TÍTULO DEL PROYECTO

Seroprevalencia, factores de riesgo y reservorios de leptospirosis y peste en una población rural del distrito de Moche, La Libertad, Perú

SIGLAS

LEPTMOCH

TIPO DE PROYECTO

Basica

LÍNEA DE INVESTIGACIÓN

Enfermedades Infecciosas y Tropicales

DURACIÓN ESTIMADA

Fecha de inicio: 01/03/2016 Fecha de término: 27/12/2016

PARTICIPANTES

- ASMAT MARRUFO PERCY ESTEBAN (INVESTIGADOR) — 000070551
- FERNANDEZ GOMEZ VICTOR JAVIER (COORDINADOR(INV. PRINCIPAL)) — 000075038

INSTITUCIÓN O LUGAR A EJECUCARSE

- MUNICIPALIDAD PROVINCIAL DE MOCHE: LA CAMPIÑA DE MOCHE (ciencias)

I. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

¿Cuál es la seroprevalencia, factores de riesgo y reservorios de leptospirosis y peste en la población rural del distrito de Moche, La Libertad, Perú?

II. ANTECEDENTES DEL PROBLEMA

La leptospirosis y la peste son enfermedades zoonóticas reemergente causadas por bacterias patógenas y que afecta a humanos y animales, tanto domésticos como silvestres (1).

Según la OMS, las estimaciones de morbi-mortalidad a nivel mundial para estas dos entidades dan cuenta que al año se reportan más de 500,000 casos de leptospirosis graves, alcanzando una tasa de letalidad mayor del 30%, (2)(3); para la enfermedad de la peste, se registran cifras entre 1000 a 3000 casos al año, con tasas de letalidad cercana al 5% en las formas no complicadas a más del 30% para las complicadas, respectivamente (4)(5).

En el año 2009, el consejo Directivo de la Organización Panamericana de la Salud (OPS), aprobó la resolución de “ Eliminación de enfermedades desatendidas y otras infecciones relacionadas con la pobreza”, entre las que se incluye la leptospirosis y la peste”, siendo la meta

la eliminación o disminución drástica de estas patologías como problema de salud pública para el 2015 (6)(7)(8); sin embargo, aun se reportan focos activos de casos en humanos, en general en zonas consideradas endémicas, la mayoría de los cuales afectando poblaciones rurales que viven en situación de pobreza extrema entre las que se incluyen ámbitos de América Latina. Así, se tiene que leptospirosis en las Américas, en el periodo 2007 al 2013, ha tenido un incremento en las alertas epidemiológicas de hasta el 50% en comparación a los demás continentes (9)(10). Similar situación es la registrada para la peste, donde 5 países de las Américas han descrito incremento de casos, habiéndose considerado como endémicos, entre los que se mencionan a Bolivia, Brasil, Ecuador, Estados Unidos y Perú. Solo en los últimos 12 años cerca de 120 casos humanos de peste fueron reportados en esta región, 87% de los cuales ocurrieron en el territorio peruano. (11) (12).

En el Perú, la leptospirosis y la peste, a pesar de ser una enfermedad de notificación obligatoria, se tiene un subregistro de la información; aun así las cifras oficiales dan cuenta de que en el decenio del 2004 al 2013, se han notificado más de 6700 casos de leptospirosis y 75 casos de peste (13). En la región La Libertad, en los últimos años se han descrito focos activos a estas dos entidades; así, entre los años 2012 y 2013, un total de 44 personas han sido afectadas por la leptospirosis, y en el 2009 un brote de peste tuvo ocurrencia en la provincia de Ascope con 10 casos reportados; posteriormente, en julio del siguiente año se produjeron cuatro casos de peste neumónica, dos en la misma provincia de Ascope y dos casos adicionales entre el personal de salud que atendieron a uno de los afectados en un hospital de referencia regional en la ciudad de Trujillo (13)(14). En la actualidad, la situación es aun preocupante debido a hallazgos recientes de positividad a leptospira en personas procedentes de áreas rurales, tanto de zonas cercanas al distrito de Trujillo como de la sierra liberteña, así como reportes serológicos positivos de roedores sinantropicos (animales que viven en estrecha relación con el hombre), procedentes de diversos mercados ubicados en el área urbana del distrito de Trujillo(15).

Son limitados los trabajos nacionales que abordan la problemática de seroprevalencia y factores de riesgo para estas dos entidades leptospirosis y peste. De la revisión bibliografica para leptospirosis se debe mencionar los trabajos de Cruz, Fernández y Arévalo (16), que en el 2002, publicaron un estudio realizado en 457 pobladores procedentes de localidades dedicadas al cultivo de arroz en 4 provincias del departamento de San Martín con resultados positivos a la prueba de MAT en 25,2%. Los factores asociados a la infección por leptospirosis fueron: edad mayor de 30 años (OR=1,69, p=0,018), no ser natural de la zona (OR=1,59, p=0,032), ser agricultor (OR=1,71, p=0,013), habitar una vivienda con piso de tierra (OR=2,17, p=0,018), eliminación de excretas a campo abierto (OR=2,11, p=0,023) y no guardar lo comida tapada (OR=3,63, p=0,023).

En el 2004, Céspedes et al (17), en un estudio realizado en pobladores asintomáticos y en canes procedentes de 4 localidades de la provincia de Coronel Portillo, en el departamento de Ucayali, encontró que el 31,3 % de un total de 364 pobladores tuvieron serología positiva a leptospira, siendo Bratislava y Georgia, los serovares más frecuentes. Los probables factores

asociados a la positividad a anticuerpos fueron: guardar alimentos en el hogar (OR=2,221), ser agricultor (OR=3,418), ser obrero y agricultor (OR=2,088), eliminar basura en el campo (OR=2,348). Con respecto a los canes se tamizaron a 374 canes encontrándose una positividad de 52,2%

Vargas-Cuba et al (18) en la provincia de Ayna-Ayacucho, en el 2005 reporto una seroprevalencia de 30,6% de un total de 209 pacientes febriles tamizados. Los grupos ocupacionales mas afectados fueron las amas de casa, agricultores y profesionales de la salud con seroprevalencia de 39, 33 y 30%, respectivamente. Se detectaron 15 serovares, cinco de ellos nuevos para la zona de estudio (Autumnalis, Wolffi, Tarassovi, Patoc y Hardjo). Los factores de riesgo para la positividad a leptospira fueron el lavado de ropa en el rio, presencia de roedores en la vivienda y uso de sandalias para la actividad diaria.

