

Carátula del plan de tesis



**UNIVERSIDAD “ALAS PERUANAS” – FILIAL ICA
FACULTAD DE MEDICINA HUMANA Y CIENCIAS DE LA SALUD
ESCUELA PROFESIONAL DE TECNOLOGÍA MÉDICA**

TÍTULO

**“ROEDORES Y QUIROPTEROS SINANTROPICOS RESERVORIOS DE
HEMOPATÓGENOS HUMANOS: ESTUDIO ECOLÓGICO EN LA SELVA
PERUANA”**

**PROYECTO DE TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE
LICENCIADO TECNÓLOGO MÉDICO.**

AUTOR:

VILLENA PATIÑO, Fredy Ernesto

ASESOR:

ROSALES RIMACHI, Jaime

ICA – PERÚ

2015

DEDICATORIA:

Quiero dedicar este trabajo en primer lugar a DIOS por darme la fortaleza para concluir este trabajo, a mi familia por apoyarme cuando más los necesite; en especial a mi madre por sus sabios consejos y guía. A mis asesores y profesores, gracias por su tiempo y apoyo que sirvieron para mi desarrollo personal.

AGRADECIMIENTOS

Quiero agradecer a mi familia por su dedicación y colaboración, en especial a mi querida madre y hermana por brindarme su apoyo incondicional en todo momento.

A mi sobrino por existir y hacerme sentir especial en todo momento.

A mis asesores, por su apoyo constante y valiosa colaboración sin el cual este trabajo no hubiera sido posible.

A la Universidad Alas Peruanas por darme la oportunidad de estudiar y ser un profesional.

A mis profesores y mentores que estuvieron a lo largo de mis estudios, apoyándome y brindarme sus conocimientos.

A la institución (NAMRU-6) que me abrió sus puertas, brindándome el apoyo tecnológico, financiero y humano para realizar este trabajo.

A todas las personas que me trataron como parte de su familia, apoyándome y dándome consejos muy útiles y valiosos.

A mis compañeros y amigos, por brindarme de su tiempo y darme el aliento para concluir este trabajo.

RESUMEN

Las enfermedades zoonóticas son uno de los problemas más grandes de la salud pública mundial, llegando a alcanzar sólo las zoonosis parasitarias el 60% de todas las enfermedades humanas. En el año 2014 desarrollamos un estudio transversal en las comunidades nativas de Palmiche, Pachacutec, Nuevo San Martín y Mayuriaga de la provincia del Datem del Marañón en el departamento de Loreto, Perú. Se colectó un total de 154 muestras sanguíneas de 39 roedores y 115 quirópteros. La colecta se realizó por punción cardíaca, obteniéndose posteriormente gota gruesa y frotis sanguíneo, las cuales fueron teñidas con colorante Giemsa y observadas por microscopía óptica. Las muestras compatibles con *Trypanosoma sp.* y *T. cruzi*, fueron confirmadas por PCR amplificando parcialmente el gen α -ribosomal 24S ARN, (Souto and Zingales, 1993). Los datos fueron analizados en STATA vs12 empleando la prueba de t de Student y considerando un $p < 0.05$ significativo. La prevalencia de al menos un patógeno sanguíneo fue 37.7% (58/154), y todas correspondieron a quirópteros (50.43%). En estos últimos, la prevalencia de *Trypanosoma sp.* fue 37.4% (43/115), microfilarias 7.0% (8/115) y cocobacilos 13.0% (15/115), siendo la frecuencia de coinfección, *Trypanosoma sp.* – cocobacilos y *Trypanosoma sp.* – microfilarias, de 4.3% y 2.6%, respectivamente. Dos de las 43 muestras positivas a *Trypanosoma sp.*, fueron identificados como *T. cruzi* (4.7%). Hubo una mayor frecuencia de microfilarias en quirópteros hematófagos (2.49% vs 12.76%, $p < 0.042$), pero no para *Trypanosoma sp.* ($p = 0.161$) o cocobacilos ($p = 0.230$), tal vez por el pequeño tamaño de muestra. La mayor presencia de microfilarias en quirópteros hematófagos posiblemente se deba al mayor contacto con fluidos sanguíneos y la ocurrencia de *Trypanosoma sp.* podría indicar una transmisión directa entre quirópteros, además de existir un ciclo silvestre para el *T. cruzi* en las comunidades de Loreto. Así mismo, el hallazgo de cocobacilos podría indicar la presencia de *Bartonella spp.* en dichas comunidades, ya descrita en estudios anteriores (Bai, 2012). Es necesario realizar futuros estudios epidemiológicos en estas comunidades y estimar la prevalencia de los patógenos en roedores y quirópteros.

Palabras clave: Quirópteros; Roedores; Sinantrópico; *Trypanosoma*; Microfilarias; Cocobacilos.

ABSTRACT

Zoonotic diseases are one of the main problems in global public health, out of which, parasitic zoonosis represent almost 60% of all human diseases. During 2014, we conducted a cross-sectional study among the native communities of Palmiche, Pachacutec, Nuevo San Martin and Mayuriaga at the “Datem del Maranon” province, located in Loreto, Peru. We collected 154 blood samples from 39 rodents and 115 chiroptera. The samples were collected by cardiac puncture, and then thick and thin blood smears were prepared, stained with Giemsa and observed by optical microscopy. Data was analyzed with statistical software STATA v12, using Student t test and considering a p value of <0.05 statistical significance. The prevalence of at least one blood pathogen was 37.7% (58/154); all of them were chiroptera (50.43%). Among the latter, the prevalence of *Trypanosoma* sp. was 37.4% (43/115), microfilariae 7.0% (8/115) and coccobacilli 13.0% (15/115), and the coinfection frequencies for *Trypanosoma* sp. - coccobacilli and *Trypanosoma* sp. – microfilariae were 4.3% and 2.6%, respectively. There was a higher frequency of microfilariae in haematophagous chiroptera (2.49% vs 12.76%, $p < 0.042$), but not in *Trypanosoma* sp. ($p = 0.161$) o coccobacilli ($p = 0.230$), perhaps due to the small sample size. The higher frequency of microfilariae in haematophagous chiroptera is possibly caused by an increased contact with the blood fluids and the occurrence of *Trypanosoma* sp. could indicate a direct transmission among chiroptera, in addition to the existing wild cycle among the communities of Loreto. Also, the finding of coccobacilli may indicate the presence of *Bartonella* spp. in those communities, as described in previous studies (Bai, 2012). It is necessary to conduct future epidemiological studies in these communities in order to estimate the prevalence of pathogens in rodents and chiroptera.

Keywords: chiroptera; rodents; synanthropic; *Trypanosoma*; microfilariae; coccobacilli.

CONTENIDO

DEDICATORIA:	II
AGRADECIMIENTOS	III
RESUMEN.....	IV
ABREVIATURAS.....	XI
CAPÍTULO I	1
PLANTEAMIENTO METODOLÓGICO.....	1
1.1. DESCRIPCIÓN DE LA REALIDAD PROBLEMÁTICA.....	1
1.2. DELIMITACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN.....	2
1.3. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA.....	2
1.3.1. PROBLEMA PRINCIPAL	2
1.3.2. PROBLEMA SECUNDARIO.....	2
1.4. OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN.....	2
1.4.1 OBJETIVO GENERAL.....	2
1.4.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	2
1.5. HIPÓTESIS DE LA INVESTIGACIÓN	3
1.6. VARIABLES E INDICADORES.....	3
1.6.1. CARACTERÍSTICAS DE LAS VARIABLES	3
1.7. JUSTIFICACIÓN E IMPORTANCIA DE LA INVESTIGACIÓN.....	3
1.8. DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN	4
1.8.1. TIPO DE INVESTIGACIÓN	4
1.8.2. NIVEL DE INVESTIGACIÓN.....	4
1.8.3. MÉTODO.....	4
1.9. POBLACIÓN Y MUESTRA DE LA INVESTIGACIÓN	5
1.9.1. POBLACIÓN	5
1.9.2. MUESTRA.....	5
1.10. TÉCNICAS PARA EL EL PROCESAMIENTO Y ANALISIS DE LOS DATOS.....	5
1.10.1. TÉCNICA.....	5
1.11. ÉTICA DE LA INVESTIGACIÓN	7
CAPÍTULO II	8

MARCO TEÓRICO	8
2.1. ANTECEDENTES DE LA INVESTIGACIÓN	8
2.1.1. ANTECEDENTES INTERNACIONALES	8
2.1.2. ANTECEDENTES NACIONALES	13
2.2. BASES TEÓRICAS.....	15
2.2.1. Zoonosis:	15
2.2.2. Roedores:	16
2.2.3. Quirópteros:	16
2.2.3.1. Quirópteros Hematófagos:	18
2.2.3.2. Quirópteros no Hematófagos	18
2.2.4. Filarias.....	19
2.2.4.1 Género <i>Litomosoides</i>	19
2.2.5 Bartonella.....	20
2.2.6 Tripanosomiasis	21
2.3. DEFINICIÓN DE TÉRMINOS BÁSICOS	22
CAPÍTULO III	23
PRESENTACION, ANALISIS E INTERPRESTACION DE RESULTADOS.....	23
3.1. RESULTADOS.....	23
3.2. DISCUSIÓN DE RESULTADOS.....	30
3.3. CONCLUSIONES.....	31
3.4. RECOMENDACIONES.....	31
FUENTES DE INFORMACIÓN.....	32
ANEXOS.....	35
Anexo N°1: Operacionalización de variables.....	35
Anexo N°2: Matriz de consistencia	36
Anexo N°3: Modelo de ficha de recolección de datos.....	39
Anexo N°4: Preparación de frotis sanguíneo, gota Gruesa y tinción Giemsa.....	40
Anexo N°5: Imágenes del trabajo en campo.	42
Anexo N°6: Fotos de geles de la Nested-PCR (PCR con primers D75/D76 y primers D71/D72).....	46

LISTADO DE TABLAS

Tabla 1: *Identificación taxonómica de los hospederos*

Tabla 2: *Distribución de los hospedadores en base a la familia, sexo y edad a la que pertenece*

Tabla 3: *Resultados obtenidos por PCR y microscopia para tripanosomátidos*

Tabla 4: *Presencia de patógenos en comparación a la edad y sexo del hospedero*

Tabla 5: *Presencia de patógenos según el lugar de captura*

Tabla 6: *características métricas del Trypanosoma sp. Observadas por microscopia*

Tabla 7: *Características morfométricas de microfilarias observadas por microscopia*

Tabla 8: *Presencia de patógenos en comparación al orden taxonómico del hospedero*

Tabla 9: *Reacción en cadena polimerasa (PCR) vs microscopia de gota gruesa para Trypanosoma sp. en quirópteros*

Tabla 10: *Reacción en cadena polimerasa (PCR) vs microscopia de gota gruesa para T. cruzi en quirópteros*

Tabla 11: *Reacción en cadena polimerasa (PCR) vs microscopía de gota gruesa para T. cruzi en Roedores*

ABREVIATURAS

Coriomeningitis linfocítica:	LCMV
Fiebre hemorrágica con síndrome renal:	FHSR
Síndrome cardiopulmonar por hantavirus:	SCPH
Estadios larvarios 1, 2 y 3:	L1, L2 y L3
<i>Trypanosoma cruzi</i> :	<i>T. cruzi</i>

CAPÍTULO I

PLANTEAMIENTO METODOLÓGICO

1.1. DESCRIPCIÓN DE LA REALIDAD PROBLEMÁTICA

La zoonosis es uno de los más grandes problemas de la Salud Pública y la más frecuente en el mundo. Solo la zoonosis parasitaria llega a alcanzar el 60% de todas las enfermedades humanas, siendo los mamíferos los principales reservorios. Los cambios a nivel local y global provocan la aceleración de cambios selectivos en los animales, estos cambios son mayores en los animales silvestres ya que necesitan adaptarse con mayor rapidez para poder sobrevivir. Dichos cambios involucran potencialmente la transmisión de enfermedades zoonóticas ⁽¹⁾.

Diferentes factores provocan que los animales silvestres expandan su habitat, generando como consecuencia enfermedades zoonóticas que complican la salud humana. El aumento de población humana en áreas rurales y la interacción del hombre con los animales en áreas no perturbadas, también tiene un impacto decisivo en el aumento de las enfermedades parasitarias en esta población, ya sea directamente o mediada por vectores intermediarios ⁽¹⁾⁽²⁾.

El habitat peri-domestico de los roedores y los murciélagos, así como de sus ectoparásitos (garrapatas y pulgas) y otros vectores capaces de transmitir enfermedades zoonóticas, aumentan el riesgo de contagio de patógenos a los humanos. En el trópico la importancia es mayor debido a la presencia mayoritaria de patógenos emergentes y reemergentes ⁽³⁾.

