

Detección de *Leishmania (viannia) braziliensis* en piel de oreja de *Rattus rattus* que habitan área urbana de la ciudad de Corrientes.

Detection of *Leishmania (viannia) braziliensis* in the ear skin of *Rattus rattus* that inhabit the city of Corrientes.

Elsa Alegre 

Raquel Ruiz 

Gabriela Ramírez 

Hernán Gómez 

Facundo Kern 

Ayelen Leguizamón-Kotinovich 

1- Universidad Nacional del Nordeste, Facultad de Ciencias Veterinarias, Cátedra de Salud Pública. Corrientes, Argentina.

Resumen

La leishmaniasis cutánea es una enfermedad zoonótica que se transmite al hombre y a los animales a través de la picadura de insectos dípteros de los géneros *Phlebotomus* y *Lutzomyia* infectados con diferentes especies de protozoos del género *Leishmania*. En América Latina el principal agente etiológico responsable de esta parasitosis es la especie *L. braziliensis*. Si bien se han identificado numerosas especies de mamíferos infectados naturalmente con especies de *Leishmania*, los roedores cumplirían un rol importante en el ciclo de transmisión de la enfermedad. El presente trabajo tuvo como objetivo la identificación de especie de leishmania que circula en roedores sinantrópicos que habitan el área urbana de la ciudad de Corrientes. Se trabajó con muestras de piel de oreja de roedores a los que se les aplicó las técnicas de Nested PCR para la identificación de *Leishmania spp* y PCR Simple para la detección de *L. braziliensis*. Se analizó un total de 30 muestras de roedores de la especie *Rattus rattus* de los cuales 2 muestras resultaron detectables a Nested PCR. Seguidamente, a las muestras detectables a *Leishmania spp*. se les aplicó PCR Simple a *L. braziliensis* resultando ambas detectables a esta especie. Si bien los valores obtenidos en este trabajo no son altos para poder considerarlos como reservorios, si se evidencia una



infección natural que no afecta clínicamente a los roedores estudiados con circulación del parásito en piel, particularmente de la especie *L. braziliensis*.

Palabras claves: *Leishmania braziliensis*- roedores sinantrópicos- biología molecular

Abstract

Cutaneous leishmaniasis is a zoonotic disease that is transmitted to man and animals through the bite of dipteran insects of the genera *Phlebotomus* and *Lutzomyia* infected with different species of protozoa of the genus *Leishmania*. In Latin America the main etiological agent responsible for this parasitosis is the species *L. braziliensis*. Although numerous species of mammals have been identified naturally infected with *Leishmania* species, rodents would play an important role in the transmission cycle of the disease. The present work aimed to identify the species of leishmania that circulates in synanthropic rodents that inhabit the urban area of the city of Corrientes. We worked with rodent ear skin samples to which the Nested PCR techniques were applied for the identification of *Leishmania spp* and Simple PCR for the detection of *L. braziliensis*. A total of 30 rodent samples of the species *Rattus rattus* were analyzed, of which 2 samples were detectable by Nested PCR. Next, the samples detectable to *Leishmania spp*. Simple PCR was applied to *L. braziliensis*, both of which were detectable in this species. Although the values obtained in this work are not high to be considered as reservoirs, there is evidence of a natural infection that does not clinically affect the rodents studied with circulation of the parasite on the skin, particularly of the *L. braziliensis* species.

Key words: *Leishmania braziliensis*- synanthropic rodents- molecular biology

Recibido: 30-03-2021

Aceptado: 09-06-2021

Correspondencia:

Elsa Alegre

Uruguay 790, Corrientes- Argentina

E-mail: agustina_ea@hotmail.com

Introducción

La leishmaniasis cutánea (LC) es una enfermedad zoonótica, de naturaleza parasitaria que se transmite al hombre y a los animales a través de la picadura de insectos dípteros de los géneros *Phlebotomus* (en el Viejo Mundo) y *Lutzomyia* (en el Nuevo Mundo) infectados con diferentes especies de protozoos del género *Leishmania* (1).

En América Latina el agente etiológico predominante es la especie *L. (V) Braziliensis* (2-4) responsable de provocar en el hombre diversas presentaciones clínicas que van desde pequeñas lesiones cutáneas hasta formas más graves con destrucción de los tejidos circundantes, comprometiendo las membranas mucosas de nariz y boca (5).