Debido a que los reportes en el Perú sobre aislamientos y presencia de anticuerpos a leptospira en roedores sinantropicos que frecuentan las viviendas son mucho más escasos, es que se desconoce su real implicancia en el mantenimiento de la cadena epidemiológica de la leptospirosis en zonas urbanas. Uno de estos trabajos es el realizado en 1989 por Macedo et al (19), en el cual realizo la captura de 22 roedores vivos de la especie *Mus musculus* en viviendas y locales de diversas zonas de Lima y Callao. Se hallo serología positiva a leptospira en 31% de ellos.

De igual forma, las investigaciones nacionales publicadas sobre la peste son muy limitadas; así se tiene que en los últimos 15 años solo se han publicado ocho trabajos, entre los que mencionamos dos estudios que abordan la problemática de vectores y reservorios en la región de Piura(20)(21). Un tercer estudio se realizo sobre la purificación de la fracción antigénica F1 de *Yersinia pestis* (22).El impacto económico de la peste en el departamento de Cajamarca entre los años 1994 y 1999 fue motivo de estudio en una publicación (23) y finalmente, en el 2010, durante el brote de peste en la región la Libertad se efectuaron dos trabajos. El primero describe las características clínicas y epidemiológicas de un brote de peste neumónica primaria en un Hospital de referencia y el segundo sobre la necesidad de control multidisciplinario para enfrentar esta zoonosis en la Libertad (24)(25). Aun están pendientes los resultados de las investigaciones realizadas desde mayo del 2010 por el Instituto Nacional de Salud y las Gerencias Regionales de Salud (GERESA) de 4 regiones, que abordan la dinámica de transmisión de la peste en las cuales se incluye a la región La Libertad, siendo el área de intervención designada la Provincia de Ascope. El propósito de este estudio es determinar la prevalencia de la enfermedad en humanos, las vías de transmisión y factores de riesgo para infectarse y enfermar.

III. JUSTIFICACIÓN DEL PROYECTO (IMPORTANCIA, BENEFICIARIOS, RESULTADOS ESPERADOS)

Los países miembros de la OPS, entre los que se incluye el Perú, han reiterado su compromiso de fortalecer la lucha contra las enfermedades desatendidas y otras infecciones relacionadas con la pobreza mediante la implementación de acciones que permitan eliminarlas o reducirlas drásticamente; sin embargo enfermedades como la leptospira y la peste, que se hallan en este grupo de enfermedades olvidadas en el país, continúan generando brotes de casos en humanos, en general, en poblaciones rurales que viven en situación de pobreza extrema.

La leptospirosis y la peste son enfermedades zoonóticas que han concitado poco interés para los investigadores peruanos; asimismo, las instituciones científicas, académicas y el sector salud no han realizado grandes inversiones dirigidas a investigar estas dos enfermedades que tienen gran impacto en poblaciones muy vulnerables.

En el año 2014, en la región La Libertad el sistema de vigilancia epidemiológica de la Gerencia Regional de Salud, notificó un incremento en el reporte de casos de leptospirosis, algunas en sus formas graves con casos de fallecidos. En el mes de Abril del 2014, en el hospital Belén de Trujillo, una estudiante universitaria procedente del área rural de la campiña de Moche, ingreso al servicio de emergencia con cuadro de dolor abdominal, en las 48 horas siguientes desarrollo un proceso icterico-hemorrágico con choque séptico e insuficiencia respiratoria, siendo necesaria la asistencia en terapia intensiva para uso de ventilación mecánica, además de antibióticos y vasopresores, por un periodo de 10 días, siendo dada de alta sin complicación alguna. En el estudio epidemiológico se determinó presencia de roedores en mayor número en la vivienda. Los estudios serológicos realizados para leptospirosis en la paciente fueron positivos a la prueba MAT, aislándose la variedad Panamá. La investigación serológica a los demás familiares que conviven con la paciente dieron también positivos a leptospira en dos de sus ocho familiares (25,0%). En ningún caso documentaron sintomatología alguna (Datos no publicados).

El distrito de Moche, amplio territorio de la Provincia de Trujillo, presenta características articulares en su composición, tanto a nivel físico-espacial, como a partir de sus recursos ambientales y productivos, ligados a una valiosa trascendencia histórico-cultural. Se halla ubicado al sur de la capital de La Libertad, Trujillo, distante 10 kilómetros, cuenta con una superficie de 25,25 Km² y una población de 2470 habitantes. El área de intervención del proyecto incluirá la zona denominada Campiña Alta de Moche, que comprende el territorio a partir de la carretera Panamericana, que incorpora el Complejo Huacas del Sol y de La Luna y se extiende hasta los límites que corresponden al área agrícola tradicional de Moche. Cuenta con una superficie aproximadamente 12.00 Km².

Dentro de las características más importantes de este sector se tiene que constituye parte del área agrícola tradicional del valle de Moche; es lugar de ubicación del Complejo Huacas del Sol y de La Luna; existe un conjunto de pequeños asentamientos rurales dispersos que vienen desarrollando, además de labores agrícolas, a la actividad pecuaria; ha adquirido una dinámica de actividades recreativas (restaurantes campestres), los mismos que brindan acogida a un gran número de visitantes locales, incluidos turistas nacionales e internacionales, en mayor número

durante los fines de semana. Según datos del Censo de población y vivienda del 2007, el acceso a los servicios básicos en la Campiña Alta de Moche es como sigue: el 83,5% cuenta con servicio domiciliario de luz eléctrica; respecto al servicio de agua de red pública solo el 60% cuenta con este beneficio. Asimismo un poco más de 50% de la población actual cuenta con servicio de alcantarillado sanitario. La atención de este servicio se da principalmente en zonas urbanas, la cual no se excluye de presentar problemas por el deficiente servicio que se ofrece, principalmente en la disposición final de aguas servidas. El sistema de recolección de basura se realiza de forma esporádica, donde los residuos sólidos por lo general son arrojados a campo abierto y ocasionalmente la incineran.

