Medeiros, F., Reis, I. et al. (2020). Comparative PCR-based diagnosis for the detection of *Leishmania infantum* in naturally infected dogs. *Acta Tropica*, 207, 105495. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2020.105495>
- Mettler, M., Grimm, F., Capelli, G., Camp, H. y Deplazes, P. (2005). Evaluation of enzyme-linked immunosorbent assays, an immunofluorescent-antibody test, and two rapid tests (immunochromatographic-dipstick and gel tests) for serological diagnosis of symptomatic and asymptomatic *Leishmania* infections in dogs. *Journal of Clinical Microbiology*, 43, 5515–5519. <https://doi.org/10.1128/jcm.43.11.5515-5519.2005>
- Minaya, G., Vargas, S., Monteza, Y., Purisaca, E. y Delgado, F. (2005). Especificidad de la prueba intradérmica de Montenegro en pacientes infectados por *Trypanosoma cruzi* procedentes de diferentes regiones del Perú. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública*, 31, 278–281.
- Molyneux, D. (1977). Vector relationships in the Trypanosomatidae. *Advances in Parasitology*, 15, 1–82. [http://doi.org/10.1016/s0065-308x\(08\)60526-6](http://doi.org/10.1016/s0065-308x(08)60526-6)
- Monterrubio, C., Rioja, T., Carrillo, A., Bolaños, J., Sántiz, E. y Navarrete, D. (2018). Enfermedades zoonóticas virales emergentes. Importancia ecológica y su evaluación en el sureste de México. *Sociedad y Ambiente*, 5, 131–146.
- Moser, D., Kirchhoff, L., y Donelson, J. (1989). Detection of *Trypanosoma cruzi* by DNA amplification using the polymerase chain reaction. *Journal of Clinical Microbiology*, 27, 1477–1482. <http://doi.org/10.1128/jcm.27.7.1477-1482.1989>
- Oliveira, P., Santos, F., de Macedo, G., Barreto, W., Campos, J., Meyers, A. et al. (2018). Maintenance of *Trypanosoma cruzi*, *T. evansi* and *Leishmania* spp. by domestic dogs and wild mammals in a rural settlement in Brazil-Bolivian border. *International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife*, 7, 398–404. <http://doi.org/10.1016/j.ijppaw.2018.10.004>
- OPS (Organización Panamericana de la Salud). (2018). Enfermedades desatendidas, tropicales y transmitidas por vectores. Recuperado el 7 de enero de 2022 de URL: <https://www.paho.org/es/temas/enfermedades-desatendidas-tropicales-transmitidas-por-vectores>
- Passos, V., Volpini, A., Braga, E., Lacerda, P., Ouaisi, A., Lima-Martins, M. et al. (1997). Differential serodiagnosis of human infections caused by *Trypanosoma cruzi* and *Leishmania* spp. using ELISA with a recombinant antigen (rTe24). *Memórias Do Instituto Oswaldo Cruz*, 92, 791–793. <http://doi.org/10.1590/S0074-02761997000600011>
- Pereira, A., Costa, F., Soares, H., Ramírez, D., De Carvalho-Mesquita, E., Gennari, S. et al. (2015). *Trypanosoma cruzi* and *Leishmania infantum chagasi* infection in wild mammals from Maranhão State, Brazil. *Vector-Borne and Zoonotic Diseases*, 15, 656–666. <http://doi.org/10.1089/vbz.2015.1771>
- Pérez-España, V., Morales-Evangelista, C., Vázquez-Chagoyán, J., Valladares-Carranza, B., Romero-Cortes, T., Cuervo-Parra, J. et al. (2019). Caracterización molecular de aislados de *Trypanosoma cruzi* de triatomíneos recolectados en los municipios del Estado de Hidalgo, México. *Nova Scientia*, 11, 171–185. <https://doi.org/10.21640/ns.v11i22.1759>
- Piarroux, R., Gambarelli, F., Dumon, H., Fontes, M., Dunan, S., Mary, C. et al. (1994). Comparison of PCR with direct examination of bone marrow aspiration, myeloculture, and serology for diagnosis of visceral leishmaniasis in immunocompromised patients. *Journal of Clinical Microbiology*, 32, 746–749. <http://doi.org/10.1128/jcm.32.3.746-749.1994>
- Riera, C., Verges, M., Iniesta, L., Fisa, R., Gállego, M., Tebar, S. et al. (2012). Identification of a Western blot pattern for the specific diagnosis of *Trypanosoma cruzi* infection in human sera. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 86, 412–416. <http://doi.org/10.4269/ajtmh.2012.11-0111>