La población de las áreas rurales y tropicales que sufren enfermedades zoonóticas disminuyen su calidad de vida y productividad en el trabajo lo que resulta en una reducción económica para esta población. Así mismo existen pérdidas económicas muy altas en la producción ganadera y en la recuperación de la población afectada. En los niños esto cobra aún más relevancia ya que estos están en desarrollo tanto físico como intelectual y su prevalencia en estos puede ser de hasta 48% lo que es muy alarmante ⁽⁴⁾⁽⁵⁾⁽⁶⁾. La poca existencia de publicaciones de patógenos en reservorios de animales silvestres hace aún más difícil la tarea de prevención ⁽³⁾. De ahí la necesidad de conocer a las distintas especies silvestres (roedores y murciélagos) como principales reservorios de las enfermedades zoonóticas, es crucial para

entender el riesgo que esto genera en la población humana. Por lo cual el presente trabajo tuvo como objetivo hallar a los principales hemopatógenos que usan como reservorios a los roedores y quirópteros sinantrópicos.

1.2. DELIMITACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN

El presente estudio se enfoca exclusivamente en animales silvestres (roedores y quirópteros) que fueron capturadas en el mes de Agosto del 2014 dentro de las comunidades indígenas de Palmiche, Pachacutec, Nuevo San Martín y Mayuriaga, ubicado dentro de la provincia del Datem del Marañón departamento de Loreto, en la Amazonia Peruana.

1.3. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA

1.3.1. PROBLEMA PRINCIPAL

¿Cuáles son los principales hemopatógenos humanos que utilizan a los roedores y quirópteros sinantrópicos como reservorios naturales?

1.3.2. PROBLEMA SECUNDARIO

¿Cuál es la Subfamilia de roedor y quiróptero sinantrópico comúnmente más utilizada como reservorio natural por los hemopatógenos?

¿Cuáles son los hemopatógenos más frecuentes para cada subfamilia de roedor y quiróptero sinantrópico?

1.4. OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN

1.4.1 OBJETIVO GENERAL

Determinar a los principales hemopatógenos humanos que utilizan a los roedores y quirópteros sinantrópicos como reservorios naturales.

1.4.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Hallar a las principales Subfamilias de roedores y quirópteros sinantrópicos comúnmente más utilizadas como reservorios naturales.
- Hallar los patógenos más frecuentes según la subfamilia de roedor y quiróptero sinantrópico.

1.5. HIPÓTESIS DE LA INVESTIGACIÓN

Los roedores y quirópteros sinantrópicos actúan como reservorios para algunos patógenos sanguíneos zoonóticos en humanos.

1.6. VARIABLES E INDICADORES

1.6.1. CARACTERÍSTICAS DE LAS VARIABLES

VARIABLE	INDICADORES
Especie	Rasgos fenotípicos y genotípicos
Patógenos	Presencia de Hemo-Patógenos.
Reservorio	Individuo animal con presencia de Patógenos
Edad	Rasgos fenotípicos
Sexo	Presencia física de rasgos sexuales
Localidad	zona geográfica

1.7. JUSTIFICACIÓN E IMPORTANCIA DE LA INVESTIGACIÓN

La zoonosis humana es una de las enfermedades más frecuentes y más complejas en el mundo, llegando a sobrepasar el 50% de todas las enfermedades humanas. En nuestro país afecta principalmente a las personas de áreas rurales. Esta enfermedad hoy en día tiene relevancia mayor en áreas vírgenes, debido a la transmisión zoonótica de patógenos emergentes y reemergentes de animales silvestres.

Los animales silvestres que acuden a áreas rurales para satisfacer sus necesidades de alimentación, como son los roedores y quirópteros, pueden ser reservorios de importantes patógenos humanos, así como también sus

ectoparásitos (garrapatas y pulgas) podrían actuar como vectores entre estos mamíferos y los humanos y transmitir posiblemente enfermedades zoonóticas.

El incremento de la población humana con posterior invasión de zonas antes vírgenes, además de la coexistencia con animales silvestres son factores que aumentan la probabilidad de transmisión de enfermedades zoonóticas. La adición de factores como la transmisión de estas enfermedades entre humanos o entre especies domésticas y silvestres en zonas urbanas genera una alta prevalencia de enfermedades zoonóticas lo que es traducido en un problema de salud pública.

Los patógenos provenientes de reservorios silvestres son tema muy poco estudiado en el mundo y se necesita más estudios para poder comprender la transmisión de patógenos de reservorios naturales hacia los humanos. Este estudio cobra relevancia mayor ya que se realizara en animales capturados en las zonas periurbanas y urbanas lo que enriquecerá aún más el estudio, ya que estos tendrán relaciones directas con las comunidades en las cuales fueron capturadas.

Por ello que las enfermedades zoonóticas son un tema muy relevante para la Medicina Tropical y las Ciencias Médicas en nuestro país, lo que justifica el tema central de este estudio. Es por esta razón que la investigación que realizamos tuvo como objetivo determinar a los principales patógenos humanos que utilizan a los roedores y quirópteros como reservorios naturales.

Esta investigación aportara datos y elementos de juicio para conocer la situación actual y formular conclusiones importantes relacionadas con las infecciones Zoonóticas, así como también dará pie a otras investigaciones futuras.

1.8. DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN

1.8.1. TIPO DE INVESTIGACIÓN

La presente investigación es del tipo Observacional, Retrospectiva, Descriptiva.

1.8.2. NIVEL DE INVESTIGACIÓN

Exploratoria

1.8.3. MÉTODO

Deductivo

1.9. POBLACIÓN Y MUESTRA DE LA INVESTIGACIÓN

1.9.1. POBLACIÓN

Todos los murciélagos y roedores silvestres que tienen como habitad la provincia del Datem del Marañón en el departamento de Loreto dentro del mes de agosto del 2014.

1.9.2. MUESTRA

El tamaño de muestra estuvo basado en un permiso otorgado por la Dirección de Gestión y Fauna Silvestre, que permitió una tasa máxima de captura de 50 animales por comunidad.

1.10. TECNICAS PARA EL EL PROCESAMIENTO Y ANALISIS DE LOS DATOS

1.10.1. TÉCNICA

Las muestras procesadas en este estudio fueron obtenidas de roedores y quirópteros sinantrópicos capturados en las las comunidades de Palmiche, Pachacutec, Nuevo San Martín y Mayuriaga, ubicadas en el departamento de Loreto - Perú, en el mes de Agosto del 2014.

El tiempo muestreo en las comunidades de Palmiche y Pachacutec fue cuatro días, mientras que en las comunidades de Nuevo San Martín y Mayuriaga fueron por dos y tres días respectivamente, el tiempo de muestreo en estas dos ultimas comunidades fue menor a la prevista, debido a condiciones ambientales desfavorables.

Para la captura de roedores se utilizaron trampas de captura viva (Tomahawk y Sherman). Las trampas fueron cebadas y posteriormente se ubicaron 5 trampas Sherman y una Tomahawk en el interior de los hogares, el mismo numero de trampas fueron ubicadas en el exterior de las casas, las posición final de las trampas fue ditribuida teniendo en cuenta madrigueras y/o dinde fueron observadas.

El primer día, llamado día de sebedo se preparo el cebo conteniendo mantequilla de maní, pasas y vainilla, y aproximadamente una esfera de dos a tres centímetros de cebo fue utilizada por cada trampa. La hora de cebado inició aproximadamente entre las 4:30 y 5:30 pm. durante todos los días de muestreo. El día siguiente al cebado, se revizo las trampas para evaluar la presencia de algún roedor, las trampas con captura fueron transportadas al laboratorio y las vacias cerradas para evitar capturar animales durante el resto del día.

La captura de murciélagos se realizó con redes de niebla, desde las 6.30 pm. hasta la 1:00 am. aproximadamente. Durante este tiempo las redes fueron vigiladas constantemente para evaluar la captura de los quirópteros. La ubicación final de las redes fue tomada en cuenta evaluando presencia de gallineros y/o mordeduras recientes a los pobladores, ya que como prioridad se estableció la captura de quieropteros hematófagos. Las redes de captura fueron cerradas al terminar con el muestreo de cada día, para evitar la captura de aves durante el día.

Los murciélagos atrapados en las redes de niebla fueron traspasados a una bolsa de tela y transportados al laboratorio.

Todos los animales capturados fueron anesteciados con isoflurano para posteriormente realizarles un sangrado total mediante punción cardíaca. Con una parte de la muestra de sangre obtenida se realizó un frotis sanguíneo y gota gruesa (anexo N°1), y la otra parte fue almacenada en papel filtro 3MM Whatman.

Los animales sacrificados fueron medidos, pesados e identificados de madera preliar, posteriormente fueron depositados en formol para su transporte a Lima, donde fueron confirmados morfológica y molecularmente por el museo de Historia Natural de la UNMSM.

Las laminas colectadas fueron fijadas en campo con metanol, y posteriormente coloreadas con Giemsa (anexo N°3). La lectura microscópica de la lamina se realizó a 100x aumentos en toda la gota gruesa y extendido sanguíneo, el reporte fue cuantitativo en el caso de microfilarias y trypanosoma y cualitativamente en el caso de cobacilos. El recuento de microfilarias y Trypanosoma se realizó solo en gota gruesa y se reportó como número de microfilarias presentes en lamina.

Se realizó extracción de ADN a partir de papel filtro utilizando el kit de extracción "QIAamp DNA Mini Kit", y posteriormente se realizó una PCR-Nested, utilizando el primer D75 y D76 para trypanosomatidae en general y otro específico para *T. cruzi*, el primer D71 y D72 que amplifica la región α -ribosomal 24S ARN (Souto and Zingales, 1993).

Las muestras positivas por microscopia para cocobacilos y microfilarias no pudieron ser confirmadas por PCR y solo se mostraron datos microscópicos.

Los datos fueron analizados en STATA vs12. Se realizó un análisis descriptivo de las variables de interés, y prueba de chi cuadrado para comparar frecuencias considerando un $p < 0.05$ significativo.

1.11. ÉTICA DE LA INVESTIGACIÓN

El estudio principal fue desarrollado y ejecutado por los departamentos de Virología y Parasitología del NAVAL MEDICAL RESEARCH UNIT N°6 (NAMRU-6) y cuenta con aprobación ética del IACUC (Comité Institucional del Uso y Cuidado de Animales por sus siglas en inglés) mediante el número de protocolo "NAMRU-6 1403" y mediante la resolución directoral N° 0156 de la Dirección de Gestión Forestal y Fauna Silvestre (DGFFS).

En cuanto a las fuentes bibliográficas que contiene el presente trabajo, estas se han obtenido respetando los respectivos derechos de autor, evitando de esta manera plagio y en cuanto a los resultados que se obtendrán serán informados de manera exacta y evitando todo tipo de fraude.

CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO

2.1. ANTECEDENTES DE LA INVESTIGACIÓN

2.1.1. ANTECEDENTES INTERNACIONALES

La transmisión de patógenos desde mamíferos menores hacia los hombres es un tema común en el mundo, por lo cual se realizó un estudio ecológico al este de Polonia (Bialowieza Forest) para tratar de determinar los posibles patógenos presentes en mamíferos menores, este estudio se realizó en cuatro áreas: área uno Czerlonka (bosque mixto) captura en junio de 1996 y junio del 1997, área dos Knihiniówka (bosques alisos y pantanosos) captura en junio y julio y agosto 1996, área tres Podolany (orilla de río) en agosto del 2002 y la área cuatro Reski (pantano) en agosto del 2002. Para la captura se utilizaron trampas para captura viva y se ubicaron en lugares permanentes, ya sean en grillas rectangulares o en líneas. Las trampas fueron activadas en la tarde y desactivadas a la media noche, durante este tiempo fueron revisadas 4 veces por día. Las muestras de sangre fueron tomadas del extremo de la cola y con esta se realizó un frotis de sangre, posteriormente fue coloreada y examinada en microscopio.