Si bien no se ha registrado casos de peste en la campiña alta del distrito de Moche, si se ha reportado la presencia de casos humanos de leptospira en sus formas asintomáticas e icterico hemorrágico. Considerando que las condiciones geográficas, climáticas y socioeconómicas son casi similares a otras zonas rurales con focos activos de peste rural y ante la ausencia de estudios previos en este ámbito sobre estas dos patologías, es que asumimos que es de suma importancia realizar un estudio que aborde aspectos seroepidemiológicos, reservorios y factores de riesgo para enfermar por leptospira y peste en la zona rural del distrito de Moche.

Las conclusiones que deriven del presente estudio contribuirán decididamente en ampliar el conocimiento sobre los riesgos para enfermar por peste y leptospira sustentadas en información basada en evidencias lo cual permitirá la implementación de medidas de prevención y promoción en el ámbito local, las mismas que podrían ser replicables en otras áreas con perfiles socio-epidemiológicos similares.

IV. OBJETIVOS

Objetivo General

Determinar la seroprevalencia, factores de riesgo y de reservorios de leptospirosis y peste en una zona rural (campiña alta) del distrito de Moche.

Objetivos específicos

1. Establecer la seroprevalencia de la infección por leptospirosis y peste en pobladores de la zona rural del distrito de Moche
1. Identificar factores de riesgo asociados a seropositividad y cultivo para infectarse por leptospira y peste.

1. Identificar reservorios en roedores y mascotas (perros y gatos) involucrados en la transmisión de leptospira y peste.

1. Identificar vectores incriminados en la transmisión de la peste.

V. MARCO TEÓRICO

La leptospirosis es ocasionada por especies de leptospira, donde una amplia variedad de especies animales, tanto silvestres como domésticos, pueden servir como reservorios (26)(27). Entre los importantes se incluyen roedores silvestres y sinantropicos y animales domésticos (vacas, cerdos, perros y caballos) (28).

Los reservorios domésticos y silvestres albergan leptospira en los riñones y la eliminan al medio ambiente, contaminando el agua, suelo y alimentos. (26)(29). Seguidamente el ser humano se infecta al contactar con orina o tejidos infectados, o en forma indirecta, a través de agua o suelos contaminados. (30)(31). La bacteria penetra por inoculación a través de la piel erosionada, mucosas nasofaríngea, bucal, genital, o conjuntival (32). Excepcionalmente, se ha documentado infestación por leptospira mediante la ingestión de agua contaminada (33).

El periodo de incubación para esta enfermedad es de 7 a 14 días, y tiene un amplio espectro de manifestaciones clínicas; así, durante la fase aguda, la enfermedad puede ser asintomática o subclínica y sintomática anictérica o ictérica.(34)(35). En la forma anictérica aparece la fiebre, cefalea, dolor muscular, anorexia, náuseas y vómitos. Siendo esta la forma más frecuente. Puede presentarse la forma más severa describiendo la denominada enfermedad febril bifásica, septicémica en su primera fase e inmunológica en la segunda.(36). La fase leptospiremica se inicia con fiebre elevada, escalofríos, cefalea intensa, postración, mialgias que comprometen pantorrillas, caderas, regiones paravertebrales y abdomen. Además de anorexia, náuseas, vómitos, constipación o diarrea, artralgias, hiperemia o hemorragia conjuntival, fotofobia y dolor ocular. Esta fase dura de 4 a 7 días. En la fase inmunológica, que aparece en la 2da semana puede presentar mejoría o recrudecer la enfermedad con fiebre, síntomas generales e instalación de una meningitis, además de manifestaciones respiratorias, cardíacas y oculares. Esta sintomatología desaparece en 1 a 3 semanas. (37)(38)(39).

En la leptospirosis grave se presenta la ictericia, con disfunción renal, fenómenos hemorrágicos, alteraciones hemodinámicas, cardíacas, pulmonares y alteración de la conciencia, asociados a tasas de letalidad que varían de 5 a 20%. Los síntomas que preceden a la ictericia son más intensos y de mayor duración. Se destaca las mialgias en las pantorrillas. Suele presentarse insuficiencia renal aguda y deshidratación. La forma oligúrica es menos frecuente que la poliúrica; pero está asociada a un mal pronóstico. El compromiso pulmonar es frecuente y puede evolucionar aun Síndrome de Distress Respiratorio del Adulto, con una letalidad del

60%.(40)(41)(42)(43)

El diagnóstico se realiza por métodos directos mediante la visualización de la leptospira en sangre y orina por microscopia a campo oscuro, cultivos en sangre, líquido cefalorraquídeo y líquido peritoneal y reacción de cadena de polimerasa durante los 10 primeros días de la enfermedad (44). Entre los métodos indirectos se incluye los test de ELISA, inmunofluorescencia indirecta y el test de aglutinación microscópica (MAT) entre los más conocidos siendo el MAT el método considerado como el "gold standard"(45)(46)(47).

El tratamiento antibiótico temprano en la enfermedad puede acortar la duración de la fiebre y el periodo de estancia hospitalaria. Los antibióticos utilizados para tratar la leptospirosis incluyen penicilina/ampicilina, ceftriaxona, doxiciclina, azitromicina por 7 días. La eficacia del tratamiento puede depender del serovar. La terapia con fluidos de transfusión sanguínea y otras medidas de soporte pueden ser necesarios (48).

Yersinia pestis, agente causal de la peste, en su ciclo de vida es capaz de infectar por medio de la picadura de diferentes especies de pulga, principalmente *X. cheopis*, a diferentes roedores (orden Rodentia y Lagomorpha) (49). Algunas de estas especies, en su mayoría silvestres, son resistentes a la enfermedad y presentan una bacteriemia por un tiempo limitado que le permite infectar nuevas pulgas que transmiten la bacteria a otros roedores, estableciéndose así focos silvestres o naturales de la enfermedad(50). En ocasiones se interrumpe este ciclo con la introducción de huéspedes vulnerables; entre ellos, el hombre, roedores sinantrópicos y felinos (51)(52). Los canes, aunque se infectan, son resistentes a la enfermedad o desarrollan pocos síntomas(53). El hombre adquiere esta enfermedad zoonótica al ser picado por pulgas infectadas o, de forma menos frecuente, al manipular tejidos de animales infectados. La bacteria se inocula por laceraciones de la piel o por inhalación de microorganismos en aerosoles (53).