- Roque, A. y Jansen, A. (2014). Wild and synanthropic reservoirs of *Leishmania* species in the Americas. *International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife*, 3, 251–262. <http://doi.org/10.1016/j.ijppaw.2014.08.004>
- RStudio Team (2020). RStudio: integrated development for R. RStudio, PBC, Boston, MA. Disponible en: <http://www.rstudio.com/>
- Santos, F., Celedon, P., Zanchin, N., Leitolis, A., Crestani, S., Foti, L. et al. (2017). Performance assessment of a *Trypanosoma cruzi* chimeric antigen in multiplex liquid microarray assays. *Journal of Clinical Microbiology*, 55, 2934–2945. <http://doi.org/10.1128/JCM.00851-17>
- Saridomichelakis, M., Mylonakis, M., Leontides, L., Koutinas, A., Billinis, C. y Kontos, V. (2005). Evaluation of lymph node and bone marrow cytology in the diagnosis of canine leishmaniasis (*Leishmania infantum*) in symptomatic and asymptomatic dogs. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 73, 82–86. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.2005.73.82>
- Taranto, N., Cajal, S., De Marzi, M., Fernandez, M., Frank, F., Bru, A. et al. (2003). Clinical status and parasitic infection in a Wichi Aboriginal community in Salta, Argentina. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 97, 554–558. [http://doi.org/10.1016/s0035-9203\(03\)80026-3](http://doi.org/10.1016/s0035-9203(03)80026-3)
- Van Wynsberghe, N., Canto-Lara, S., Sosa-Bibiano, E., Rivero-Cárdenas, N. y Andrade-Narváez, F. (2009). Comparison of small mammal prevalence of *Leishmania (Leishmania) mexicana* in five foci of cutaneous leishmaniasis in the State of Campeche, Mexico. *Revista Do Instituto de Medicina Tropical de Sao Paulo*, 51, 87–94. <https://doi.org/10.1590/s0036-46652009000200006>
- Vietri, M. (2017). *Caracterización molecular de la coinfección tripanosomiasis americana/leishmaniasis en posibles reser-*

- varios coinfectados de zonas coendémicas venezolanas (Tesis de maestría). Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad de Carabobo, Venezuela.
- Viettri, M., Lares, M., Medina, M., Herrera, L. y Ferrer, E. (2022). Evaluation of commercial kits for the immunological and molecular diagnosis of Chagas disease in endemic areas of Venezuela. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 40, 82–85. <https://doi.org/10.1016/j.eimce.2021.11.002>
- Viquez-Rodríguez, L. (2015). *Prevalencia de Leishmania mexicana y Trypanosoma cruzi en los murciélagos Carollia sowelli y Sturnira lillium bajo dos condiciones distintas de perturbación antropogénica en la selva Lacandona, Chiapas (Tesis de maestría)*. Universidad Nacional Autónoma de México, Instituto de Ecología, Ciudad de México.
- World Health Organization (WHO). (2010). First WHO report on neglected tropical diseases: working to overcome the global impact of neglected tropical diseases. WHO/HTM/NTD/2010. Recuperado el 10 de noviembre, 2022: https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/44440/9789241564090_eng.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- World Health Organization (WHO). (2020). *La enfermedad de Chagas (trypanosomiasis americana)*. Recuperado el 16 de enero de 2021. Recuperado el 10 de noviembre, 2022: [https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/chagas-disease-\(american-trypanosomiasis\)](https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/chagas-disease-(american-trypanosomiasis))
- World Health Organization (2023). *Leishmaniasis*. Recuperado el 28 de diciembre, 2023: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/leishmaniasis>
- Zamora-Ledesma, S., Hernández-Camacho, N., Sánchez-Moreno, M., Ruiz-Piña, H., Villagrán-Herrera, M., Marín-Sánchez, C. et al. (2020). Seropositivity for *Trypanosoma cruzi* and *Leishmania mexicana* in dogs from a metropolitan region of Central Mexico. *Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports*, 22, 100459. <https://doi.org/10.1016/j.vprsr.2020.100459>