*Se capturaron un total de 158 mamíferos menores al final del muestreo, de las cuales 24 capturas fueron en el área uno, 110 en el área dos, 15 en el área tres y 9 en el área cuatro. 12 mamíferos pequeños capturados en el área uno fueron *C. glareolus* los cuales presentaron *Trypanosoma* spp. en un 25%, *Hepatozoon* spp. en un 41.6% y *Bartonella* spp. en un 41.7%, seis fueron *M. Oeconomus* los cuales presentaron en un 33.3 % *Trypanosoma* spp. y en un 33.3% *Babesia microti*, y 6 fueron *A. flavicollis* que presentaron en 66% *Bartonella* spp.. Para el área dos fueron capturados 110 animales, 37 fueron *C. glareolus* los cuales presentaron en un 25% *Trypanosoma* spp., 41,6 *Hepatozoon* spp., y 41.7 *Bartonella* spp., 14 fueron *M. oeconomus* y presentaron en un 21,4% *Trypanosoma* spp., el 7.1% fue *Babesia microti*, el 7.1% *Hepatozoon* spp. y el 7.1% *Bartonella* spp, 37 fueron *S. araneus* donde el 32.4% presento *Bartonella* spp., cuatro *S. minutus* no presentaron patógenos, 17 *N. fodiens* fueron capturados y el 46.6% presento *Bartonella* spp., solo se capturo un *N. anomalus* el cual presento *Bartonella* spp. (100%). En el área tres se capturo 15 animales, 3 fueron *C. glareolus* y presentaron *Hepatozoon* spp. y *Bartonella* spp. en un 33.3% para cada uno, seis animales capturados fueron *M. oeconomus* y*

presentaron en un 33.3% *Trypanosoma* spp., dos fueron *M. agrestis* y el 50% presento *Bartonella* spp., dos *S. betulina* no presentaron patógenos, dos *S. araneus* fueron capturados y el 50% presento *Bartonella* spp.. En el área cuatro se capturaron ocho *M. Oeconomus* y el 37.5% presento *Bartonella* spp., y solo se capturo un *S. araneus* que no presento patógeno en lámina ⁽⁷⁾.

Los patógenos presentes en sangre de mamíferos menores son sin duda un problema muy frecuente para el hombre, ya que podrían ser transmitidos desde estos reservorios y desencadenar enfermedades zoonóticas agravando la salud del hombre.

Los patógenos utilizan a diversos animales como reservorios naturales y con el fin de hallar a los principales mamíferos reservorios de *Babesia microti* se desarrolló un estudio en Polonia. El muestreo de reservorios fue desarrollado en tres localidades diferentes dentro de este país: Katowice (mayo de 1996); Bialowieza (junio-agosto 1996) y Kosewo (octubre 1996). Para capturar a los animales se utilizaron trampas de captura viva, ya que posteriormente a la toma de muestra serían liberados. La extracción de sangre fue realizado de la cola de los animales para después obtener un extendido en lámina, posteriormente a esto la lámina fue fijada, coloreada con Giemsa y observada a microscopio.

Se capturaron 191 mamíferos pequeños que pertenecen a 11 especies diferentes como: *S. araneus*; *S. minutus*; *N. fidiens*; *N. anomalus*; *C. glareolus*; *M. arvalis*; *M. agrestis*; *M. oeconomus*; *A. flavicollis*; *A. agrarius*; *M. musculus*. En Katowice fueron atrapados 21 individuos de los cuales uno (4.76%) presento infección por *Babesia* y este pertenece a la especie de *M. agrestis*. Para Bialowieza se capturaron 119 individuos de los cuales tres (2.52%) presentaron *Babesia* y estos perecieron a una sola especie *M. oeconomus*. En Kosewo se capturaron un total de 51 individuos y ninguno presento *Babesia*. En todo el estudio se determinó que el 2.09% (cuatro individuos) del total de individuos estuvo infectado con *Babesia* y que las especies con mayor infección fueron *M. oeconomus* con 3 infectados de un total de 17 individuos. Dos *M. agrestis* fueron capturados y solo 1 presento infección por *B. microti* ⁽⁸⁾.

Este estudio indico a grandes rasgos la presencia de hemoparásitos con diferencias notables según el tipo de especie, indicando que la variedad de especies que actúan como reservorios también juega un rol importante en la presencia de patógenos, con este fin se evaluó la presencia de

patógenos sanguíneos en la especie *C. glareolus* alrededor del lago Luknajno (reserva natural) en la región de Lago Mazuria Polonia. El muestreo se realizó en los años de 1997, 1998 y 1999 entre los meses de noviembre- marzo y marzo-noviembre dividido en 3 sesiones (marzo y comienzos de junio; finales de junio y agosto y septiembre y noviembre) el muestreo fue de cuatro días con intervalos de cuatro semanas, para esto se construyeron trampas de captura viva de madera con piso de metal las cuales se ubicaron en intervalos de cada 10m ó 15m lineales.

Todos los animales capturados fueron identificados y se les tomo medidas morfométricas. La toma de muestra para frotis sanguíneo se realizó de la vena principal de la cola. Después de esto los animales fueron marcados para evitar su recaptura y liberados cerca del lugar capturado.

El frotis de sangre recolectada fue fijada con metanol y teñida con Giemsa para después ser examinada microscópicamente. El reporte para *B. grahamii*, *B. microti* y *Haemobartonella* spp. se evaluaron en 1000 glóbulos rojos y posteriormente se reportaron parásitos en 100 glóbulos rojos, para el caso de *Trypanosoma* spp. se reportó número de parásitos en 100 glóbulos rojos.

Se capturaron un total de 420 *C. glareolus* de los cuales el 63.1% presento *Haemobartonella* spp. siendo este el patógeno más común, no se encontró diferencia significativa de su presencia según el sexo (machos 65.1% y hembras 60.9%). El 27.4% de *C. glareolus* estuvo infectado con *Bartonella grahamii* siendo las hembras las más infectadas con 31.2% contra un 23.9% de los machos. Hubo infección por *Hepatozoon erhardovae* en un 31.4% y su presencia en machos estuvo en un 31.2% y en hembras en un 31.7% no existiendo una diferencia significativa según el sexo. El 15.0% presento *Trypanosoma evotomys*, su presencia según el sexo fue de un 15.15 en los machos y un 14.9 en hembras. Solo el 1.0% presento *B. microti* y el 1.4% se presentó en machos y solo el 0.5% en hembras ⁽⁹⁾.

Para tratar de evaluar la prevalencia de estos patógenos en otras especies, se realizó un estudio paralelo a este, en la misma zona que el muestreo anterior (lago Luknajno), pero en este se evaluó al *Microtus arvalis* como reservorio natural de posibles patógenos sanguíneos. La captura fue elaborada en los mismos puntos que el estudio anterior y se utilizaron las mismas trampas, elaboradas de madera con base de metal y fueron ubicadas de la misma manera. La extracción de muestra también fue similar a la anterior. El tiempo de muestreo se realizó de forma paralela al anterior y solo se le adiciono un muestreo en el año 2000.

En este estudio se capturo un total de 321 ejemplares de M. arvalis en todo el periodo de cuatro años de muestreo (1997-2000).

La prevalencia de patógenos en sangre fue de 63.9% de Haemobartonella sp. Siendo este el patógeno más abundante, su prevalencia según el sexo fue de 61.4% en macho y 66.1% en hembras. La presencia de Bartonella spp. estuvo en un 27.7% de las muestras, estando presente en 26.8% de los macho y 28.6% de las hembras. La presencia de Trypanosoma sp. Fue de 8.4% y su diferencia según el sexo fue de 9.8% para los machos y un 7.1% para las hembras. La presencia de Hepatozoon lavieri fue de 3.1% siendo este el patógeno con más baja presencia en este estudio, su presencia en machos fue de 2.0% y en hembras fue de 4.2% ⁽¹⁰⁾.

Los animales silvestres en su gran mayoría son reservorios de enfermedades zoonóticas y su uso indiscriminado como mascotas aumenta el riesgo de transmisión enfermedades zoonóticas conocidas o emergentes. Con el propósito de conocer las enfermedades con mayor transmisión y riesgo para el hombre, se realizó un estudio de revisión de las enfermedades más frecuentes transmitidas desde mascotas al hombre en todo el mundo, a partir de casos clínicos de pacientes humanos. En este estudio se recolectaron 57 casos clínicos de pacientes diagnosticados con alguna enfermedad zoonótica, de estos casos clínicos, 15 aves y tres mascotas clasificadas como otras para este estudio transmitieron Psittacosis, tres hámster y una de especie desconocida transmitieron LCMV, cinco roedores Pox virus, 2 roedores y una mascota de especie desconocida transmitieron Leptospirosis, un de la clasificación gato/perro, un hámster, dos erizos y dos de especie desconocía transmitieron Ringworm, una mascota de la clasificación gato/perro, un erizo, un roedor, cuatro tortugas y cinco de otras especies fueron los causantes de la transmisión de salmonelosis. El resto de animales transmitieron enfermedades clasificadas como otras enfermedades ⁽¹¹⁾.

La transmisión de enfermedades zoonóticas desde animales silvestres al hombre es muy frecuente y generalmente son transmitidas desde mamíferos pequeños como los roedores, quirópteros y otros. En la Patagonia norte de Argentina específicamente en la provincia de Neuquén se realizó un estudio retrospectivo para evaluar la presencia de anticuerpos contra el virus Andes Linaje sur (Hantavirus) que en esta zona es responsable de la fiebre hemorrágica con síndrome renal (FHSR) y el síndrome cardiopulmonar por hantavirus (SCPH) en humanos, el cual es transmitido desde el roedor sigmodontino, Oligoryzomys longicaudatus.

Para este estudio se capturaron 483 roedores en 2 muestreos, el primero entre septiembre del 2001 y agosto del 2002 y el segundo entre febrero 2004 y diciembre del 2005. Los roedores capturados fueron pesados, clasificados como adultos, sub adultos o juveniles, además se recolectó información de lesiones y se determinó el sexo y edad reproductiva para cada animal. Para la determinar la presencia de anticuerpos se utilizaron pruebas de ELISA del suero extraída de la sangre de los animales. La sangre fue extraída del seno retro-orbital del ojo.

*Del total de animales capturados solo se analizó a 409 individuos *O. longicaudatus* de los cuales solo 28 individuos (7.1%) presentaron anticuerpos contra el AND (virus Andes Linaje sur). 27 de los 28 animales que fueron positivos eran machos adultos (machos adultos analizados 189), siendo la seroprevalencia para este grupo de un 14.8%. Además se determinó que las variables de peso y la presencia de heridas aumenta la probabilidad de presentar seroprevalencia en individuos adultos. La presencia de anticuerpos contra el AND es 5 veces mayor en adultos heridos que en sanos y es hasta 1,2 veces más probable su presencia por el incremento en una unidad de masa corporal)⁽¹²⁾.*

*En Colombia (departamento de Tolima) se efectuó un estudio entre diciembre del 2006 y septiembre de 2008 con la finalidad de encontrar posibles riesgos para la transmisión de *Leishmania*. Este estudio se realizó en dos partes.*

*La primera parte era evaluar los riesgos asociada con la transmisión peridoméstica de posibles reservorios, la captura de estos se efectuó dentro de los primeros 100m alrededor de las casas, dentro del centro poblado de Agua Bonita y Irco dos Aguas. La segunda parte fue evaluar riesgos con el aumento de *L. longiflocosa* en las casas de los centros poblados.*

*Se recolectaron muestras durante el 2006 y 2008 de las casas seleccionadas siempre contando con el consentimiento y la presencia de un adulto. Para la captura de *L. longiflocosa* se utilizaron 17 trampas tipo CDC. Para la captura de mamíferos menores se utilizaron 2 modelos de trampas, el primero de modelo nacional y el otro modelo Sherman. Se pusieron las trampas en filas de 90m cada 45° alrededor de las casas, para cada fila se utilizaron trampas Sherman y se ubicó cada 10m, el modelo nacional se ubicó a 10m y 50m o de 30 y 90m respecto de la ubicación de la casa. Los animales capturados fueron identificados y luego sacrificados para recolectar muestras de piel con lesión las que fueron preservadas con*

70% de alcohol (3 mm de piel), adicionalmente se recolecto muestras de hígado. Todas las muestras fueron procesadas con el método de PCR y sus productos fueron analizados por electroforesis en geles de agarosa. Los flebotomos recolectados fueron de 1450 para Agua Bonita y 80 para Irco dos Aguas, los cuales tenían relación directa con el aumento de casos de *Leishmania* en la zona, ya que estudios anteriores mostraban a esta especie como una de las más bajas en número y ahora estaban presentes en más de 48 de 53 casas. Quince mamíferos fueron capturados en cada centro poblado de los cuales en Agua Bonita cuatro especies fueron positivas a *Leishmania*, un *Didelphis marsupialis* (Marsupialia: Didelphidae) , un *Oecomys trinitatus*, un *Zygodontomys brunneus* y un *Sigmodon bispidus* (Rodentia: Muridae), representando el 27% de todos los animales capturados para esta zona. Para la comunidad de Irco dos Aguas solo un mamífero fue positivo (*Zygodontomys brunneus*) representando el 6.7% del total de muestras procesadas para esta comunidad ⁽¹³⁾.