La enfermedad puede manifestarse de 3 formas clínicas principalmente, bubónica, septicémica primaria y neumónica primaria. La peste bubónica es la más común (80 a 95%) y se caracteriza, tras un periodo de incubación de dos a seis días después de la picadura de la pulga, de inicio abrupto de fiebre alta (hasta 41 °C), cefalea, escalofríos, malestar general, postración y hepatoesplenomegalia, asociados a linfadenitis muy dolorosa, no supurativa en la mayoría de los casos, que se manifiesta con ganglios linfáticos aumentados de tamaño (bubones) con signos de inflamatorios (eritema, calor y edema). Los ganglios afectados se localizan en zona próxima al sitio de la inoculación bacteriana, por diseminación linfática. Los más frecuentes son los inguinales, epitrocleares, axilares, cervicales o submaxilares. Si no trata con antibióticos, la mortalidad es casi el 50 % o puede evolucionar a la forma clínica llamada peste septicémica secundaria o, incluso peste neumónica secundaria. De 10 a 25 % de los casos pueden iniciarse como una peste septicémica primaria, que se caracteriza por choque, hipotensión y coagulación intravascular diseminada y falla orgánica múltiple.(54)(55)(56). Finalmente, la peste neumónica primaria es una presentación clínica con tasas de mortalidad del 100 % sin tratamiento antibiótico

precoz y oportuno; el periodo de incubación es de tres días. Se manifiesta como un cuadro clínico súbito, caracterizado por disnea, fiebre, malestar general, cefalea, dolor pleurítico y tos que, en la mayoría, se puede acompañar de hemoptisis. La muerte suele ocurrir dentro de las primeras 24 horas de aparición de la enfermedad (55)(57)(58).

Diversos métodos de laboratorio se han empleado para establecer el diagnóstico de peste entre los que se utilizan son el aislamiento de *Y. pestis* por cultivo, detección de la bacteria o antígeno por inmunofluorescencia directa, detección de ADN por reacción en cadena de la polimerasa (PCR), detección de anticuerpos anti *Y. pestis* mediante técnicas de hemoaglutinación/inhibición, ELISA IgG y ELISA IgM, detección de antígeno F1 de *Y. pestis* por pruebas de inmunocromatografía, entre los más utilizados.(59)

La terapia con antibióticos en forma precoz evita las mayores complicaciones y el uso de antibióticos clásicos siguen siendo útiles para el paciente y para la profilaxis. Así tenemos que la estreptomicina fue y es el antibiótico de elección; la dosis recomendada es de 30 mg/kg/día cada 12 horas, por 10 días. También se ha empleado la gentamicina y tetraciclina; la doxiciclina a dosis de 100 mg vía oral, dos veces por día por 10 días (59)(60).

VI. HIPÓTESIS

La población del área rural del distrito de Moche se halla en riesgo de enfermar por leptospirosis y peste, siendo los roedores y las mascotas fuentes de reservorios para estas dos entidades, además de la presencia de vectores incriminados en la transmisión de la peste.

VII. METODOLOGÍA

7.1 Tipo de estudio

Estudio en humanos: se realizara un estudio de cohorte en el área rural del distrito de Moche con reportes activos de leptospira y riesgo de peste; la cohorte será seguida hasta tres meses.

Estudio de reservorios: estudio longitudinal, prospectivo, a través de capturas mensuales de roedores en el intra, peridomicilio y extradomicilio; así como obtención de muestras serológicas en mascotas (perros y gatos).

Estudio de vectores: estudio longitudinal, prospectivo a través de la colecta mensual de pulgas, ácaros y garrapatas encontradas en humanos, roedores y mascotas

7.2 Población de estudio

Estudio de cohorte:

Población: pobladores que viven en el ámbito rural (campiña alta) de Moche con brotes activos a leptospira y riesgo de peste.

Marco muestral: localidades afectadas por brotes de leptospira.

Unidad de muestreo: pobladores de la zona afectada.

Unidad de información: el poblador enrolado en el estudio.

Unidad de análisis: el poblador de la localidad afectada.

7.3 Muestra

Se considerará como muestra a la población que vive en el ámbito del area rural (campiña alta) de Moche, localidad con reporte de casos de leptospira en el año 2014.

Para estimar la prevalencia de infección por leptospira se calculó un tamaño de muestra de 2500 individuos, teniendo en cuenta una prevalencia esperada del 20%, un nivel de confianza del 95% y un error de estimación del 5% habiéndose calculado un total de 223 personas.

El muestreo incluirá a todas las viviendas del ámbito de la campiña alta de Moche, para lo cual se convocara a los líderes comunitarios y autoridad distrital, para que en base a un croquis previamente estructurado por las autoridades, se seleccionen las viviendas a incluir en el estudio. Se seleccionara en forma sistemática desde la vivienda inicial y las subsiguientes en sentido aleatorio. Luego de seleccionada la vivienda se procederá a obtener muestra a todos los integrantes de cada familia. Se invitara a participar en el estudio y se explicara claramente los objetivos, procedimientos, posibles riesgos y beneficios. Se solicitara la autorización de cada persona mediante la firma del consentimiento informado.

7.4 Muestreo

Las localidades serán seleccionadas por conveniencia. Se invitara a participar en el estudio al 100% de la población y se espera una tasa de participación del 75% de la población total de las viviendas seleccionadas.

7.5 Criterios de selección

Criterios de inclusión:

Pobladores de cualquier edad y sexo que viven en el ámbito de la campiña alta de Moche.

Criterios de exclusión:

7.6. No firmar el consentimiento informado para participar en forma voluntaria en el estudio.

Variables

Son características de la unidad de análisis que pueden tomar varios valores.

Variable dependiente:

Infección por leptospira y *yersinia pestis*

Variables independientes:

En ambas entidades: edad, sexo, tiempo de residencia, ocupación, grado de instrucción, tipo de vivienda, nivel de pobreza. presencia de mascotas (perros, gatos) en la vivienda, disposición de residuos sólidos, tiempo de almacenamiento de la basura en casa, temperatura mínima, temperatura máxima, humedad relativa, precipitación pluvial.

Leptospira: fuente de agua, almacenamiento de cosechas, dormir en el suelo, bañarse en el río o riachuelo, caminar descalzo, caminar en sandalias, antecedentes de actividades deportivas, presencia de inundaciones o aniegos,

Peste: altura de las camas, presencia de roedores en la vivienda, presencia de cuyes en la vivienda.

7.7 Descripción de los procedimientos a realizar

7.7.1 Estudio en humanos

En el área de estudio estará un investigador principal que entrenará a un coordinador del proyecto. Este último será responsable de la ejecución de las actividades del proyecto, en coordinación con el investigador principal de la zona de estudio y del equipo local.