Esta parasitosis es considerada una de las enfermedades infecciosas más importantes y desatendidas a nivel mundial, cuya complejidad en el ciclo de transmisión se debe a la

amplia variedad de especies de vectores, parásitos y huéspedes implicados en la presentación de la enfermedad (6, 7).

Si bien se han descrito numerosos mamíferos infectados naturalmente con especies de *Leishmania* (8-13), su identificación en roedores silvestres y marsupiales sugiere que estos vertebrados cumplirían el rol de reservorios naturales de la leishmaniasis dermatrópica (3, 14-18).

Por su parte, el *Rattus rattus* es una especie cosmopolita con una gran adaptación tanto en ambientes urbanos como periurbanos y rurales, lo que le proporciona a los flebotómicos una fuente importante de alimento mediante un contacto continuo entre el reservorio y sus vectores (19), atributos que permitirían el mantenimiento de esta enfermedad en diferentes escenarios.

La Provincia de Corrientes es una de las provincias del nordeste Argentino con presentación endémica de leishmaniasis cutánea donde los casos en humanos se presentan tanto en la ciudad capital como en numerosos departamentos del interior (20). Hasta el momento se ha reportado un solo trabajo en todo el territorio Argentino sobre detección de *Leishmania spp.* en roedores de la ciudad de Corrientes (21) por lo que el presente trabajo tiene como objetivo complementar esta información identificando la especie de leishmania que circula en roedores sinantrópicos que habitan el área urbana de la ciudad de Corrientes mediante técnica de biología molecular a partir de muestras de piel de oreja ya que se ha comprobado que las áreas desprovistas de pelo (oreja y base de la cola) facilitarían la alimentación de los flebotómicos (22,23) lo que permitiría en futuras investigaciones realizar estudios epidemiológicos en animales tanto silvestres como domésticos empleando métodos menos invasivos sin tener que recurrir al sacrificio del animal.

Materiales y métodos

Área de estudio

El estudio se llevó a cabo en los barrios Molina Punta, Anahí, Quinta Ferre y Pujol pertenecientes a la zona urbana de la ciudad de Corrientes. Estos barrios presentan áreas con intensa vegetación, humedad y presencia de colchones de hojarasca, condiciones favorables para la proliferación de *Lutzomya sp.* Así mismo, si bien cuentan con servicio de recolección de basuras, estos no llegan a cubrir el total de los barrios, observándose focos de basurales espontáneos que sirven de alimentación y proliferación de roedores.

Captura de animales y Recolección de muestras

Los puntos de muestreo fueron seleccionados por conveniencia en base a los casos reportados de leishmaniasis cutánea o leishmaniasis visceral en humanos y caninos (datos no publicados pero registrados en la dirección de zoonosis de la Municipalidad de la ciudad de Corrientes en las viviendas, o en cercanías a ellas), estando limitado el muestreo a aquellos hogares donde se logró el consentimiento por parte de los habitantes de la viviendas.

Para la captura de los animales se emplearon jaulas trampa tipo Sherman empleando como cebo semilla de zapallo o grasa bovina. Luego de la captura, los animales fueron trasladados a la cátedra de Salud Pública de la facultad de Ciencias Veterinarias - Universidad Nacional del Nordeste donde se procedió a la anestesia de los mismos con ketamina-Xilaxina (protocolo aprobado por el comité de ética de la facultad de Ciencias Veterinarias) para su identificación y procesamiento.

La identificación taxonómica se llevó a cabo mediante parámetros morfométricos de cabeza, cuerpo y cola según clave Osgood (1943) (24). Seguidamente se realizó la inspección general del animal en búsqueda de alopecias, descamaciones y/o lesiones cutáneas compatibles con leishmanias dermatópicas.

Por último, se efectuó la eutanasia de los ejemplares aplicando pentobarbital intraperitoneal y posterior muestreo mediante pequeñas incisiones de piel de oreja (aproximadamente 0,5cm²) las que fueron conservadas en tubos eppendorf estériles a -20°C hasta su procesamiento. Cabe aclarar que la eutanasia de estos animales se llevó a cabo debido al muestreo de diferentes órganos utilizados como parte del proyecto general del cual se desprende el presente trabajo.