2.1.2. ANTECEDENTES NACIONALES

Para hallar a las principales enfermedades zoonóticas presentes en roedores (*Y. pestis* y *Bartonella* spp.), se realizó un estudio en el departamento de Cusco- Perú entre el 2010 y el 2011 capturando un total de 28 roedores en la comunidades de Alto Ivochote, Aguas Calientes y Yomentoni en la provincia de la convención. La captura fue realizada en zonas intradomiciliarias y extradomiciliarias. Los animales capturados fueron sacrificados para colectar muestras de bazo y posteriormente se extraiga ADN para realizar pruebas de PCR. Para detectar *Bartonella* spp. se utilizó los cebadores CS443f y CS1210r y para realizar el tamizaje de *Y. pestis* se utilizó los cebadores Yp1 y Yp2, obteniendo un prevalencia de 17.9% para *Y. pestis*, un 21.4% para *Bartonella* spp. y un 10.7% de infecciones mixtas. Más del 50% de roedores positivos fueron de la comunidad de Aguas Calientes y en solo dos especies capturadas (*Hylaeamys perenensis* y *Oecomys* spp), el 100% de roedores capturados para esta comunidad fueron positivos, además se determinó que las infecciones con *Bartonella* spp. y *Y. pestis* son comunes en las especies *Hylaeamys perenensis* y *Oecomys* spp. Por otro lado existe una baja prevalencia de ambas infecciones en la especie *Rattus rattus* con 3 individuos infectados de un total de 15 con *Y. pestis* y solo uno con *Bartonella* spp.⁽¹⁴⁾.

Para determinar el impacto que podría tener la salud del ser humano al explorar zonas tropicales poco conocidas, se desarrolló un estudio en la cuenca Amazónica del Perú, entre los departamentos de Madre de Dios y Puno, poco después de la construcción de la carretera interoceánica, en el periodo octubre del 2009 y octubre del 2010, el estudio tuvo como objetivo evaluar la presencia de del virus Andes Hantavirus y evaluar sus variantes en roedores. Para la captura de roedores se emplearon trampas de captura viva y se ubicaron en seis sitios diferentes a lo largo de la carretera, al final del periodo de captura se obtuvieron un total de 362 roedores de los cuales se recolectaron características morfológicas para la identificación de especie y posteriormente fueron sacrificados para obtener muestras de sangre, hígado, corazón, bazo, pulmón y riñón. Todas las muestras colectadas fueron almacenadas en nitrógeno líquido y solo el hígado fue fraccionado en dos partes, una parte fue almacenada en nitrógeno líquido y la otra en etanol absoluto. La muestra en etanol absoluto se utilizó para la confirmación de especie por PCR.

Con las muestras de sangre se realizaron pruebas de ELISA por IgG, posteriormente a todas las muestras reactivas pasaron a confirmarse por medio de una PCR- Anidado de transcripción reversa para los segmentos pequeños(S) 434-pb y los segmentos 296 y 242 pb y los segmentos medianos (M) de la G1 Y la G2.

*Se identificaron a 14 especies de las cuales el 42,8% fue *O. microtis*, el 13,5% *N. lenguarum* , 11,3% *Hylaeamys spp.* , 9,7% *E. nitidus* y el 9,4% *N. spinosus*. Seis roedores dieron positivo por IgG-ELISA de los cuales solo dos fueron confirmados por RT-PCR. Las muestras positivas fueron recolectadas de la especie *N. spinosus* y estas fueron capturadas a 80 km de puerto Maldonado. El análisis filogénico indico una variante similar a CASV y el CASV 2 reportada en Brasil y TUNV reportada en Bolivia. El reporte de esta enfermedad es en baja tanto en roedores y humanos, por lo que es difícil estimar su presencia real, ya que cursa con infecciones asintomáticas ⁽¹⁵⁾.*

2.2. BASES TEÓRICAS

2.2.1. Zoonosis:

Etimológicamente deriva de dos raíces griegas zoo: animal y gnosis: enfermedad. Las infecciones zoonóticas son enfermedades transmitidas de animales vertebrados a personas de forma natural por inhalación, ingestión o inoculación. Su análisis comprende tanto el ciclo humano como el animal. Las infecciones zoonóticas comprenden toda una gama de microorganismos como bacterias, virus, parásitos, hongos y otros ⁽¹⁶⁾⁽¹⁷⁾.

En 1855 se utilizó por primera vez el término zoonosis por el médico Alemán Handbuch der Speziellen quien realizó estudios para relacionar al cerdo con la triquinosis humana. Más tarde la FAO/OMS (1951 y 1959) clasificó a las enfermedades zoonóticas como “aquellas enfermedades e infecciones que se transmiten de forma natural entre los animales vertebrados y el hombre y viceversa”. En este informe excluye a todo proceso originado a partir de toxinas u otros compuestos que pueden generar alergias o que puedan complicar la salud humana ⁽¹⁸⁾.

La existencia de patógenos para el hombre se estima en 1.415 de microorganismos de estos alrededor del 61%-65% son microorganismos zoonóticos de los cuales más del 12 % son patógenos emergentes. La zoonosis puede ser clasificada según su ciclo de transmisión como sinantropicas o exantropicas. La zoonosis sinantropica tiene que ver más con ciclo urbano mientras que la zoonosis exoantropica tiene un ciclo selvático ⁽¹⁶⁾⁽¹⁸⁾.

Los diferentes cambios a nivel mundial en las últimas décadas tuvieron como consecuencia el aumento de enfermedades emergentes y reemergentes. El 75% de estas nuevas enfermedades fueron de tipo zoonótico (43.6% virus; 23.4 bacterias; 20.4 protozoos más helmintos; 12,6% hongos) ⁽¹⁹⁾⁽¹⁸⁾.

Hoy en día las enfermedades zoonóticas son un fenómeno de emergencia por su relación con enfermedades emergentes y reemergentes. Para la OMS las enfermedades emergentes son consideradas como aquellas que se describen por primera vez, las que expanden su localización inicial y a las que modifican sus características y son más difíciles de erradicar (resistencia a los antibióticos). Para las enfermedades reemergentes considera a aquellas enfermedades que estuvieron a punto de ser

erradicadas pero que hoy en día constituyen un problema de salud pública (18).

2.2.2. Roedores:

Los roedores son los mamíferos pequeños más abundantes en la tierra y de los más sofisticados en cuanto a su forma y función. En Latinoamérica se tiene referencia de 86 géneros, los cuales están distribuidas por lo menos en 342 especies, de las cuales se conoce muy poco o casi nada de su relación taxonómica. Existe una gran variedad de roedores distribuidos en diferentes ambientes, como bosques densos, bosques secos, urbes, huertos, entre otros. Su tamaño es muy variado ya que podemos encontrar desde roedores muy pequeños como los *Rizomas minutus* hasta muy grandes como el *Hydrochoerus hydrochaeris*.

Los roedores son mamíferos que se adaptan de manera muy rápida a los ecosistemas cambiantes, por ejemplo se encontró a roedores camperos en terrenos rocosos y a roedores selváticos en huertos y pequeñas urbes. El aumento significativo de su población en diversas aéreas geográficas se debe al aumento de alimentos, generalmente esto ocurre en época de cosecha donde logran invadir almacenes e incluso casas, seguidamente la población de animales disminuye de manera considerable esto se puede deber a que agotan sus reservas de alimentos o debido a enfermedades.

Los roedores son animales de importancia para la salud pública ya que pueden ser portadores de diferentes patógenos humanos que podrían ser transmitidos a los humanos, como por ejemplo: *Yersinia pestis*, *Leptospira*, *Leishmania*, *Trypanosoma* y otros (20).

2.2.3. Quirópteros:

Los quirópteros también llamados murciélagos son mamíferos pequeños que han conquistados diferentes ambientes, siendo además los mamíferos más abundantes después de los roedores.

Su nombre hace referencia a manos que se transforman en alas (cheiros: monos, pteron: alas). Los quirópteros son animales nocturnos capaces de volar gracias a sus dedos modificados entre los cuales presenta una fina membrana con presencia de irrigación sanguínea, cuatro dedos modificados son los que generan el ala y un quinto dedo libre (pulgares) sobresale del ala. Los quirópteros están clasificados dentro de los animales que procrean generando una cría viva el cual es amamantado gracias a que poseen glándulas mamarias. Según el tamaño de sus alas

pueden ir a mayor o menor velocidad, por ejemplo los que poseen alas cortas poseen mayor velocidad por lo que son generalmente son insectívoros y los que poseen un ala más grandes poseen mayor estabilidad y pueden revolotear entre arbustos para conseguir frutos. Los quirópteros poseen un fémur con rotación en 180° con relación a la de los humanos lo que le permite dormir de cabeza generando mayor peso en sus uñas.

El tamaño de estos animales es variable, estos pueden llegar a medir hasta 1.5m de envergadura (con las alas abiertas) y llegar a pesar hasta un kilogramo como los *Pteropus spp.* o ser tan pequeños como los *Craseonycteris thonglongyai* que miden 12.5 cm y pesar 3 gramos aproximadamente.

Los quirópteros utilizan una serie de señales para poder relacionarse y ubicarse, como señales visuales, olfativas y auditivas. Los ojos poco desarrollados en los quirópteros generalmente les sirven para ubicarse en áreas extensas, mientras que otros sentidos como la olfativa y auditiva son más desarrollados. El sistema auditivo es el encargado de recibir señales de retorno de los ecos emitidos por el individuo (ecolocalización), lo que proporciona es la descripción de los objetos según tamaño y forma, estos chillidos están en una ultrafrecuencia de 9 y 200 k-hz comparados con los sonidos que puede percibir el hombre de hasta 20khz. El olfato es otro de sus sentidos más desarrollados ya que con estos son capaces de encontrar su alimento a grandes distancias y también encontrar o ubicar a sus crías ⁽²¹⁾.

Los quirópteros están clasificados dentro del orden Chiroptera y en esta se encuentran dos subórdenes el Yinpterochiroptera y el Yangochiroptera y dentro de estas se encuentran clasificadas 21 superfamilias ,llegando a tener alrededor de 1000 especies aproximadamente, esto es proporcional a la suma de todas las especies de mamíferos existentes con excepción de los roedores . Los quirópteros están distribuidos a nivel mundial con excepción de los polos y en el Perú existen alrededor de 160 especies distribuidas en ocho familias de las cuales solo tres especies son hematófagos ⁽²²⁾.

Los quiróptero son de importancia económica y social en el mundo, ya sea por sus beneficios o por los aspectos perjudiciales que traen como consecuencia (enfermedades) ⁽²³⁾.

2.2.3.1. Quirópteros Hematófagos:

Existen tres especies de quirópteros hematófagos en nuestro país, ellos pertenecen a la familia *Phyllostomatidae*, sub familia *Desmodinae* y especies *Diphylla ecaudata*, *Desmodus rotundus* y *Diaemus youngii*.

Los quirópteros hematófagos poseen incisivos superiores más grandes que los caninos, la hoja nasal es rudimentaria, membrana interfemoral reducida y no presenta cola. Estos son animales que habitan climas húmedos con bosques frondosos, pastizales abiertos o ambientes mixtos, la temperatura que prefieren es alrededor de 22°C. Generalmente los quirópteros hematófagos no recorren grandes distancias por lo que su hábitat es de aproximadamente 14 km a la redonda, en este terreno encuentra disponibilidad de presas y lugares en las cuales refugiarse como troncos, cuevas e inclusive habitan debajo de los puentes y casas abandonadas en grandes ciudades ⁽²²⁾.

Los quirópteros hematófagos son la principal causa de enfermedades zoonóticas, ya que transmiten diferentes patógenos hacia los hombres, como por ejemplo la rabia, tripanosomiasis y otros.

2.2.3.2. Quirópteros no Hematófagos

Los quirópteros no hematófagos juegan un papel muy importante en el ecosistema ya que estos son capaces de regular la población de insectos, así como también diseminar el polen o transportar semillas de distintas plantas.

Los quirópteros que están en esta clasificación tienen modificaciones según el tipo de alimentación, por ejemplo el insectívoro tiene las alas más estrechas lo que le proporciona mayor velocidad y movimiento. Los nectarívoros tienen la lengua más larga como por ejemplo el *Glossophaga soricina* que posee una lengua tres veces el tamaño de su hocico (76 mm) y es casi el total de su longitud corporal (80mm). Los frugívoros presentan mayor línea dentaria y además un paladar más ancho lo que les confiere mayor presión en su mordida, también presenta un sistema digestivo más grande, entre cinco y nueve veces su tamaño lo que le permite soportar la presión del jugo de los frutos en su interior ⁽²¹⁾.

