

ACTA DE EVALUACIÓN DE LA TESIS DOCTORAL

Año académico 2018/19

DOCTORANDO: CUADROS GONZÁLEZ, JUAN  
D.N.I./PASAPORTE: \*\*\*\*5503Q

PROGRAMA DE DOCTORADO: D420-CIENCIAS DE LA SALUD  
DPTO. COORDINADOR DEL PROGRAMA: BIOLOGÍA DE SISTEMAS  
TITULACIÓN DE DOCTOR EN: DOCTOR/A POR LA UNIVERSIDAD DE ALCALÁ

En el día de hoy 19/10/18, reunido el tribunal de evaluación nombrado por la Comisión de Estudios Oficiales de Posgrado y Doctorado de la Universidad y constituido por los miembros que suscriben la presente Acta, el aspirante defendió su Tesis Doctoral, elaborada bajo la dirección de **CONSUELO GIMÉNEZ PARDO // LOURDES LLEDÓ GARCÍA**.

Sobre el siguiente tema: *COOPERACIÓN NORTE-SUR PARA LA INVESTIGACIÓN BIOMÉDICA EN EL ÁMBITO SANITARIO: UN MODELO EN ETIOPIA*

Finalizada la defensa y discusión de la tesis, el tribunal acordó otorgar la CALIFICACIÓN GLOBAL<sup>1</sup> de (no apto, aprobado, notable y sobresaliente): Sobresaliente

Alcalá de Henares, 19 de Octubre de 2018

EL PRESIDENTE



Fdo.: .....

Manuel Rodríguez Zapata

EL SECRETARIO



Fdo.: José M. R-J

EL VOCAL



Fdo.: .....

Miguel González

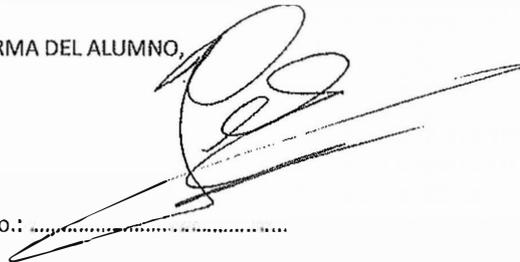
Con fecha 17 de diciembre de 2018 la Comisión Delegada de la Comisión de Estudios Oficiales de Posgrado, a la vista de los votos emitidos de manera anónima por el tribunal que ha juzgado la tesis, resuelve:

- Conceder la Mención de "Cum Laude"  
 No conceder la Mención de "Cum Laude"

La Secretaria de la Comisión Delegada



Fdo.: .....



<sup>1</sup> La calificación podrá ser "no apto" "aprobado" "notable" y "sobresaliente". El tribunal podrá otorgar la mención de "cum laude" si la calificación global es de sobresaliente y se emite en tal sentido el voto secreto positivo por unanimidad.



Universidad  
de Alcalá

COMISIÓN DE ESTUDIOS OFICIALES  
DE POSGRADO Y DOCTORADO

En aplicación del art. 14.7 del RD. 99/2011 y el art. 14 del Reglamento de Elaboración, Autorización y Defensa de la Tesis Doctoral, la Comisión Delegada de la Comisión de Estudios Oficiales de Posgrado y Doctorado, en sesión pública de fecha 17 de diciembre, procedió al escrutinio de los votos emitidos por los miembros del tribunal de la tesis defendida por *CUADROS GONZÁLEZ, JUAN*, el día 19 de octubre de 2018, titulada *COOPERACIÓN NORTE-SUR PARA LA INVESTIGACIÓN BIOMÉDICA EN EL ÁMBITO SANITARIO: UN MODELO EN ETIOPIA*, para determinar, si a la misma, se le concede la mención "cum laude", arrojando como resultado el voto favorable de todos los miembros del tribunal.