Detección molecular

Extracción de ADN

La obtención de ADN de las muestras de piel se realizó mediante técnica de extracción por digestión con detergente CTAB (bromuro de cetil trimetil amonio) y purificación con cloroformo: alcohol isoamílico ²¹.

Detección de *Leishmania* spp. por Nested PCR

Se aplicó la técnica de Nested PCR descrita por Uliana *et. al.* (1994) ²⁵ modificada por nuestro equipo de trabajo ²¹ empleándose para la primera ronda de amplificación los iniciadores externos S4 (5'- GAT CCA GCT GCA GGT TCA CC -3') y S12 (5'- GGT TGA TTC CGT CAA CGG AC -3') que generan fragmentos de 520 pb. En la segunda ronda en cambio, se utilizaron los iniciadores internos S17 (5'- CCA AGC TGC CCA GTA GAA T -3') y S18 (5'- TCG GGC GGA TAA AAC CC -3') dando como producto fragmentos de 490 pb.²⁶ Para la amplificación de esta última ronda se utilizaron 1 µl del producto de amplificación de la primera PCR en 19 µl de reacción.

La elaboración de los master mix y programas de ciclado se llevaron a cabo según las recomendaciones propuestas por Uliana *et. al.* (1994) ²⁵ empleando como control positivo ADN de *Leishmania* spp. provenientes del Instituto Nacional de Parasitología "Dr. Mario Fatała Chaben", Argentina, y agua tridestilada estéril como control negativo.

Los productos de PCR fueron separados por electroforesis en geles de agarosa al 2% y buffer TBE1X, teñidos con bromuro de etidio y visualizados por transiluminación UV. Se utilizó un marcador de peso molecular (Ladder 100) para la comparación de tamaños de los fragmentos amplificados.

PCR Simple para Detección de *Leishmania braziliensis*

Las muestras positivas a *Leishmania* spp. por Nested PCR, fueron sometidas a una PCR simple a los efectos de determinar si corresponden a la especie *L. braziliensis*, empleándose en esta oportunidad los iniciadores b1 (5'- GTG GGC GTA TCT GCT GAT GAC -3') y b2 (5'- CAA AAA GCG AGG GAC TGC GGA -3') que amplifican bandas de 103 pb. Las condiciones de PCR empleadas para esta técnica consistieron en un volumen de 25 µl de reacción conteniendo las siguientes concentraciones finales de reactivo: 1X de *buffer* de PCR, 0,2 mM MgCl₂, 0,2 mM de cada dNTPs, 0,25 µM de cada iniciador, 2 U de Taq ADN polimerasa y 2 µl de ADN de muestra. El programa de ciclado consistió en una desnaturalización inicial a 94 °C durante 5 minutos seguida de 35 ciclos consistentes en desnaturalización a 95 °C por 30 segundos, hibridación a 70 °C por 90 segundos y extensión a 72 °C por 90 segundos, finalizando con una extensión final de 72 °C - 10 minutos e incubación a 4 °C ²⁷. Como control positivo se utilizó ADN de *L. (V) braziliensis* provista por el Centro Nacional de Parasitología

y Enfermedades Tropicales de la Ciudad de Corrientes - CENPETROP (cedida gentilmente por el Dr. C. Borda), y agua tridestilada estéril como control negativo.

Por último, los productos resultantes de esta PCR fueron separados por electroforesis en geles de agarosa al 2% y buffer TBE1X, teñidos con bromuro de etidio y visualizados por transiluminación UV, empleando como marcador de peso molecular Cienmarker (Biodynamics).

Resultados

Se analizaron un total de 30 muestras de piel de oreja de roedores de la especie *Rattus rattus*.

Nested PCR para Detección de *Leishmania spp.*

De las 30 muestras analizadas, 5 revelaron bandas de 520 pb correspondientes a la primera ronda de amplificación. En la segunda ronda de amplificación, 2 muestras presentaron bandas de 490 pb.

PCR Simple *Leishmania braziliensis*

Se realizó una PCR simple a las 2 muestras positivas a Nested PCR revelando en ambos casos bandas de 103 pb.

Discusión

En el presente, identificar huéspedes vertebrados como reservorio de leishmanias sigue siendo un desafío de difícil esclarecimiento no solo por las múltiples especies de flebótomos y mamíferos que intervienen en la epidemiología de esta enfermedad sino también por la dificultad de captura de los animales a campo y las herramientas empleadas para la detección e identificación de especies de leishmanias.