Previa coordinación con las autoridades se convocara a un equipo multidisciplinario, preferencialmente personal de salud (MINSA) del área de intervención (mínimo 4 personas, que conformaran dos grupos (médico, 2 biólogo, 1 estudiante). El equipo de estudio coordinara con

las autoridades del ámbito de intervención y de las localidades para convocar a una reunión con los dirigentes, autoridad distrital y la población seleccionada para el estudio, en la que se expondrá los objetivos del estudio, la forma como participará la comunidad, el tiempo que durará el estudio y los beneficios y riesgos para la comunidad y los pobladores. Se realizara un censo de la población y la vivienda seleccionada. Se asignará un código a cada vivienda y serán georreferenciadas para elaborar un mapa digital de la localidad.

7.7.1.1 Colecta de muestras

Colecta de muestra de la cohorte:

Previa firma del consentimiento informado y la aceptación voluntaria del sujeto, al momento de ser enrolado uno de los investigadores aplicará una ficha clínica – epidemiológica, que ha sido validada en estudios previos de presencia de casos de leptospira y peste. Se colectará información demográfica, clínica y de determinantes de salud. Previa asepsia de la zona de punción, colectaremos una muestra de sangre venosa de 5 cc en un tubo al vacío sin anticoagulante al 20% de la población.

7.7.1.2 Exámenes de investigación:

Pruebas serológicas: realizaremos ELISA Ig G e Ig M para diagnóstico de Leptospiras y test de ELISA IgM para *Yersinia pestis*. Estas pruebas serán realizadas en el Laboratorio Referencial y/o Laboratorio INS.

7.7.2 Estudio de reservorios

7.7.2.1 Captura de roedores sinantrópicos y silvestres

Previo entrenamiento de las personas responsables de esta actividad, se colocaran (20) trampas Sherman y Tomahawk en la vivienda seleccionadas durante dos noches consecutivas y en forma mensual, en el intradomicilio (5% de las trampas), peridomicilio (20%) y extradomicilio (75%) según la norma del MINSA. Las trampas serán colocadas entre las 5 y 6 de la tarde hasta las 6 am del día siguiente. En el peri y extradomicilio, las trampas serán colocadas a una distancia no menor de 10 m entre ellas.

Usaremos como cebo una mezcla de avena con vainilla o pescado seco salado; utilizaremos guantes descartables para preparar y colocar el cebo, y evitar el contacto con la mano. Las trampas positivas, con el roedor capturado, serán llenadas en una bolsa y llevadas al lugar de trabajo para la colecta de muestras y vectores. Asimismo, se georreferenciará el lugar de la captura.

7.7.2.2 Colecta de muestra de roedores y mascotas.

En una mesa de trabajo, ubicada al aire libre, se colocará una plancha de tecnopor cubierta con plástico de color blanco y dos mecheros de alcohol. El personal de salud tendrá un equipo de protección personal que incluye: gorro descartable, lentes de protección, mascarilla N 95, mandil y guantes descartables.

Los roedores capturados serán colocados en una bolsa transparente con un algodón embebido con halotano por tres minutos o hasta que quede totalmente anestesiado; luego se extraerá una muestra de sangre por punción intracardiaca. Parte de la muestra será colocada en un tubo al vacío con EDTA y se embeberá dos cintas o tiras de Nobuto. Además, previa asepsia del abdomen del animal, se realizará la incisión en la línea media abdominal y se obtendrá de manera estéril el hígado, bazo y riñón que serán colocados en medio de transporte Cary – Blair y mantenidos entre +4 a +8°C y enviados al Laboratorio referencial y/o INS.

Pruebas serológicas: En los roedores se realizara la toma de muestra de sangre al vacio y se determinara la presencia de anticuerpos

ELISA Ig G e Ig M para diagnostico de Leptospiras y test de ELISA IgM para *Yersinia pestis*. Estas pruebas serán realizadas en el Laboratorio Referencial y/o Laboratorio INS

Cultivos: se realizara cultivo para leptospira y *Yersinia pestis* en las muestras de sangre, hígado, bazo y riñón de los roedores. Los cultivos serán realizados en el laboratorio referencial.

7.7.2.2.1. Definiciones de términos

Intradomicilio: es el interior de la vivienda.

Peridomicilio: la zona circundante a la vivienda hasta un radio de 25 m. de distancia.

Extra domicilio o silvestre: distancia 100 m de la vivienda o área habitada.

7.7.3 Estudio de vectores

7.7.3.1 Colecta de vectores

Colecta en humanos: colectaremos pulgas en la ropa; piojos de la cabeza y el cuerpo, así como garrapatas.

Colecta en animales domésticos: colectaremos pulgas, ácaros y garrapatas de los animales domésticos.

Colecta en roedores: después de anestésiar a los roedores con halotano, se colectara los ectoparásitos usando un peine en sentido contrario a la inserción de los pelos.

7.7.3.2. Preservación y transporte de los vectores

Los vectores colectados serán colocados en crioviales sin preservantes y almacenados, el mismo día de la captura, hasta la identificación de especie y su procesamiento. Serán enviados al laboratorio referencial, donde se realizará la identificación de las especies y las otras pruebas.

7.7.3.3 Exámenes de investigación

Cultivos: previa identificación de la especie de pulga, se realizará un triturado de pulgas de la misma especie y que hayan sido colectadas del mismo roedor o animal domestico. Previo filtrado, se realizara pruebas de cultivo para aislar *Yersinia pestis*. Se procederá de la misma manera para las acaros y garrapatas colectadas de las viviendas seleccionadas y de sus animales domésticos. Será realizara en el laboratorio referencial.

7.7.3.4 Variables climatológicas

Se obtendrán de las estaciones metereológicas del SENAHMI que se encuentren mas cerca de la zona de estudio. Se obtendrá información sobre la temperatura mínima y máxima, humedad relativa mínima y máxima y precipitación pluvial.

7.8. Indicadores para el monitoreo

Porcentaje de población de comunidad enrolada en la cohorte.

Porcentaje de población que permanece en la cohorte.

Porcentaje de muestras procesadas de humanos, reservorios y vectores.

Índice de atrape.

Índice de pulidos.