La diferencia básica con los quirópteros hematófagos radica en que los quirópteros no hematófagos poseen incisivos superiores más pequeños que los caninos, hoja nasal prominente y triangular, membrana interfemoral reducida y puede o no presentar una cola ⁽²²⁾.

2.2.4. Filarias

Las filarias son parásitos que se localizan principalmente en tejidos y cavidades de sus hospedadores vertebrados.

Comprenden la superfamilia filarioidea del orden Spirurida. Son nematodos delgados y largos, con estadios larvarios L1, L2, L3 y como estadio larvario final el parásito adulto.

La enfermedad que produce en los vertebrados es llamada filariosis y esta distribuida principalmente en las zonas tropicales y subtropicales con alta temperatura y humedad.

El ciclo del parásito comienza cuando el parásito adulto eliminan el primer estadio larvario L1 o microfilaria al torrente sanguíneo huésped, en el cual pasa un largo tiempo antes de ser ingerido por el artrópodo hematófago. Las larvas L1 se desarrollan en el interior del vector en los tubulos de Malpighi o células musculares, donde pasa por el estadio 2 (L2) y 3 (L3) o estadio infestivo que se transmite a un nuevo hospedador después de que el vector vuelva a picar nuevamente. De esta manera la distribución de filarias no solo depende del hospedador sino también de los vectores⁽²⁶⁾.

2.2.4.1 Género *Litomosoides*

Las filarias del género *Litomosoides* (Onchocercidae: Onchocercinae) parasitan principalmente a roedores (Rodentia), murciélagos (Chiroptera) y marsupiales (Marsupialia).

Fue descrita por primera vez en 1931 por Chandler, cuando describió a *L. sigmodontis* en la cavidad torácica de un *Sigmodon hispidus* en Texas. Posteriormente considero como representante del género *Litomosoides* a *Filaria circularis* von Linstow, hallada en un *Hesperomys* sp. en 1899.

El género *Litomosoides* es propio del continente Americano y esta ampliamente distribuido desde el norte de Texas en los Estados Unidos hasta Santa en Argentina. Se tiene descritas alrededor de 30

especies que parasitan la cavidad abdominal y torácica de roedores, marsupiales y murciélagos.

Este género presenta cutícula con finas estrías transversales, cavidad bucal tubular con capsula cilíndrica redondeada y engrosada. El esófago es moderadamente largo y diferenciado, además se puede diferenciar a la hembra por tener la cola larga y aguzada, a diferencia del macho que posee una cola larga con papilas precloacales que pueden estar o no presentes.

Las filarias del género *Litomosoides* parasitan a un amplio número de animales, de las cuales se han descrito que tres especies parasitan marsupiales, 14 a murciélagos y 22 a roedores.

En América del Sur se han descrito solo seis especies en Venezuela, diez en Colombia, tres en Perú, cinco en Bolivia, ocho en Argentina, once en Brasil y una en Uruguay, siendo el sur del continente Americano el más poblado por este género ⁽²⁶⁾ ⁽²⁷⁾.

2.2.5 Bartonella

El género incluye a 16 especies, pero estudios genómicos revelan que existen diferencias notables entre *Bartonella bacilliformes* y el resto de especies.

El género está compuesto por bacilos pequeños gramnegativos (0,3 a 0,5 x 1 a 1,7 μm) aerobios y con requerimientos nutricionales exigentes.

La especie *B. bacilliformes*, es la responsable de Bartonelosis, que comienza con una enfermedad aguda febril (fiebre de la Oroya) y es seguida por una forma cutánea (verruca).

El área geográfica de la bartonelosis comprende Perú, Ecuador y Colombia, lugares donde existe la presencia del vector *Phlebotomus*, que ingresan a un organismo después de una picadura por un vector infectado, en sangre se multiplican y penetran en los eritrocitos. Este proceso aumenta la fragilidad celular, y además facilita la eliminación por el sistema retículo endotelial, lo que genera anemias agudas. Posteriormente aparece el estadio crónico con el desarrollo de la inmunidad humoral. En el estadio crónico aparecen nódulos cutáneos de 1 a 2 cm que pueden persistir de meses a años ⁽²⁸⁾.

2.2.6 Tripanosomiasis

La tripanosomiasis es una enfermedad causada por protozoarios flagelados denominados *Trypanosoma* sp. los cuales tienen como hospedadores definitivos a los vertebrados, con la única excepción de los peces. En el hospedador se encuentra principalmente en sangre, tejidos y fluidos, los cuales para completar su ciclo necesitan de distintas especies de artrópodos.

Se clasifica taxonómica dentro del Reino Protista, Subreino Protozoa, Phylum Sarcomastigophora, Subphylum Mastigophora, Clase Zomastigophorea, Orden Kinetoplastida, Familia *Trypanosomatidae*, Género *Trypanosoma*.

El ciclo del *Trypanosoma* sp. puede incluir las etapas de trypomastigote, epimastigote, promastigote y amastigote, dependiente del hospedador final.

Trypomastigote: es la forma infectante para el hospedador vertebrado, y se puede encontrar tanto en el vector como en el hospedador vertebrado. Tiene una forma lanceolada, con presencia de kinetoplasto situado en la parte posterior. La mayoría presenta una membrana ondulante y flagelo libre. El tamaño total aproximado es de 15 a 20 μm de longitud.

Epimastigote: esta principalmente en los artrópodos, aunque en algunas especies aparece como parte del ciclo en hospedadores vertebrados. A diferencia del trypomastigote el flagelo y el kinetoplasto se encuentran en la región anterior en este estadio. La longitud total del epimastigote es aproximadamente de 20 μm .

Promastigote: estadio presente estrictamente en artrópodos. Los promastigotes carecen de membrana ondulante y el kinetoplasto y axonema están ubicados en la parte anterior.

Amastigote: estadio típico en vertebrados. Su forma es ovalada o redonda, no cuenta con flagelo y está reducida en una pequeña fibrilla. Su longitud es de 2 a 4 μm y están agrupados en pseudoquistes dentro de los tejidos blancos (principalmente en corazón y cerebro).

En humanos se estima que existe alrededor de 16 a 18 millones de personas infectadas en los países endémicos de *T. cruzi* en el mundo.

En America la enfermedad de Chagas o Tripanosomiasis americana es considerada como una enfermedad de las áreas rurales. Actualmente los cambios socio-economicos hacen que las personas migren a zonas donde no existen vectores, pero el riesgo se eleva debido a transfusiones sanguíneas de personas asintomáticas, siendo esta ultima considerada como la forma mas infectante después de la vectorial.

Estudios conducidos en animales silvestres son conducidos a determinar posibles contagios con animales domesticos. En el Perú se reporto la presencia de *Trypanosoma* sp.en un sajino (Navarrete et al.2000), y posteriormente en Brasil (2002) se identifico a animales silvestres infectados con *T. cruzi*, los cuales fueron identificados en marsupiales, roedores, carnívoros, primates y murciélagos ⁽²⁹⁾.

2.3. DEFINICIÓN DE TÉRMINOS BÁSICOS

- Quirópteros: animal o mamífero volador, de hábitos nocturnos, cuyas alas están provistas de una membrana o patagio que se extiende entre el cuello y sus extremidades
- Roedores: animal mamífero, de pequeño tamaño, que tiene los incisivos preparados para roer.
- Sinantrópico: animales que viven próximo a residencias humanas.
- Reservorio: Organismo que aloja a algún patógeno que pueda causar una enfermedad contagiosa y que pueda propagarse en organismos diferentes.
- Zoonosis: Enfermedad propia de los animales que se transmite a los humanos.
- Patógenos: Microorganismo con capacidad de producir una enfermedad.

CAPÍTULO III

PRESENTACION, ANALISIS E INTERPRESTACION DE RESULTADOS

3.1. RESULTADOS

Al finalizar el muestreo de mamíferos pequeños en cuatro comunidades nativas (Palmiche, Pachacutec, Mayuriaga y Nuevo San Martin) de la amazonia peruana, se capturo en total a 175 animales, de los cuales 125 fueron quirópteros y 50 roedores.

La toma de muestra tuvo los siguientes resultados:

	Papel Filtro	Gota gruesa y frotis sanguíneo
Quirópteros	125	115
Roedores	50	39

La identificación taxonómica revelo que los quirópteros capturados pertenecen a 16 especies, 13 géneros, 5 subfamilias y 2 familias. En roedores se identificaron a 5 especies, 5 géneros, 3 subfamilias y 3 familias.

Tabla 1: Identificación taxonómica de los hospederos (n=175)

Orden Taxonómico	Familia	Sub-familia	Género	Especie	n (%)	
Rodentia	Muridae	Murinae	<i>Ratus</i>	<i>ratus</i>	5 (10.0)	
	Cricetidae	Sigmodontinae	<i>Oligoryzomys</i>	<i>microtis</i>	27 (54.0)	
			<i>Hylaeamys</i>	<i>perenensis</i>	14 (28.0)	
			<i>Oecomys</i>	<i>bicolor</i>	2 (4.0)	
	Echimyidae	Eumysopinae	<i>Proechimys</i>	<i>brevicauda</i>	2 (4.0)	
Total					50 (100.0)	
Chiroptera	Vespertilionidae	Vespertilioninae	<i>Eptesicus</i>	<i>brasilensis</i>	1 (0.8)	
	Phyllostomidae	Stenodermatinae	<i>Platyrrhinus</i>	<i>brachycephalus</i>	2 (1.6)	
			<i>Artibeus</i>	<i>planirostris</i>	15 (12.0)	
				<i>lituratus</i>	5 (4.0)	
	<i>obscurus</i>	4 (3.2)				
		Carollinae	<i>Carollia</i>	<i>perspicillata</i>	10 (8.0)	
				<i>castanea</i>	1 (0.8)	
				<i>diphylla</i>	16 (12.8)	
		Desmodontinae	<i>Diaemus</i>	<i>youngi</i>	5 (4.0)	
				<i>Desmodus</i>	<i>rotundus</i>	53 (42.4)
				<i>Phyllostomus</i>	<i>hastatus</i>	3 (2.4)
		Phyllostominae	<i>Chiroderma</i>	<i>villosum</i>	1 (0.8)	
				<i>Sturnira</i>	<i>lilium</i>	3 (2.4)
				<i>Lophostoma</i>	<i>silvicolum</i>	2 (1.6)
				<i>trachops</i>	<i>cirrhosus</i>	2 (1.6)
<i>Molossus</i>				<i>molossus</i>	2 (1.6)	
Total					125 (100.0)	

El muestreo se realizó por cuatro días en las comunidades de Palmiche y Pachacutec, y en las comunidades de Mayuriaga y Nuevo San Martín por 3 y 2 días respectivamente. Esto fue determinante en roedores, pero no en quirópteros, ya que Mayuriaga tuvo la tasa de captura más alta después de Pachacutec.