En roedores sinantrópicos, la infección natural por especies de leishmanias cutáneas ya han sido descritas en numerosos países de América Latina 3, 19, 28-31 sin embargo pocos son los estudios realizados en *Rattus rattus* en el que se identifica a la especie *Leishmania braziliensis* como agente etiológico presente en áreas urbanas, endémicas a leishmaniasis cutánea.

Los resultados obtenidos en este trabajo representan el primer reporte de *L. braziliensis* en tejido extraído de las orejas de roedores de la especie *Rattus rattus* que habitan la zona urbana de la ciudad de Corrientes donde, en los últimos años, se vienen reportando casos de leishmaniasis visceral canina y leishmaniasis tegumentaria en humanos, con escasa información sobre la identificación de especie que afecta a estos últimos.

En nuestra investigación, a la observación clínica, ninguno de los ejemplares capturados mostro señales de alopecia, despigmentación y/o presencia de lesiones compatibles con leishmania cutánea, dejando en evidencia que las especies de leishmania pueden ser detectadas en muestras de piel aparentemente normal lo que indicaría que el patógeno puede estar presente incluso en ausencia de lesiones, atributo que según OMS (2010) (32) le confiere a estos mamíferos el papel de excelentes reservorios de esta parasitosis. Andrade *et. al.* (2015) (23) por su parte, sostienen que la falta de signos clínicos en roedores infectados de forma natural podría deberse a la rápida recuperación en estos mamíferos, estando ausentes en el momento de realizar la observación clínica de los ejemplares lo que explicaría porque algunos trabajos señalan haber observado durante investigaciones

animales con lesiones cutáneas presentes (6, 16, 23, 28, 29) mientras que en otros trabajos no se observaron lesiones, aun cuando se detectó la presencia de especies de leishmanias dermatópicas (31, 32).

Por último, si consideramos únicamente los trabajos donde identifican a la especie *L. braziliensis* en estos mamíferos, las tasas de infección son muy variadas en comparación a los obtenidos en nuestra investigación en donde se detectó un 16,7% (5/30) de *Rattus rattus* infectados a *Leishmania spp.*, de los cuales 6,7% (2/30) fueron identificados como *L. braziliensis*. Entre los estudios reportados se pueden mencionar los trabajos realizados en Brasil por Brandão-Filho *et al.* (2003) 19 en el estado de Pernambuco y Quaresma *et al.* (2011) 34 en Belo Horizonte, ambas áreas rurales endémicas a leishmaniasis cutánea, a partir de diferentes muestras (sangre, bazo, piel, cola y medula ósea) de roedores tanto silvestres como sinantrópicos quienes si bien informaron 18,7% (38/203) y 22,2% (16/72) de roedores positivos a *Leishmania spp.*, solo el 1,3% y 1,4% correspondían a *L. braziliensis*. Así mismo, se han informado tasas de infección más altas en las investigaciones realizadas por Pereira *et al.* (2017) (12) donde se detectó un 20% de ADN de *Leishmania spp.* en diferentes muestras (piel de oreja y cola, hígado, bazo y medula ósea), abarcando 16% la especie *L. braziliensis*. Sin embargo, los valores más altos fueron registrados por Ferreira *et al.* (2015) (6) quienes informaron tasas de infección del 47,4% en *Rattus rattus* y 83,3% en *Mus musculus* de los cuales 54% de las muestras positivas pertenecieron al complejo *L. braziliensis*. Tal como lo mencionan Marcelino *et al.* (2011) (29) las diferencias en la tasa de infección de estos reportes en comparación con nuestros resultados podrían atribuirse a factores asociados al área de estudio (endémico, urbano, selvático), momento epidemiológico en que se capturaron los animales, especies de roedores analizadas, tipo y número de tejidos evaluados y técnica empleada entre otros.

Podemos concluir que, si bien la prevalencia hallada en el presente trabajo no es alta, por lo cual no podemos considerar animales reservorios, si se evidencia una infección natural que no afecta clínicamente a los roedores estudiados con circulación del parásito en piel, particularmente de la especie *Leishmania braziliensis*. Por otro lado, las especies capturadas pertenecen a zona urbana de la ciudad de Corrientes, lo que se considera una característica epidemiológica de importancia en Salud Pública dado el estrecho contacto de esta especie animal con el hombre.