Por lo tanto, la Comisión de Estudios Oficiales de Posgrado **resuelve otorgar** a dicha tesis la

**MENCIÓN "CUM LAUDE"**



Alcalá de Henares, 18 de diciembre de 2018  
EL VICERRECTOR DE INVESTIGACIÓN Y TRANSFERENCIA

*F. Javier de la Mata*

F. Javier de la Mata de la Mata

**Copia por e-mail a:**

Doctorando: CUADROS GONZÁLEZ, JUAN

Secretario del Tribunal

Directores de Tesis: CONSUELO GIMÉNEZ PARDO // LOURDES LLEDÓ GARCÍA



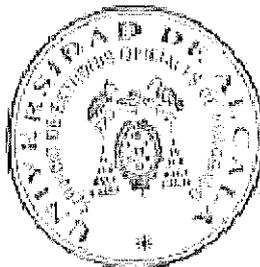
Universidad  
de Alcalá

ESCUELA DE DOCTORADO  
Servicio de Estudios Oficiales de  
Posgrado

DILIGENCIA DE DEPÓSITO DE TESIS.

Comprobado que el expediente académico de D./D<sup>a</sup> JUAN CUADROS GONZÁLEZ  
reúne los requisitos exigidos para la presentación de la Tesis, de acuerdo a la normativa vigente, y habiendo  
presentado la misma en formato:  soporte electrónico  impreso en papel, para el depósito de la  
misma, en el Servicio de Estudios Oficiales de Posgrado, con el n<sup>o</sup> de páginas: 120 se procede, con  
fecha de hoy a registrar el depósito de la tesis.

Alcalá de Henares a 27 de julio de 2018



Purificación Reviejo

Fdo. El Funcionario

**UNIVERSIDAD DE ALCALÁ**

**TESIS DOCTORAL**



**COOPERACIÓN NORTE-SUR PARA LA INVESTIGACIÓN BIOMÉDICA EN EL  
ÁMBITO SANITARIO: UN MODELO EN ETIOPÍA.**

**JUAN CUADROS GONZALEZ**

**Alcalá de Henares, 2018**

**UNIVERSIDAD DE ALCALÁ**

**Departamento de Biomedicina**

**y**

**Biotecnología**

**Hospital de Gambo (Etiopía)**



**COOPERACIÓN NORTE-SUR EN INVESTIGACIÓN PARA LA INVESTIGACIÓN  
BIOMÉDICA EN EL ÁMBITO SANITARIO: UN MODELO EN ETIOPÍA.**

Memoria que presenta para optar al Título de  
Doctor por la Universidad de Alcalá: D. Juan  
Cuadros González.

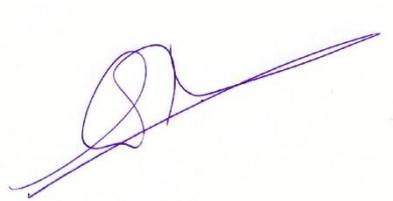
**Alcalá de Henares, 2018**

**DÑA. CONSUELO GIMÉNEZ PARDO**, Profesora Titular de Parasitología del Departamento de Biomedicina y Biotecnología de la Universidad de Alcalá y **DÑA. LOURDES LLEDÓ GARCIA**, Profesora Titular de Microbiología del mismo Departamento,

### **CERTIFICAN**

Que D. Juan Cuadros González, Licenciado en Medicina y Cirugía, ha realizado bajo su dirección el trabajo de investigación que lleva por título: **COOPERACIÓN NORTE-SUR EN INVESTIGACIÓN PARA LA INVESTIGACIÓN BIOMÉDICA EN EL ÁMBITO SANITARIO: UN MODELO EN ETIOPÍA** y que lo presenta para optar al Grado de Doctor en Ciencias de la Salud.

Y para que así conste, expiden el presente certificado en Alcalá de Henares a 17 de julio de 2018.



Fdo.; Consuelo Giménez Pardo



Fdo.; Lourdes Lledó García



Dr. D. Pedro de la Villa Polo, Coordinador de la Comisión Académica del Programa de Doctorado en Ciencias de la Salud.

**INFORMA** que la Tesis Doctoral titulada **COOPERACIÓN NORTE-SUR PARA LA INVESTIGACIÓN BIOMÉDICA EN EL ÁMBITO SANITARIO: UN MODELO EN ETIOPÍA** presentada por D. **JUAN CUADROS GONZÁLEZ**, bajo la dirección de la Dra. Dña. Consuelo Giménez Pardo y de la Dra. Dña. Lourdes Lledó García, reúne los requisitos científicos de originalidad y rigor metodológicos para ser defendida ante un tribunal. Esta Comisión ha tenido también en cuenta la evaluación positiva anual del doctorando, habiendo obtenido las correspondientes competencias establecidas en el Programa.