Tabla 2: Distribución de los hospedadores en base a la familia, sexo y edad a la que pertenece

Características		Lugar de colecta				Total n (%)	
		Pachacutec n (%)	Mayuriaga n (%)	Palmiche n (%)	Nuevo San Martin n (%)		
Rodentia	Familia	Cricetidae	14 (32.6)	-	29 (67.4)	-	43 (100.0)
		Muridae	-	5 (100.0)	-	-	5 (100.0)
		Echimyidae	-	-	2 (100.0)	-	2 (100.0)
	Sexo	Macho	6 (23.1)	2 (7.7)	18 (69.2)	-	26 (100.0)
		Hembra	8 (33.3)	3 (12.5)	13 (54.2)	-	24 (100.0)
	Edad	Juvenil	3 (60.0)	1 (20.0)	1 (20.0)	-	5 (100.0)
		Sub-adulto	2 (66.7)	1 (33.3)	-	-	3 (100.0)
		Adulto	9 (21.4)	3 (7.1)	30 (71.4)	-	42 (100.0)
	Total n (%)		14 (28.0)	5 (10.0)	31 (62.0)	-	50 (100.0)
Chiroptera	Familia	Vespertilionidae	1 (100.0)	-	-	-	1 (100.0)
		Phyllostomidae	36 (29.5)	33 (27.1)	27 (22.1)	26 (21.3)	122 (100.0)
		Molossidae	-	1 (50.0)	1 (50.0)	-	2 (100.0)
	Sexo	Macho	17 (29.8)	18 (31.6)	13 (22.8)	9 (15.8)	57 (100.0)
		Hembra	20 (29.4)	16 (23.5)	15 (22.1)	17 (25.0)	68 (100.0)
	Edad	Sub-adulto	1 (50.0)	1 (50.0)	-	-	2 (100.0)
		Adulto	36 (29.3)	33 (26.8)	28 (22.8)	26 (21.5)	123 (100.0)
		Total n (%)	37 (29.6)	34 (27.2)	28 (22.4)	26 (20.8)	125 (100.0)

Tabla 3: Resultados obtenidos por PCR y microscopía para tripanosomátidos

Orden Taxonómico	PCR positivo para Tripanosomátidos			Microscopía Compatible a <i>Trypanosoma</i> sp.					
	n	Tripanosomatidos n (%)	<i>T. cruzi</i> n (%)	n	<i>Trypanosoma</i> sp. n (%)	<i>T. cruzi</i> n (%)	Media de la densidad parásitos/Lámina	Mediana	Densidad min-max
Roedores	50	16 (32.0)	-	39	-	-	-	-	-
Quiropteros[#]	125	45 (36.0)	5 (4.0)	115	43 (37.4)	2 (1.8)	4.8	3	1 - 25
Hematofagos	74	28 (37.8)	2 (2.7)	68	29 (42.7)	1 (3.5)	5	3	1 - 25
No Hematofagos	51	17 (33.3)	3 (5.9)	47	14 (29.8)	1 (7.1)	4.4	2	1 - 20

T de student para comparación de proporciones no mostro diferencias significativas entre roedores y quirópteros para la presencia de tripanosomátidos ($p=0.616$)

Tabla 4: Presencia de patógenos en comparación a la edad y sexo del hospedero

Características		n	PCR		Microscopía		
			Tripanosomatidos n (%)	n	Cocobacilos n (%)	Microfilarias n (%)	
Quiropteros	Sexo	Macho	57	28 (49.1)	52	8 (15.4)	5 (9.6)
		Hembra	68	17 (25.0)	63	7 (11.1)	3 (4.8)
		Juvenil	-	-	-	-	-
	Edad	Sub-adulto	2	-	-	-	-
		Adulto	123	45 (36.6)	115	15 (13.0)	8 (7.0)
Roedores	Sexo	Macho	26	7 (26.9)	21	-	-
		Hembra	24	9 (37.5)	18	-	-
		Juvenil	5	1 (20.0)	5	-	-
	Edad	Sub-adulto	3	2 (66.7)	3	-	-
		Adulto	42	13 (31.0)	31	-	-

Tabla 5: Presencia de patógenos según el lugar de captura

Orden taxonómico	Comunidad Nativa	n	PCR		Microscopía	
			Tripanosomatidos n (%)	n	cocobacilos n (%)	microfilarias n (%)
Chiroptera	Mayuriaga	34	13 (38.4)	29	2 (6.9)	4 (13.8)
	Palmiche	28	11 (39.3)	27	6 (22.2)	1 (3.7)
	Pachacutec	37	12 (32.4)	33	6 (18.2)	0(0.0)
	Nuevo San Martin	26	9 (34.6)	26	1 (3.9)	3 (11.5)
Rodentia	Mayuriaga	5	3 (60.0)	5	-	-
	Palmiche	31	10 (32.3)	21	-	-
	Pachacutec	14	3 (21.43)	13	-	-

Tabla 6: características métricas del *Trypanosoma sp.* Observadas por microscopía

Medidas	n	Media	Mediana	DS	Min - Max	IC 95%
L	39	21.2	20.5	6.74	11.9 - 37.0	19.0 - 23.3
A	38	3.5	3.5	0.63	2.5 - 5.1	3.3 - 3.7
NA	37	9.3	8.02	4.16	2.9 - 18.1	7.9 - 10.7
NP	37	8.3	7.9	2.96	3.5 - 15.0	7.3 - 9.3
LN	39	3.3	3.1	0.93	1.7 - 6.1	3.0 - 3.6
LK	39	1	1	0.05	1.0 - 1.3	0.9 - 1.0
KN	33	2.4	2	1.94	0.7 - 9.6	1.7 - 3.1
KA	35	11	10.3	4.87	0 - 19.6	9.2 - 12.6
KP	35	5.6	5.4	3	1.3 - 13.7	4.5 - 6.6
KA	35	11	10.3	4.85	4.4 - 19.6	1.0 - 1.3

L= longitud total; A= Ancho; NA= núcleo a la parte anterior; NP= núcleo a la parte posterior; LN= longitud del núcleo; LK= longitud del kinetoplasto; KN= kinetoplasto al núcleo; KP= Kinetoplasto a la parte posterior; KA= Kinetoplasto a la parte anterior

Tabla 7: Características morfométricas de microfilarias observadas por microscopía.

n	Medidas				
	Longitud total		Ancho		Presencia de Mielina (%)
	Media	Min - Max	Media	Min - Max	
8	38.5	30.7 - 54.5	3.3	3.0 - 4.1	100.0

Tabla 8: Presencia de patógenos en comparación al orden taxonómico del hospedero

Características	Sub-familia	PCR			Microscopía			
		n	Tripanosomatidos n (%)	T <i>cruzi</i> n (%)	n	Cocobacilos n (%)	Filarias n (%)	
Chiroptera	Stenodermatinae	30	7 (23.3)	-	29	-	4 (13.8)	
	Caroliinae	11	4 (36.4)	-	10	3 (30.0)	2 (20.0)	
	Phyllostominae	7	5 (71.4)	3 (42.9)	7	1 (14.3)	-	
	Molossinae	2	1 (50)	-	1	-	-	
	hematofago	Desmodontinae	74	28 (37.8)	2 (2.7)	68	11 (16.2)	2 (2.9)
Rodentia	Murinae	5	3 (60.0)	-	5	-	-	
	Sigmodontinae	43	13 (30.2)	-	32	-	-	
	Eumysopinae	2	-	-	2	-	-	

Tabla 9: Reacción en cadena polimerasa (PCR) vs microscopía de gota gruesa para *Trypanosoma sp.* en quirópteros

Microscopía de Gota Gruesa	PCR		Total
	Positivo	Negativo	
Negativo	0	69 (98.6)	69
Positivo	44 (97.7)	2	46
Total	44	71	115

PCR como prueba de oro:

Sensibilidad: 97.7%

Especificidad: 98.6%

Tabla 10: Reacción en cadena polimerasa (PCR) vs microscopía de gota gruesa para *T. cruzi* en quirópteros

Microscopía de Gota Gruesa	PCR		Total
	Positivo	Negativo	
Negativo	0	44 (100.0)	44
Positivo	2 (100.0)	0	2
Total	2	44	46

PCR como prueba de oro:

Sensibilidad y Especificidad: 100%

Tabla 11: Reacción en cadena polimerasa (PCR) vs microscopía de gota gruesa para *T. cruzi* en Roedores (n= 39)

Microscopía de Gota Gruesa	PCR		Total
	Positivo	Negativo	
Negativo	14	25	39
Positivo	0	0	0
Total	14	25	39

3.2. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

La población de mamíferos pequeños solo presentara aleatoriedad en la captura de roedores, mas no en quirópteros, debido a que en este último se contaba únicamente con un permiso de colecta de 115 individuos, y las redes se ubicaron por conveniencia.

La finalidad del estudio fue determinar a los principales hemopatógenos humanos que utilizan a los roedores y quirópteros sinantrópicos como reservorios naturales, pudiendo comportarse posiblemente los quirópteros y roedores como fuente de infección para el humano. Tal es el caso de *T. cruzi* (Fárez-Vidal *et al.*, 2001), *T. evansi* (Powar *et al.*, 2006), Bartonella (Bai *et al.*, 2012), Filarias (Orihel and Eberhard *et al.*, 1998), entre otros.

La prevalencia de al menos un patógeno sanguíneo por microscopia fue de 37.7% (58/154), presentándose todas en muestras de quirópteros (50.43%).

La frecuencia de microfilarias en quirópteros hematófagos fue mayor que en quirópteros no hematófagos (2.5% vs 12.8%, $p < 0.042$), pero no se halló diferencias para *Trypanosoma* sp. ($p = 0.161$) o cocobacilos ($p = 0.230$).

La frecuencia de coinfección entre *Trypanosoma* sp. – cocobacilos fue de 4,3%, y la de *Trypanosoma* sp. – microfilarias de 2.6%.

Además la prevalencia de *Trypanosoma* sp. en quirópteros fue de 37.4% (43/115), la de microfilarias fue de 7.0% (8/115), y la de cocobacilos 13.0% (15/115). Lo que mostraría la diferencia amplia entre la prevalencia de *Trypanosoma* sp. en Europa con 15%, y la de cocobacilos con 45% (Bajer *et al.*, 2000). En Panamá se evaluó solo en *A. jamaicensis* llegando a alcanzar el porcentaje de infectados por tripanosomátidos al 10.2%, y el de filarias del género *Litomosoides* al 15.7% (Cottontail *et al.*, 2008)

El 37.4% (43/115) de las muestras fueron compatibles morfológicamente con *Trypanosoma* sp., y el 4.7% (2/43) de estas muestras fueron compatibles con *T. cruzi*. Estudios en marsupiales describen una prevalencia superior al 50% en países de Latinoamérica (Torrico *et al.*, 2013). La presencia de *T. cruzi* en quirópteros ha tomado mayor relevancia debido a que todos los linajes de *T.c. cruzi*, incluyendo el T.c bat son capaces de infectar a humanos (Ramirez *et al.*, 2013).

La prevalencia de Tripanosomátidos por nested PCR fue de 38.3% en quirópteros (microscopia 34.4%) y 35.9% en roedores. Para *T. cruzi* no se encontró diferencia entre microscopia y la nested PCR. Siendo las muestras compatibles morfológicamente con *T. cruzi* confirmadas por nested PCR. A diferencia de estudios en Bolivia donde el porcentaje de infección por tripanosomátidos en mamíferos menores fue del 15% tomando como referencia el cultivo, cuya sensibilidad es menor a la Nested PCR (Torrico *et al.*, 2013).

3.3. CONCLUSIONES

- La ocurrencia elevada de *Trypanosoma* sp. podría indicar la existencia de un ciclo silvestre en las comunidades de Loreto. Además se suma a esta hipótesis la presencia de vectores voladores (*Panstrogylus* sp.) en la amazonia peruana descrita por Cáceres y Troyes, en el 2002.
- La mayor presencia de microfilarias en quirópteros hematófagos posiblemente se deba al mayor contacto con fluidos sanguíneos.
- El hallazgo de cocobacilos podría indicar la presencia de *Bartonella* spp. en dichas comunidades, ya descrita en estudios anteriores (Bai, 2012).
- Es necesario realizar futuros estudios epidemiológicos en estas comunidades con un tamaño de muestra mayor, que permita una mejor estimación, inferencia y distribución de la prevalencia de los patógenos.

3.4. RECOMENDACIONES

- Es necesario realizar pruebas moleculares complementarias (secuenciamiento de ADN) para evaluar si los *T. cruzi* encontrados, son similares a los causantes de la enfermedad de Chagas en los humanos.
- Diferenciar por especie a los tripanosomátidos encontrados en los animales sinantrópicos, y evaluar si estos pueden infectar a los humanos y/o infectar a sus animales domésticos.
- Diferenciar a los *T. cruzi* positivos mediante DTUs (Discrete Typing Units) para conocer mejor el ciclo y subtipo de *T. cruzi* presente en las comunidades nativas peruanas.