Referencias bibliograficas

1. Arend RG. 2009. Leishmaniasis cutánea. Revista Médica de Costa Rica y Centroamérica. 2009; 66 (588): 169-172.
2. Gramiccia M, Gradoni L. The current status of zoonotic leishmaniasis and approaches to disease control. Int. J. Parasitol. 2005; 35: 1169–1180.
3. De Lima H, De Guglielmo Z, Rodríguez A, Convit J, Rodríguez N. Cotton Rats (*Sigmodon hispidus*) and Black Rats (*Rattus rattus*) as Possible Reservoirs of *Leishmania spp.* in Lara State, Venezuela. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz. 2002; 97 (2): 169-174. Disponible en: <https://dx.doi.org/10.1590/S0074-02762002000200004>
4. de Paiva Cavalcanti M, Dantas-Torres F, da Cunha Gonçalves de Albuquerque S, Silva de Moraes RC, de Brito ME, Otranto D, Brandão-Filho SP. Quantitative real time PCR assays for the detection of *Leishmania (Viannia) braziliensis* in animals and humans. Mol Cell Probes. 2013 Jun-Aug; 27 (3-4): 122-8. doi: 10.1016/j.mcp.2013.01.003. Epub 2013 Feb 9. PMID: 23402826.
5. Melo LA. Detecção de *Leishmania sp.* em pequenos mamíferos silvestres e sinantrópicos no município de Belo Horizonte, 2008. MG. Dissertação (Mestrado em Ciências da

- Saúde) – Centro de Pesquisas René Rachou, Fundação Oswaldo Cruz, Belo Horizonte, 2008.
6. Ferreira EC, Cruz I, Cañavate C, Melo LA, Pereira AS, Madeira FAM, Nogueira SAV, Cunha HM, Paglia AP, Gontijo CMF. Mixed infection of *Leishmania infantum* and *Leishmania braziliensis* in rodents from endemic urban area of the New World. *BMC Vet. Res.* 2015; 11: 71-78. <https://doi.org/10.1186/s12917-015-0392-y>
 7. OPS. Generalidades de leishmania 2020. Disponible en: <https://www.paho.org/es/temas/leishmaniasis> (Acceso: 17 de marzo 2021).
 8. Cárdenas R, Sandoval CM, Rodríguez-Morales AJ, Bendezu H, González A, Briceño A, Scorza JV. Epidemiología de la leishmaniasis tegumentaria estadounidense en perros domésticos en una zona endémica del oeste de Venezuela. *BOLETIN-SOCIETE DE PATHOLOGIE EXOTIQUE ET DE SES FILIALES.* 2006; 99 (5): 355.
 9. Vedovello Filho D, Jorge FA, Lonardon MV, Teodoro U, Silveira TG. Leishmaniasis cutánea estadounidense en caballos de áreas endémicas en la mesorregión centro-norte del estado de Paraná, Brasil . *Zoonosis Public Health.* 2008; 55: 149-155. 10.1111 / j.1863-2378.2008.01106.
 10. Soares IR, Silva SO, Moreira FM, Prado LG, Fantini P, Maranhão RDPA, Palhares MS. Primera evidencia de casos autóctonos de *Leishmania (Leishmania) infantum* en caballo (*Equus caballus*) en las Américas e infección mixta de *Leishmania infantum* y *Leishmania (Viannia) braziliensis*. *Parasitología veterinaria.* 2013; 197(3-4): 665-669.
 11. Ruiz RM, Ramírez NN, Alegre AE, Bastiani CE, De Biasio MB. Detección de *Leishmania (Viannia) braziliensis* en gato doméstico de Corrientes, Argentina, por técnicas de biología molecular. *Rev vet.* 2015; 26(2): 147-150.
 12. Pereira AAS, de Castro Ferreira E, da Rocha ACVM. Detección de *Leishmania* spp en mamíferos selváticos y aislamiento de *Leishmania (Viannia) braziliensis* de *Rattus rattus* en un área endémica de leishmaniasis en el estado de Minas Gerais, Brasil. *PloS.* 2017; 12 (11).
 13. Roque AL, Jansen AM Reservorios silvestres y sinantrópicos de especies de *Leishmania* en las Américas. *Revista internacional de parasitología. Parásitos y vida silvestre.* 2014; 3 (3): 251-262. <https://doi.org/10.1016/j.ijppaw.2014.08.004>
 14. Caldart ET, Freire RL, Ferreira FP, Ruffolo BB, Sbeghen MR, Mareze M, Navarro IT. *Leishmania* in synanthropic rodents (*Rattus rattus*): new evidence for the urbanization of *Leishmania (Leishmania) amazonensis*. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária.* 2017; 26 (1): 17-27.
 15. Quintal AP, Ribeiro ES, Rodrigues FP, Rocha FS, Floeter-Winter LM, Nunes CM. *Leishmania* spp. en *Didelphis albiventris* y *Micoureus paraguayanus* (*Didelphimorphia: didelphidae*) de Brasil *Veterinario. Parasitol.* 2011; 176: 112 – 119.
 16. Lima BS, Dantas-Torres F, De Carvalho MR, Marinho-Junior JF, De Almeida EL, Brito ME, Gomes F, Brandao-Filho SP. Pequeños mamíferos como huéspedes de *Leishmania* spp. en un área altamente endémica para la leishmaniasis zoonótica en el noreste de Brasil . *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 2013; 107: 592–597.
 17. Pennisi MG, Hartmann K, Lloret A, Addie D, Belak S, Boucraut-Baralon C et al. Leishmaniosis en gatos: directrices ABCD sobre prevención y manejo J. *Feline Med. Surg.* 2013; 15: 638 – 642.
 18. Schubach TMP, Figueiredo FB, Pereira SA, Madeira MF, Santos IB, Andrade MV, Cuzzi T, Marzochi MCA, Schubach A. American cutaneous leishmaniasis in two cats from Rio de Janeiro, Brazil: first report of natural infection with *Leishmania (Viannia) braziliensis*. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 2004; 98: 165–167.
 19. Brandão-Filho SP, Brito ME, Carvalho FG, Ishikawa EA, Cupolillo E, Floeter-Winter L, y col. 2003. Huéspedes silvestres y sinantrópicos de *Leishmania (Viannia) braziliensis* en