Para que así conste y surta los efectos oportunos, se firma el presente informe en Alcalá de Henares a 27 de julio de 2018.


Fdo.: Pedro de la Villa Polo

## **DEDICATORIA**

Dedico este trabajo a María José, Alex y Lara, que me animaron siempre con grandes dosis de cariño, curiosidad y valentía, a mis hermanas, por recibir su apoyo incondicional durante toda la vida y a la población de Etiopía, para que sigamos construyendo juntos un mundo mejor.

## **AGRADECIMIENTOS**

Mi especial agradecimiento a Francisco Reyes, director del Hospital de Gambo durante más de 25 años; sin su apoyo y dedicación, ninguno de estos trabajos podría haberse realizado.

Estos estudios se llevaron a cabo en los años 2011, 2012 y 2016 con la colaboración del personal de laboratorio de Gambo (Gebre Tisiano), microbiólogos y médicos internistas ex alumnos del Máster de Medicina Tropical y Salud Internacional (Peña Gómez-Herruz, Carmen Gimeno, Ramón Pérez-Tanoira, María Flecha, Laura Prieto), investigadores del área de Microbiología de la UAH (Cristina Verdú) e investigadores del Departamento de Parasitología del Centro Nacional de Microbiología de Majadahonda (David Carmena, Isabel Fuentes), a todos ellos mi más sincero agradecimiento.

Deseo expresar también mi gratitud a todos los profesores que han colaborado desde el principio en el Máster de Medicina Tropical y Salud internacional de la UAM de Madrid, a su director Miguel Górgolas y a José Manuel Ramos, Enrique Fanjul, Eduardo Malmierca y José Fortes, por su empeño pionero en impulsar un proyecto estimulante y único a nivel docente e investigador español.

También, deseo agradecer a Consuelo Giménez y a Lourdes Lledó, las directoras de esta Tesis Doctoral, su apoyo constante e interés inagotable en la concepción, revisión y edición de este trabajo.

Así mismo quiero agradecer a mis compañeros del Servicio de Microbiología del HUPA, su comprensión e interés y colaboración en los proyectos de cooperación e iniciativas docentes e investigadoras que hemos desarrollado en el campo de Salud Global en nuestro Servicio.

## ABREVIATURAS

ADN	Acido desoxirribonucleico
AECI	Agencia Española de Cooperación para el Desarrollo
AFB	<i>Acid fast bacilli</i> . Bacilos ácido alcohol-resistentes
AOD	Ayuda oficial al desarrollo
BOE	Boletín oficial del Estado
BRICS	Brasil, India, China y Suráfrica
CAD	Comité de Ayuda al Desarrollo
CDC	<i>Centers for Disease Control</i> CDC Centros de control de enfermedades en EE UU
CE	Comunidad Europea
CE	Comité Ético
CNMT	Centro Nacional de Medicina Tropical
CRCE	Centro de Referencia para el Control de Endemias en Guinea Ecuatorial
CUAMM	<i>Medici con l’Africa</i>
DDT	Dicloro difenil tricloroetano
DE	Desviación estándar
DPT3	Vacuna de la difteria, tosferina y tétanos
ETD	Enfermedades Tropicales Desatendidas
FMoH	<i>Federal Ministry of Health</i> . Ministerio de Sanidad etíope
HRP-2	<i>Histidin rich protein-2</i> . Proteína rica en histidina 2
IC	Intervalo de confianza
IRS	<i>Indoor residual spraying</i> . Fumigación de interiores con insecticidas residuales
ISG	Instituto de Salud Global
ITNs	<i>Insecticide Treated Mosquito Nets</i> . Mosquiteras impregnadas con insecticida
LAMP	<i>Loop mediated isothermal amplification</i> . Amplificación isotérmica mediada por asas
LDH	Lactodeshidrogenasa
LED-FM	<i>Light-emitting diode fluorescence microscopy</i> . Microscopía de