FUENTES DE INFORMACIÓN

1. Young, H. S., R. Dirzo, et al. (2014). "Declines in large wildlife increase landscape-level prevalence of rodent-borne disease in Africa." Proc Natl Acad Sci U S A **111**(19): 7036-7041.
2. Seimenis, A. and D. Tabbaa (2014). "Stray animal populations and public health in the South Mediterranean and the Middle East regions." Vet Ital **50**(2): 131-136.
3. Lei, B. R. and K. J. Olival (2014). "Contrasting patterns in mammal-bacteria coevolution: bartonella and leptospira in bats and rodents." PLoS Negl Trop Dis **8**(3).
4. Youssef, A. I. and S. Uga (2014). "Review of parasitic zoonoses in egypt." Trop Med Health **42**(1): 3-14.
5. Espinoza JR, Terashima A, Herrera-Velit P, Marcos LA. Fasciolosis humana y animal en el Perú: impacto en la economía de las zonas endémicas. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública*. 2010;27(4):604-12.
6. Naquira C. Las zoonosis parasitarias: problema de salud pública en el Perú. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública*. 2010;27(4):494-7.
7. Karbowski G, Rychlik L, Nowakowski W, Wita I. Natural infections of small mammals with blood parasites on the borderland of boreal and temperate forest zones. *Acta theriologica*. 2005;50(1):31-42.
8. Karbowski G. The new data about zoonotic reservoir of Babesia microti. *Acta Parasitologica*. 1999;44(2):142-4.
9. Bajer A, Pawelczyk A, Behnke J, Gilbert F, Sinski E. Factors affecting the component community structure of haemoparasites in bank voles (*Clethrionomys glareolus*) from the Mazury Lake District region of Poland. *Parasitology*. 2001;122(01):43-54.
10. Pawelczyk A, Bajer A, Behnke J, Gilbert F, Sinski E. Factors affecting the component community structure of haemoparasites in common voles (*Microtus arvalis*) from the Mazury Lake District region of Poland. *Parasitology research*. 2004;92(4):270-84.
11. Halsby KD, Walsh AL, Campbell C, Hewitt K, Morgan D. Healthy animals, healthy people: zoonosis risk from animal contact in pet shops, a systematic review of the literature. *PLoS One*. 2014;9(2).
12. Piudo L, Monteverde MJ, Walker RS, Douglass RJ. Características de *Oligoryzomys longicaudatus* asociadas a la presencia del virus Andes (Hantavirus). *Revista chilena de infectología*. 2012;29(2):200-6.
13. Ocampo C, Ferro M, Cadena H, Gongora R, Perez M, Valderrama-Ardila C, et al. Environmental factors associated with American

- cutaneous leishmaniasis in a new Andean focus in Colombia. *Tropical Medicine & International Health*. 2012;17(10):1309-17.
14. Martin-Alonso A, Soto M, Foronda P, Aguilar E, Bonnet G, Pacheco R, et al. Bartonella spp. and Yersinia pestis reservoirs, Cusco, Peru: *Emerg Infect Dis*. 2014 Jun;20(6):1069-70. doi: 10.3201/eid2006.131194.
 15. Razuri H, Tokarz R, Gherzi BM, Salmon-Mulanovich G, Guezala MC, Albuja C, et al. Andes hantavirus variant in rodents, southern Amazon Basin, Peru. *Emerg Infect Dis*. 2014;20(2):257-60.
 16. Dabanch J. Zoonosis. *Revista chilena de infectología*. 2003;20:47-51.
 17. Naquira C. Las zoonosis parasitarias: problema de salud pública en el Perú. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública*. 2010;27(4):494-7.
 18. Ferri R. Zoonosis Emergentes. Zoonosis II Curso sobre Enfermedades Transmisibles entre los Animales y el Hombre' M Álvarez y E Rodríguez Ferri (Directores) Servicio de Publicaciones Universidad de León. 2002:29-47.
 19. Lonnie K. Enfermedades zoonóticas emergentes y reemergentes : desafíos y oportunidades. Facultad de veterinaria, universidad del estado de Michigan.
 20. Akodon O, Heteromys C. IMPORTANCIA DE LOS ROEDORES PARA LA SALUD PUBLICA EN SUDAMERICA1. *Boletín de la Oficina Sanitaria Panamericana*. 1973;75(8-12):127.
 21. Rocío L. Composición de la dieta de los murciélagos frugívoros y nectarívoros (Chiroptera: Phyllostomidae) en el parque nacional Grutas de Cacahuamilpa, Guerrero, México. Universidad Nacional Autónoma de México. 2012
 22. Quintana A, Sotelo R. Identificación de Quiropteros hematófagos y no hematófagos en las ciudades de Tobatí y Caacupé del departamento de cordillera-Paraguay. *Compendio de ciencias veterinarias*. 2011.
 23. Quintana H, Pacheco V. Identificación y distribución de los murciélagos vampiros del Perú. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública*. 2007;24(1):81-8.
 24. Knowles SC, Fenton A, Petchey OL, Jones TR, Barber R, Pedersen AB. Stability of within-host-parasite communities in a wild mammal system. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*.
 25. Dabanch J. Zoonosis. *Revista chilena de infectología*. 2003;20:47-51.
 26. Landaeta-Aqueveque C, Notarnicola J, Correa JP, Yáñez-Meza A, Henríquez A, Cattán PE, et al. First record of Litomosoides pardinasi (Nematoda: Onchocercidae) in native and exotic rodents from Chile. *Revista mexicana de biodiversidad*. 2014;85(4):1032-7.
 27. Notarnicola J. Taxonomía y biología de las filarias de animales silvestres y de importancia sanitaria en la República Argentina: Facultad de Ciencias Naturales y Museo; 2004.
 28. Patrick M, Rosenthal S, Pfaller A. *Microbiología médica*. Editorial El Sevier Mosby, Sexta Edición. 2006;180:194

29. Gómez Puerta LA. Presencia de trypanosoma sp. en sajinos (*Tayassu tacaju*) criados en cautiverio en Iquitos y Moyobamba. 2007.

ANEXOS

Anexo N°1: Operacionalización de variables

VARIABLE	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	INDICADORES	NIVEL DE MEDICIÓN	ESCALA DE MEDICIÓN
Patógenos	Microorganismos patógenos presentes en el reservorio	Presencia de patógenos	1.- Positivo 2.- Negativo	Nominal
Especie	Rasgo o característica del individuo	Rasgos fenotípicos y genotípicos	Cualitativa	Nominal
Reservorio	Individuo animal con presencia de patógenos	Presencia de patógenos en sangre animal	1.- Presencia 2.- Ausencia	Nominal
Edad	Características zoomórficas	Rasgos fenotípicos	1.- Juvenil 2.- sub-adulto 3.- Adulto	Ordinal
Sexo	Género al que pertenece el individuo animal	Presencia física de rasgos sexuales	1.- Macho 2.- Hembra	Nominal
Localidad	Pequeña zona urbana	Área geográfica	Cualitativa	Nominal

Anexo N°2: Matriz de consistencia

TITULO	PROBLEMA	OBJETIVOS	HIPÓTESIS	VARIABLES	INDICADORES	METODOLOGÍA
<p>“ROEDORES Y QUIROPTEROS SINANTROPICOS RESERVORIOS DE PATÓGENOS HUMANOS: ESTUDIO ECOLÓGICO EN LA SELVA PERUANA”</p>	<p>¿Cuáles son los principales patógenos humanos que utilizan a los roedores y quirópteros sinantrópicos como reservorios naturales?</p> <p>¿Cuál es la especie de roedor y quiróptero sinantrópico comúnmente más utilizada como reservorio natural por los hemopatógenos?</p> <p>¿Cuáles son los hemopatógenos más frecuentes para cada especie de roedor y quiróptero sinantrópico?</p>	<p>Determinar a los principales patógenos humanos que utilizan a los roedores y quirópteros sinantrópicos como reservorios naturales.</p> <p>- Hallar a las principales especies de roedores y quirópteros sinantrópicos comúnmente más utilizadas como reservorios por hemopatógenos.</p> <p>- Hallar los patógenos más frecuentes según la especie de roedor y quiróptero sinantrópico.</p>	<p>Existe la presencia de patógenos humanos que utilizan a los roedores y quirópteros sinantrópicos como reservorios naturales.</p>	<p>Especie</p> <p>Patógenos</p> <p>Reservorio</p> <p>Edad</p> <p>Sexo</p>	<p>Rasgos fenotípicos y genotípicos</p> <p>Presencia de Patógenos en sangre.</p> <p>Individuo animal con presencia de Patógenos</p> <p>Rasgos fenotípicos</p> <p>Presencia física de rasgos sexuales</p>	<p>Metodología de tipo Observacional, Descriptiva Transversal.</p>

Anexo N°3: Modelo de ficha de recolección de datos

FICHA N°- _____

FECHA: ___/___/___

RESPONSABLE: _____

COMUNIDAD: _____

ID N° -	Especie	Código de lámina (número de slide)	Lectura de lámina (positivo o negativo)	Código de DNA extraído de papel filtro	Confirmación por PCR	Comentarios

COMENTARIOS FINALES: _____

Anexo N°4: Preparación de frotis sanguíneo, gota Gruesa y tinción Giemsa

Preparación de frotis o extendido sanguíneo

- Sobre una superficie firme y plana trabaje lo siguiente:
 1. Coloque la muestra de sangre (2-4µl aproximadamente) en la mitad de la lámina.
 2. Coloque delante de la gota de sangre, un extremo de otra lámina portaobjeto en un ángulo de 45°.
 3. Mueva hacia atrás el 2do portaobjeto hasta tocar la gota de sangre, espere a que discurra a lo largo del borde y deslizar hacia delante de la sangre para extenderla (Nunca en sentido inverso).
 - Se puede modificar el ángulo de extendido, según la cantidad de la muestra y el tamaño de extendido que se desea.

Preparación de la gota gruesa

- En un extremo de la lámina en el cual se realizó el frotis, haz lo siguiente:
 1. Coloque la muestra de sangre (6-8 µl aproximadamente).
 2. Utilizar el ángulo del portaobjeto extensor y mezclar con movimientos giratorios y suaves la muestra sanguínea por 30 segundos o hasta que la muestra este totalmente desfibrinizada. (obtener una película homogénea de 1 cm)
 - Realizar la homogenización de forma concéntrica (de adentro hacia afuera)
- ✓ Al terminar el procedimiento esperar a que termine de secar en un lugar libre de polvo, rotular y fijar con metanol solo el extendido, evitando fijar la Gota Gruesa.

- PREPARACIÓN DEL COLORANTE GIEMSA

PREPARACIÓN DE LA SOLUCION GIEMSA-BUFFER:

- a) Adicionar una tableta buffer a 1000ml de agua destilada, mezclar vigorosamente y esperar que se disuelva por 30 min como mínimo.
- b) El pH puede estar entre 6.8 y 7.2 para una coloración satisfactoria. El pH se puede ajustar por adición de HCL al 20% de o de NaOH 40%.
- c) Adicionar 1mL de triton x-100 al 10% a 1000 mL de agua destilada con buffer.
- d) Mescle por un tiempo y el nuevo buffer está listo para ser usado.

PREPARACIÓN DE LA SOLUCIÓN DE TRABAJO “GIEMSA”

- a) Preparar aproximadamente 3 ml de solución de trabajo por lámina en un tubo graduado. Adicionar buffer Giemsa al tubo graduado y adicionalmente el colorante Giemsa Sigma-ALDRICH.
 - I. Solución de trabajo al 3% para tres laminas:
Use una pipeta transfer y adicione 300 μ L de Giemsa Sigma-ALDRICH a 9.7 ml de solución de buffer Giemsa.

TINCIÓN DE LÁMINAS CON “SOLUCIÓN DE TRABAJO GIEMSA”

1. Colocar las láminas sobre las varillas de coloración, que está adaptada a un recipiente o contenedor de desechos.
2. Agregar agua destilada sobre la gota gruesa, evitando el contacto con el frotis sanguíneo y controlar 15 min.
3. Al término del tiempo, eliminar el agua destilada sin que el frotis sanguíneo entre en contacto.
4. vierta la solución de trabajo Giemsa preparado previamente, sobre toda la lámina (ver preparación de la solución de trabajo “Giemsa”) y deje actuar el colorante por 1h.
5. Elimine el exceso de colorante con buffer-Giemsa
6. Dejar secar las láminas en posición vertical, manteniendo siempre la gota gruesa en la parte superior.
7. Una vez seca la lámina, está lista para ser observada en el microscopio.

Anexo N°5: Imágenes del trabajo en campo.

Mes: agosto del 2014 - Loreto



Foto 01 *Limpeza de los materiales utilizados en el procedimiento de necropsia.*



Foto 02 *Evaluación de especie y sexo en quirópteros.*



Foto 03 *Evaluación de especie y sexo en roedores.*



Foto 04 *Identificación de especie según morfología.*



Foto 05

Procedimiento para la descontaminación de materiales, utilizando alcohol de 70 grados y dodigen.



Foto 06

Recolección de datos (morfología, talla y peso).



Foto 08 *Necropsia de animales (quirópteros, roedores) y extracción de biopsias.*



Foto 09 *Quirópteros transportados en bolsas especiales a la mesa de necropsia.*

Anexo N°6: Fotos de geles de la Nested-PCR (PCR con primers D75/D76 y primers D71/D72).