7.9. Análisis y procesamiento de los datos

La información del estudio en humanos, reservorios y vectores será llevada en una hoja Excel y exportada para ser analizada con el software stata v 9.0. En el estudio de humanos realizaremos en el análisis univariado tablas de frecuencia, estimación de las medias y proporciones, comparación de medias con la t de student o test de Wilcoxon y, para la comparar variables cualitativas, usaremos el chi cuadrado. Realizaremos un análisis de regresión logística incluyendo todas las variables con una $p < 0.2$. Usaremos un intervalo de confianza del 95% para todos los casos y consideraremos estadísticamente significativo una $p < 0.05$. En los reservorios determinaremos, para cada especie, la prevalencia de positivos para leptospira y *Yersinia pestis*,

en las áreas de intradomicilio, peridomicilio y silvestre.

En los vectores se determinará, para cada especie, la proporción de pulgas positivas a *Yersinia pestis* para cada especie en las áreas del intradomicilio, peridomicilio y silvestre.

Para los ácaros y garrapatas capturadas se procederá de la misma manera.

Se realizara un análisis de serie de tiempo con las variables climatológicas, la información de la población de vectores, reservorios y la prevalencia de infección por leptospira y *Yersinia pestis* en humanos, reservorios y vectores.

7.10. Aspectos éticos

A. Participación de seres humanos

El protocolo será revisado y aprobado por el Comité de Ética de la Facultad de Medicina de la Universidad Privada Antenor Orrego (Trujillo-Perú). Los participantes serán informados de los objetivos, beneficios e incomodidades en la investigación a cargo del medico investigador.

Luego se procederá a la firma del consentimiento informado (Anexo 1); y, en el caso de menores de edad, se solicitara la firma del consentimiento por parte del tutor responsable; en los menores de 8 a 18 años se aplicara adicionalmente el consentimiento informado a ellos.

B.1. Reclutamiento de los participantes

Se invitará a participar en forma voluntaria al 100% de la población del área de estudio. Se explicará los objetivos del proyecto, la forma como participaran los sujetos, los riesgos y beneficios, así como los exámenes que se realizaran. No se realizará ningún tipo de pago, monetario o material, a cambio de participar en el estudio. El médico tratante será el responsable de las indicaciones según resultados de laboratorio. El proyecto no proporcionara medicamentos.

B.2. Consecuencias de la participación en el estudio

Beneficios: los participantes tendrán acceso a las pruebas diagnosticas de dos enfermedades como leptospira y peste, pruebas que no han sido realizadas previamente por la dificultad de acceso económico. Estos resultados permitirán establecer los perfiles epidemiológicos, la magnitud y conocer aspectos clínicos de estas enfermedades en áreas rurales, los cuales permitirán implementar medidas de prevención y control.

Daños Potenciales: es posible, en algunos casos, que se produzca dolor en la zona de punción para la colecta de la muestra; en otros casos, menos frecuente, es posible que se produzcan hematomas. En ambos casos el tratamiento será solo sintomático.

Nivel (calidad) de atención y tratamiento. El proyecto no considera el tratamiento de los casos de leptospira y peste. Los casos probables identificados serán atendidos por el médico y derivados a un centro de salud de referencia para su manejo de acuerdo a las normas establecidas.

Alternativas: Los métodos de diagnóstico que se realizaran para las infecciones en humanos por leptospira y *Yersinia pestis*, son las que están aceptadas por la comunidad científica.

B.3. Pago a los participantes

No se realizará ningún tipo de pago, monetario o material, a los sujetos que participen en el estudio.

Asimismo, los sujetos de investigación no deberán realizar pago alguno por los procedimientos realizados en el estudio.

B.4. Confidencialidad de la información obtenida

Toda la información individual será almacenada físicamente en un archivo del sistema de computo del área de Investigación de la Universidad Antenor Orrego al cual solo tendrán acceso los investigadores principales y será almacenado por un lapso de 5 años; luego, será físicamente destruido. La información será ingresada a una base de datos que estará ubicada en una computadora a la que tendrá acceso solo los investigadores principales. La información que será compartida con otros investigadores no tendrá los campos de identificación de los sujetos enrolados en el estudio.

B.5. Informe de resultados de las pruebas a los participantes

Se entregará y explicará los resultados en forma confidencial a los participantes a través del médico tratante del sujeto enrolado o a través del responsable del proyecto.

B.6. Informe al público

Los resultados del estudio serán presentados en congresos nacionales e internacionales, así como en una revista internacional.

VIII. BIBLIOGRAFÍA

1. García-González R, Reyes-Torres A, et al. Leptospirosis ; un problema de salud pública. *Rev Latinoamer Patol Clin*, Vol. 60, Núm. 1, pp 57-70 • Enero - marzo, 2013.
2. Wuthiekanun V, Sirisukkarn N, Daengsupa P, Sakaraserane P, Sangkakam A, Chierakul W et al. Clinical diagnosis and geographic distribution of leptospirosis, Thailand. *Emerg Infect Dis*. 2007, 13(1).
3. Ko AI, Reis MG, Ribeiro Dourado CM, Johnson WD Jr, Riley LW. Urban epidemic of severe leptospirosis in Brazil. Salvador Leptospirosis Study Group. *Lancet*,1999, 354: 820–825.
4. World Health Organization. Human plague in 2002 and 2003. *Wkly Epidemiol Rec* 2004; 79:301–8.
5. Butler,T. Plague into the 21st Century. *Clinical Infectious Diseases* 2009; 49:736–42.
6. WHO. Global WHO. *Global Plan to Combat Neglected Tropical Diseases 2008-2015*. (WHO/CDS/NTD/2007.3) Ginebra: OMS, 2007.
7. Organización Panamericana de la Salud. Plan Estratégico 2008-2012. OPS, Documento Oficial Nro 328, Washington D.C.: OPS; 2007.
8. OPS Documento CD 49/9. Eliminación de enfermedades desatendidas y otras infecciones relacionadas con la pobreza. 49 Consejo Directivo.2009.
9. HealthMap. Available online: <http://healthmap.org/en/> (accessed on 7 August 2013).
10. Costa, F.; Martínez-Silveira, M.S.; Hagan, J.E.; Hartskeerl, R.A.; Reis, M.G.D.; Ko, A.I. Surveillance for leptospirosis in the Americas, 1996–2005: A review of data from ministries of health. *Rev. Panam. Salud Pública* **2012**, 32, 169–177.
11. OPS. Salud en las Americas, 2012.
12. Nota descriptivas: P-Pan American Health Organization. 8 de Agosto. osto. 013. http://www.paho.org/hq/index.php?option=com_content&view=article&id=8933&Itemid=40032 este.
13. Dirección General de Epidemiología. Boletín Epidemiológico. Del 08 al 14 de diciembre del 2013. Vol 22. Semana Epidemiológica Nro 50.
14. Agreda-Sánchez MF. Situación actual de la Peste en la región La Libertad 2013. http://cpcedlalibertad.gob.pe/Documentos/SITUACION_ACTUAL_PESTE_CMP_2013.pptx (accessed 15 de Abril 2014).
15. Céspedes M. Vigilancia de reservorios, vectores y centinela para el control de la peste en el Perú. Reunión Internacional de Expertos sobre Peste en América Latina, Lima del 22 a 24 de enero del 2013 2013.
16. Cruz R, Fernández F, Arévalo H. Hiperendemicidad de leptospirosis y factores de riesgo asociados en localidades arroceras del departamento de San Martín –Perú. *Perú Med* 2002;19:10-17.
17. Céspedes m, Fernández r, Rimarachín r, et al. Leptospirosis: una enfermedad zoonótica hiperendémica en la provincia de Coronel Portillo. Ucayali, Perú. *Rev Peru Med Exp Salud Pública*. 2004;21 (2):62-70.
18. Vargas-Cuba, Felix, et al. Seroprevalencia y factores asociados con leptospirosis en pacientes con síndrome febril en Ayacucho, Perú 2005. *Rev. perú. med. exp. salud publica*. 2008, vol.25, n.2, pp. 190-194.