- la localidad de leishmaniasis cutánea endémica de Amaraji, estado de Pernambuco, Brasil Trans. R. Soc. Trop. Medicina. Hyg. 2003; 97: 291–296.
20. Borda CE, Rea MJF, Rosa JR. Diagnóstico y tratamiento de Leishmaniasis Tegumentaria Americana en el Nordeste Argentino. Comunicaciones Científicas de Ciencia y Técnica. Universidad Nacional del Nordeste 2002. Disponible en: www.unne.edu.ar/unnevieja/Web/cyt/2002
 21. Ruiz RM, Bastiani CE, De Biasio MB, Alegre EA, Ramírez N. Detección de Leishmania sp. en Rattus rattus de la ciudad de Corrientes, Argentina. Archivos de medicina veterinaria. 2015; 47(3): 401-407. <https://dx.doi.org/10.4067/S0301-732X2015000300020>
 22. Svobodová M, Votýpka J, Nicolas L, Volf P. Leishmania tropica en la rata negra (Rattus rattus): persistencia y transmisión del huésped asintomático al vector de mosca de arena Phlebotomus sergenti. Microbios e infección. 2003; 5 (5): 361-364.
 23. Andrade MS, Courtenay OF, Brito ME, Carvalho FG, Carvalho AWS, Soares F. Infectiousness of sylvatic and synanthropic small rodents implicates a multi-host reservoir of Leishmania (Viannia) braziliensis. PLoS Negl. Trop. Dis. 2015; 9 (10): 0004137. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pntd.0004137>.
 24. Osgood WH. The mammals of Chile. Field Museum of Natural History, Chicago. Zoological Series 30. 1943.
 25. Uliana SRB, K Nelson, SM Beberley, EP Camargo, LM Floeter-Winter. Discrimination amongs Leishmania by polymerase chain reaction and hibridization with small subunit ribosomal DNA derived oligonucleotides. J Euk Microbiol. 1994; 41: 324-330.
 26. Savani ES, Almeida MF, de Oliveira Camargo MC, D'Auria SR, Sodre Silva MM, de Oliveira ML, Sacramento D. Detection of Leishmania (Leishmania) amazonensis and Leishmania (Leishmania) Infantum chagasi in Brazilian bats. Vet Parasitol. 2010; 168:5-10.
 27. Da Costa Lima MS, Andreotti R, Cavalheiros ME, Teruya OE, Gutiérrez OA, Cepa MF. Identificação de espécies de Leishmania isoladas de casos humanos em Mato Grosso do Sul por meio da reação em cadeia da polimerase. Rev Soc Bras Med Trop. 2009; 42: 303-308.
 28. Oliveira FS, Pirmez C, Pires MQ, Brasil RP, Pacheco RS. Diagnóstico basado en PCR para la detección de Leishmania en piel y sangre de roedores de un área endémica de leishmaniasis cutánea y visceral en Brasil . Vet Parasitol. 2005; 129: 219–227
 29. Marcelino AP, Ferreira EC, Avedanha JS, Costa CF, Chiarelli D, Almeida G, Moreira EC, Leite RC, Reis JKP, Gontijo CMF. Molecular detection of Leishmania braziliensis in Rattus norvegicus in an area endemic for cutaneous leishmaniasis in Brazil. Vet. Parasitol. 2011; 183: 54–58.
 30. de Brito MEF, Andrade MS, Dantas-Torres F, Rodrigues EHG, Cavalcanti M de Paiva, Almeida AMaria Paiva de et al. Leishmaniasis cutánea en el noreste de Brasil: una valoración crítica de los estudios realizados en el estado de Pernambuco. Rev. Soc. Bras. Medicina. Trop. [Internet]. Agosto de 2012 [consultado el 19 de marzo de 2021]; 45 (4): 425-429. Disponible en: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0037-86822012000400002&lng=en. Publicación electrónica del 26 de julio de 2012. <https://doi.org/10.1590/S0037-86822012005000006>
 31. De Freitas TP, D'Andrea PS, de Paula DA, Nakazato L, Dutra V, Bonvicino CR et al. Infección natural de Leishmania (Viannia) braziliensis en Mus musculus capturado en Mato Grosso, Brasil Vector Borne Zoonotic Dis. 2012; 12: 81-83.
 32. Organización Mundial de la Salud. Control de las leishmaniasis: informe de una reunión del Comité de Expertos de la OMS sobre el Control de las Leishmaniasis, Ginebra, 22–