Foto 10: Plate 1, Gel 1 (D75/D76)

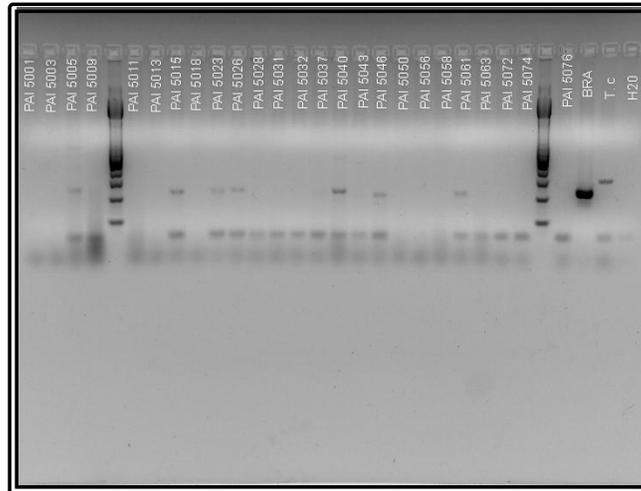


Foto 11: Plate 1, Gel 2 (D71/D72)

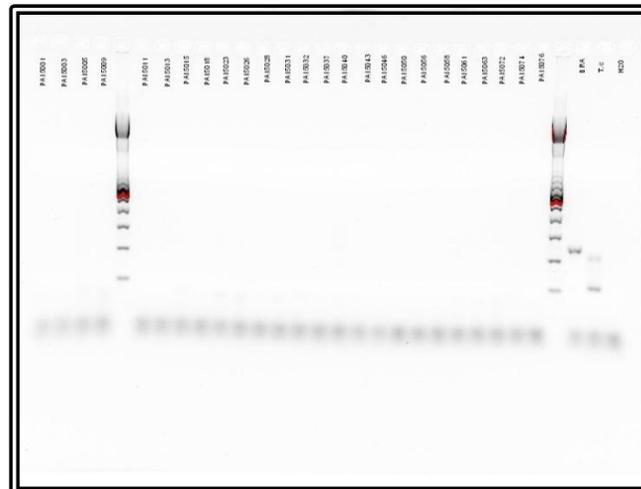


Foto 12: Plate 2, Gel 1 (D75/D76)

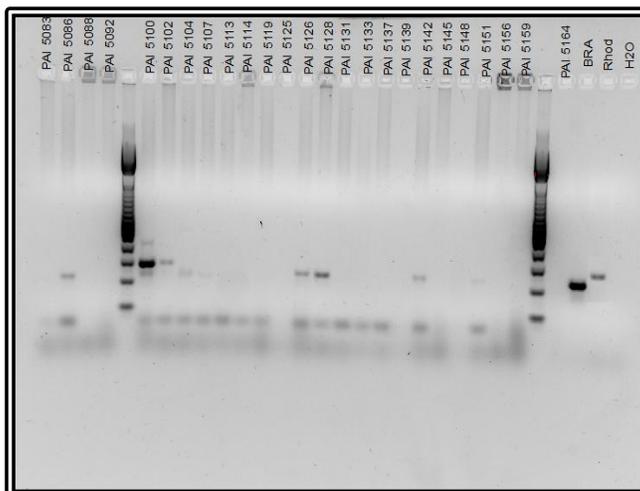


Foto 13: Plate 2, Gel 2 (D71/D72)

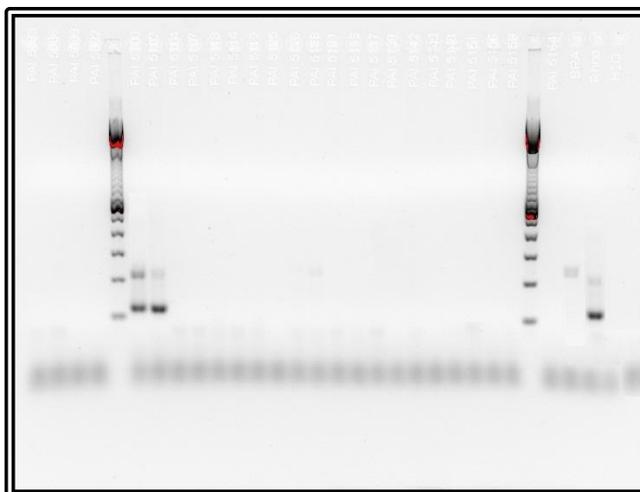


Foto 14: Plate 3, Gel 1 (D75/D76)

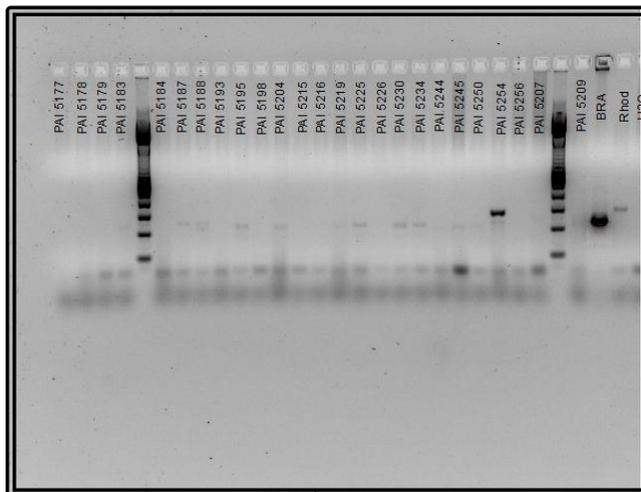


Foto 15: Plate 3, Gel 2 (D71/D72)

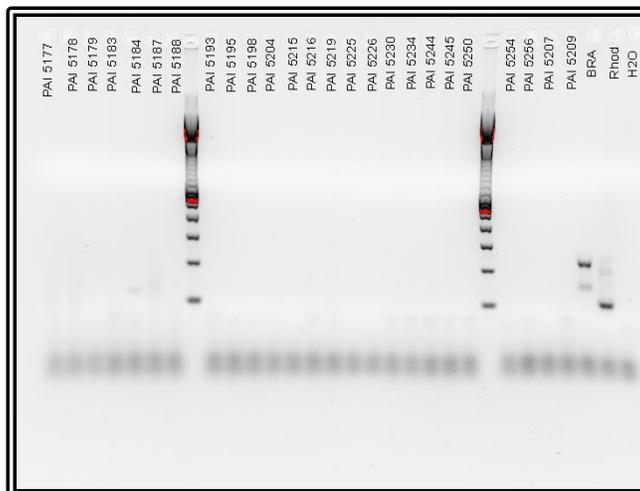


Foto 16: Plate 4, Gel 1 (D75/D76)

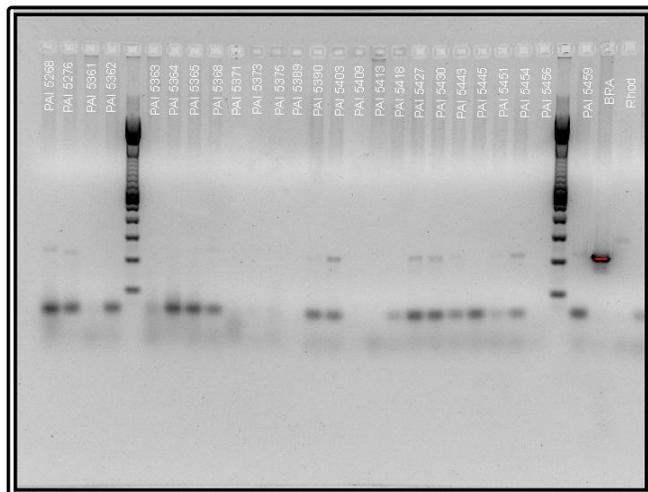


Foto 17: Plate 4, Gel 2 (D71/D72)

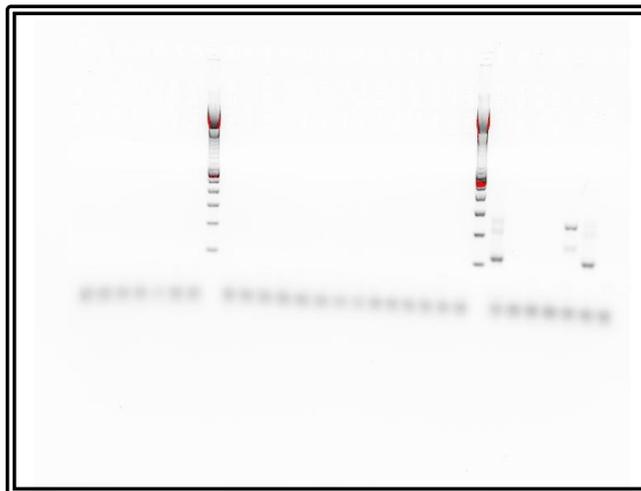


Foto18: Plate 5 y 6, Gel 1 (D75/D76)

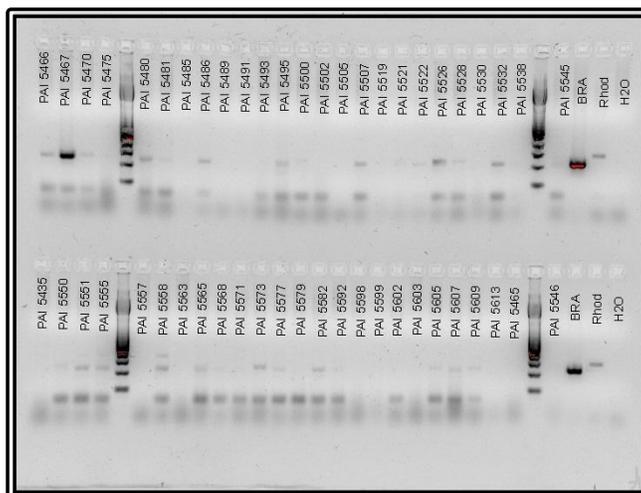


Foto 19: Plate 5, Gel 2 (D71/D72)

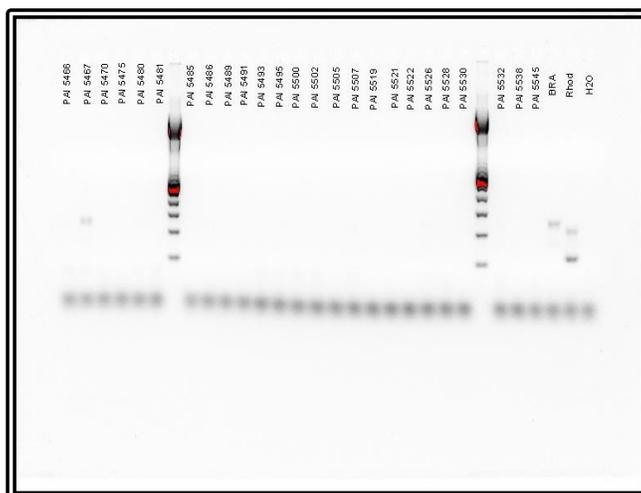


Foto 20: Plate 6, Gel 2 (D71/D72)

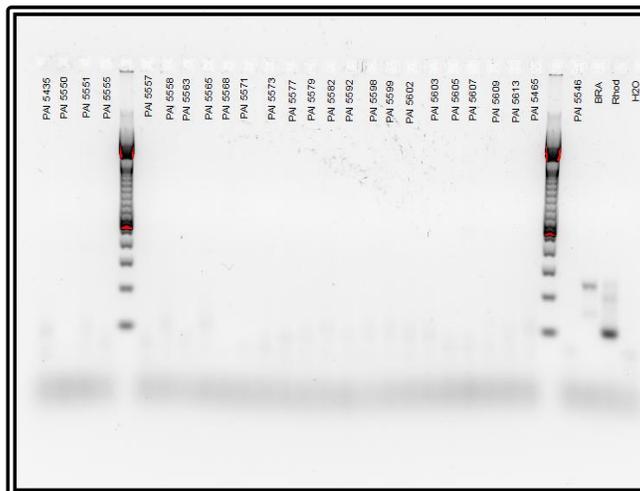


Foto 21: Plate 7, Gel 1 (D75/D76)

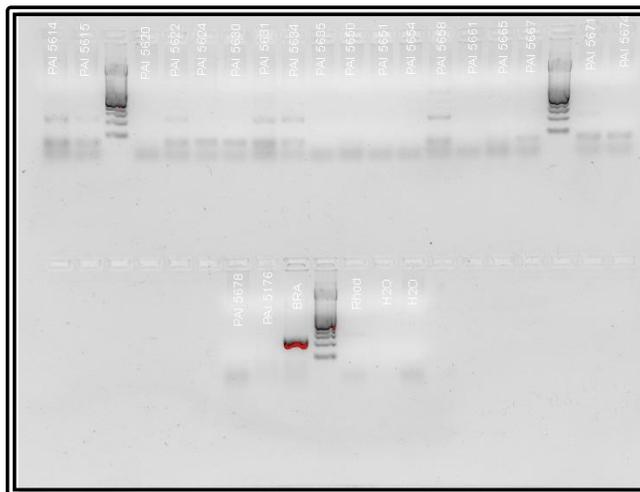


Foto 22: Plate 7, Gel 2 (D71/D72)