19. Macedo S, Valencia E, Cuadra A. 1993. Leptospirosis en *Mus musculus*: aislamiento y serología. *Rev Per Med Trop* 7(1): 27-34.
20. Arrieta M, Soto R, Gonzáles R, Nombera J, Holguín C, Monje J. Características de la población de roedores y pulgas en áreas de diferente riesgo para peste de tres provincias del departamento de Piura-Perú. *Rev Peru Med Exp Salud Publica* 2001;18:90-97
21. Pozo EJ, Troncos G, Palacios A, Arévalo F, Carrión G, Laguna-Torres VA. Distribución y hospederos de pulgas (*Siphonaptera*) en la provincia de Ayabaca, Piura - 1999. *Rev Peru Med Exp Salud Publica* 2005;22:316-320.
22. Seraylán S, Vargas L. Purificación y control de calidad de la fracción antigénica F1 de *Yersinia pestis* *Rev Med Exp Salud Publica* 1999;14:48-50.
23. Modesto J, Morales A, Cabanillas O, Díaz C. Impacto económico de la peste bubónica en Cajamarca – Perú. *Rev Peru Med Exp Salud Publica* 2002;19:74-82.
24. Donaires LF, Céspedes M, Valencia P, Salas JC, Luna ME, Castañeda A, et al. Peste neumónica primaria con transmisión intrahospitalaria en La Libertad. *Rev Peru Med Exp Salud Pública*. 2010;27(3):326-36.
25. Pachas P, Mendoza L, González D, Fernández V, Céspedes M. Control de la peste en La Libertad, Perú. *Rev Peru Med Exp Salud Publica*. 2010; 27(3): 473-77.
26. Bharti, A.R., J.E. Nally, J.N. Ricaldi, M.A. Mathias, 21. Storck, C.H., D. Postic, I. Lamaury and J.M. Perez, M.M. Diaz and M.A. Lovett, 2003. Leptospirosis: a zoonotic disease of global importance. *Lancet Infect Dis.*, 3: 757-771.
27. Adler, B. and P.A. Moctezuma, 2010. *Leptospira* and Leptospirosis. *Veterinary Microbiology*, 140: 287-296
28. Faine, S., 1982. Guidelines for the control of Leptospirosis. WHO offset publication, pp: 67.
29. Boza.R. (1990): Leptospirosis anictérica. Análisis de una epidemia en Costa Rica-Acta Médica Costarricense. V-1 33, 74-80.
30. Abela-Ridder, B., R. Sikkema and R.A. Hartskeerl, 2010. Estimating the burden of human leptospirosis. *Intern. J. Antimicrob Agents*, 36: 5-7.
31. Anon, 2003. Human leptospirosis: Guidance for diagnosis, surveillance and control. WHO: Malta, pp: 1-122.
32. Lomar A, Diament D, Torres J. Leptospirosis in Latin America. *Infect Dis Clin North Am* 2000; 14: 23-39.
33. Cacciapuoti B, Ciceroni L, Maffei C, Di Stanislao F, Strusi P, Calegari M, et al. A waterborne outbreak of leptospirosis. *Amer J Epidemiol* 1987; 126: 535-45.
34. Cinco M. New insights into the pathogenicity of leptospirae: evasion of their host defences. *New Microbiologic*. 2010; 33: 283-292.
35. Cachy, E.R. and J.M. Vinetz, 2005. A global research agenda for Leptospirosis. *J. Postgrad Med.*, 51: 174-178.
36. Levett, P.N., 2005. Leptospirosis. In: Principles and Practice of Infectious Diseases. Eds., G. Mandell, J. Bennett and R. Dolin, pp: 2789-2794.
37. Berman S, Tsai C C, Holmes K, Fresh J, Watten R. Sporadic anicteric leptospirosis in South Vietnam. *Ann Intern Med* 1973; 79:167-73.