- 26 Marzo de 2010. Ginebra: OMS, 2012. Disponible en: http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/82766/1/WHO_TRS_949_spa.pdf.
33. Echchakery M, Chicharro C, Boussaa S. et al. Detección molecular de *Leishmania infantum* y *Leishmania tropica* en especies de roedores de áreas endémicas de leishmaniasis cutánea en Marruecos. *Vectores de parásitos*. 2017; 10, 454. <https://doi.org/10.1186/s13071-017-2398-8>
34. Quaresma PF, Rego FD, Botelho HA, Da Silva SR, Moura Junior AJ, Teixeira Neto RG et al. Anfitriones salvajes, sinantrópicos y domésticos de *Leishmania* en un área endémica de leishmaniasis cutánea en el estado de Minas Gerais, Brasil *Trans. R. Soc. Trop. Medicina. Hyg.* 2011; 105: 579 – 585.

Conflicto de intereses

Los autores de este manuscrito certificamos que el artículo presentado a la Revista de Medicina Tropical de Paraguay es un trabajo original, del que nos hacemos responsables de los datos en él presentados, los cuales no han sido publicados previamente. Así mismo dejamos constancia que no ha sido enviado simultáneamente a otras revistas para su publicación.

Por último, dejamos constancia de que ninguno de los autores presenta conflicto de intereses personales o comerciales en relación a los resultados presentados en este trabajo.

Financiación.

Las actividades realizadas en este trabajo fueron financiadas por el proyecto de investigación “Detección de infección natural de agentes causales de enfermedades zoonóticas de roedores y quirópteros que habitan la ciudad de Corrientes mediante técnicas de Biología Molecular” proyecto acreditado por SGCyT-UNNE (Código: PI17 B013).

Contribución de los autores

Elsa Alegre, Raquel Ruiz y Gabriela Ramírez: Realizaron diagnóstico parasitológico aplicando técnicas de biología molecular como también análisis e interpretación de los resultados obtenidos.

Hernán Gómez, Facundo Kern y Ayelen Leguizamón-Kotinovich participaron en la captura e identificación taxonómica de roedores, toma de muestras e identificación y almacenamiento de las mismas.