38. Heath C W Jr, Alexander A D, Galton M M. Leptospirosis in the United States. Analysis of 483 cases in man, 1949, 1961. *N Engl J Med* 1965; 273: 915-22.
39. Heath C W Jr, Alexander A D, Galton M M. Leptospirosis in the United States. *N Engl J Med* 1965; 273: 857-64.
40. Ren SX, Fu G, Jiang XG, Zeng R, Miao YG, Xu H, et al. Unique physiological and pathogenic features of *Leptospira interrogans* revealed by whole-genome sequencing. *Nature* 2003;
41. Ko AI, Galvao Reis M, Ribeiro Dourado CM, Johnson WD, Jr., Riley LW. Urban epidemic of severe leptospirosis in Brazil. Salvador Leptospirosis Study Group. *Lancet* 1999; 354(9181): 820-25.
42. Segura ER, Ganoza CA, Campos K, Ricaldi JN, Torres S, Silva H, et al. Clinical spectrum of pulmonary involvement in leptospirosis in a region of endemicity, with quantification of leptospiral burden. *Clin Infect Dis* 2005; 40(3): 343-51.
43. Dupont H, Dupont-Perdrizet D, Perie JL, Zehne r-Hansen S, Jarrige B, Daijardin JB. Leptospirosis: prognostic factors associated with mortality. *Clin Infect Dis* 1997; 25(3): 720-24.
44. World Health Organization, 2006. Guidelines for the prevention and control of leptospirosis. Zoonosis Division, National Institute of Communicable Diseases, 22-Sham Nath Marg, Dehli.41.
45. Cerqueira, M.G. and M. Picardeau, 2009. A century of *Leptospira* strain typing. *Infection, Genetics and Evolution*, 9: 760-768.
46. Ooteman, M., A. Vago and M. Koury, 2006. Evaluation of MAT, IgM ELISA and PCR methods for the diagnosis of human leptospirosis. *J. of Microbiological Methods*, 65: 247-257.
47. Instituto Nacional de Salud. (2002). Manual de Procedimientos Bacteriológico y Serológico para el Diagnóstico de la Leptospirosis. Serie de Normas Técnicas No. 34 Lima-Perú.
48. Ministerio de Salud. (2006). Norma Técnica de Salud para la Atención Integral de la Persona Afectada con Leptospirosis. Lima, Perú.
49. Pollitzer R. 1960. A review of recent literature on plague. *Bull World Health Organ* 1960;23:313–400
50. Engelthaler DM, Hinnebusch BJ, Rittner CM, Gage KL. Quantitative competitive PCR as a method for exploring flea-*Yersinia pestis* dynamics. *Am J Trop Med Hyg* 2000;62:552–60.
51. Ruiz A. Plague in the Americas. *Emerg Infect Dis*. 2001;7:539-40.
52. Malagón-Londoño G, Moncayo A. Salud pública. Perspectivas. Segunda edición. Bogotá, D.C.: Editorial Médica Internacional Ltda.; 2011. p. 343-4.
53. Butler T. Plague into the 21st Century. *Clin Infect Dis*. 2009;49:736-42.
54. McGovern TW, Friedlander A. Plague. In: Zajtchuk R, Bellamy RF, editors. Medical aspects of chemical and biological warfare. Bethesda: Office of the Surgeon General; 1997. p. 479–502.
55. Dennis D, Meier F. Plague. In: Horsburgh CR, Nelson AM, editors. Pathology of emerging infections. Washington: ASM Press; 1997. p. 21–47.
56. Pujol C, Bliska JB. Turning *Yersinia* pathogenesis outside in: subversion of macrophage function by intracellular yersiniae. *Clin Immunol* 2005;114:216–26.
57. Bossi P, Tegnell A, Baka A, et al. Bichat guidelines for the clinical management of plague and bioterrorism-related plague. *Euro Surveill* 2004;9:E5–6.

58. Cleri DJ, Vernaleo JR, Lombardi LJ, et al. Plague pneumonia disease caused by *Yersinia pestis*. *Semin Respir Infect* 1997;12:12–23.
59. Ministerio de Salud. (2010). Norma Técnica de Salud para la Vigilancia, Prevención y Control de la Peste en el Perú.
60. Boulanger LL, Ettestad P, Fogarty JD, et al. Gentamicin and tetracyclines for the treatment of human plague: review of 75 cases in New Mexico, 1985–1999. *Clin Infect Dis* 2004;38: 663–9.

CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES

ACTIVIDAD	INICIO	FIN
Elaboración de proyecto	01/03/2016	31/03/2016
Capacitación a los equipos de salud	31/03/2016	30/04/2016
Reunion y coordinación con autoridades distritales	01/04/2016	15/04/2016
Adquisición de materiales e insumos	04/04/2016	28/05/2016
Captura de pulgas, garrapatas, y otros vectores en roedores y mascotas además de procesamiento de muestras	04/04/2016	30/09/2016
Captura roedores, obtención de muestra de sangre y tejido y procesamiento de muestras	04/04/2016	30/09/2016
Entrevista, evaluación clínica y colecta de muestra en humanos y procesamiento de muestras	05/04/2016	30/09/2016
Informe Parcial del Proyecto	16/09/2016	20/09/2016
Análisis de los datos	03/10/2016	25/11/2016
Informe Final del Proyecto	20/12/2016	27/12/2016

PRESUPUESTO

DESCRIPCION	CANTIDAD	PRECIO_UNITARIO	PRECIO_PARCIAL
FOTOCOPIAS	400 UNI	0.10	40
REACTIVOS E INSUMOS	1 UNI	450	450
REACTIVOS E INSUMOS	8 UNI	25	200
REACTIVOS E INSUMOS	10 UNI	25	250
PASAJES	45 UNI	10	450
ALIMENTACION	2 UNI	500	1000
HOSPEDAJE	23 UNI	90	2070
REACTIVOS E INSUMOS	2 UNI	2.80	5.60
REACTIVOS E INSUMOS	2 UNI	80	160
REACTIVOS E INSUMOS	6 UNI	25	150
REACTIVOS E INSUMOS	2 UNI	70	140
REACTIVOS E INSUMOS	20 UNI	40	800
FOTOCOPIAS	10 UNI	1	10
REACTIVOS E INSUMOS	1 UNI	550	550
REACTIVOS E INSUMOS	2 UNI	200	400
REACTIVOS E INSUMOS	1 UNI	420	420
ALIMENTACION	23 UNI	50	1150
HOSPEDAJE	12 UNI	60	720
REACTIVOS E INSUMOS	1 UNI	2.80	2.80
REACTIVOS E INSUMOS	1 UNI	200	200
REACTIVOS E INSUMOS	1 UNI	90	90
REACTIVOS E INSUMOS	1 UNI	100	100
REACTIVOS E INSUMOS	10 UNI	5	50
ALIMENTACION	12 UNI	50	600
Librerías, Programas, Licencias, Plantillas de Diseño, etc.	1 UNI	200	200
REACTIVOS E INSUMOS	3 UNI	2500	7500
REACTIVOS E INSUMOS	0 UNI	0	0
APOYO	1 UNI	350	350
HOSPEDAJE	2 UNI	500	1000
REACTIVOS E INSUMOS	2 UNI	50	100
REACTIVOS E INSUMOS	10 UNI	7.50	75

Total 19233.40