	fluorescencia con LED
LLIN	Long lasting insecticide nets. Mosquiteras impregnadas con insecticidas de larga duración
MDR	<i>Multidrug resistant</i> . Resistente a múltiples fármacos
MF	Microscopía de fluorescencia
MIF	<i>Merthiolate-yodo-formaldehyde</i> . Mertiolato-yodo-formaldehido
MSF	Médicos sin Fronteras
NNUU	Naciones Unidas
OCDE	Organización para la Cooperación y el Desarrollo económico
ODM	Objetivos de desarrollo del milenio
ODS	Objetivos de desarrollo sostenible
WHO	Organización Mundial de la Salud
ONG	Organización no gubernamental
ONGD	Organizaciones no Gubernamentales para el Desarrollo
PCR	<i>Polymerase chain reaction</i> . Reacción en cadena de la polimerasa
PIB	Producto interior bruto
PNUD	Programa de las Naciones Unidas para el Desarrollo
PRB	Países de renta baja
PTMI	Prevención de la transmisión materno infantil
qPCR	PCR cuantitativa
RDT	<i>Rapid diagnostics test</i> . Test diagnósticos rápidos
SAF	<i>Sodium Acetate Formalin</i> . Sodio acetato formalina.

## **INDICE**

<b>INDICE</b> .....	VIII
<b>INDICE DE TABLAS</b> .....	XI
<b>INDICE DE FIGURAS</b> .....	XIII
<b>1. INTRODUCCIÓN</b> .....	1
1.1. Cooperación Internacional para la investigación biomédica en el ámbito sanitario.....	2
1.1.a. Cooperación Norte-Sur.....	2
1.1.b. Cooperación Sur-Sur.....	3
1.1. c. Cooperación en investigación biomédica con países de renta baja. Modelos asociativos.....	4
1.1.d. La Cooperación al Desarrollo en el ámbito de la salud.....	5
1.1.e. Perspectiva histórica.....	6
A. Evolución de la situación de la salud en el mundo.....	7
A.1. De las enfermedades de la miseria y la pobreza a las enfermedades tropicales desatendidas.....	7
A.2. Salud Global, un nuevo marco para la acción.....	8
1.2. Enfermedades globales para un mundo global.....	8
1.2.a. Enfermedades infecciosas.....	8
1.2.b. Enfermedades no transmisibles.....	9
1.2.c. La salud en la agenda de los Objetivos de Desarrollo del Milenio (ODM).....	9
1.2.d. La salud en la agenda post-2015 (ODS). Retos.....	10
1.2.e. Riesgos en el consenso de mínimos.....	10
1.3. Crisis de la cooperación sanitaria: pasado, presente y futuro.....	12
1.4. El futuro de la financiación de la salud.....	15
1.5. Características generales de Etiopía.....	17
1.5.a. Entorno geográfico, político, social y económico.....	17
1.5.a.1. Geografía.....	17
1.5.a.2. Perfil demográfico.....	17
1.5.a.3. Situación económica y social.....	18
1.5.b. Condicionantes de salud de Etiopía.....	19
1.5.c. Estructura del sistema sanitario de Etiopía.....	21
1.6. El Hospital de Gambo.....	21
1.6.a. Breve historia del hospital.....	23

1.6.b. Dotación y actividad asistencial.....	24
<b>1. 2. Enfermedades infecciosas de alto impacto sanitario en Etiopía que se tratan en el Hospital de Gambo .....</b>	<b>28</b>
1.2.a. Tuberculosis.....	28
1.2.a.1.Contexto de la situación en el país.....	28
1.2.b. Malaria .....	31
1.2.b.1.Contexto de la situación en el país.....	31
A.Distribución geográfica y epidemiología .....	32
A.1. Políticas y estrategias de intervención.....	33
A.2 Diagnóstico .....	34
A.3 Tratamiento .....	35
1.2.b.2. Situación en el Hospital de Gambo .....	35
1.2.c. Parasitosis intestinales .....	37
1.2.c.1. Contexto de la situación en el país .....	37
1.2.c.2. Situación en el Hospital de Gambo .....	39
<b>2. HIPOTESIS Y OBJETIVOS.....</b>	<b>41</b>
2. 1. Objetivo específico relacionado con la Tuberculosis.....	42
2. 2. Objetivo específico relacionado con la Malaria .....	42
2.3. Objetivo específico relacionado con las parasitosis intestinales .....	42
<b>3. MATERIAL Y METODOS .....</b>	<b>43</b>
3.1.Tuberculosis .....	44
3.1.a.Descripción general y aspectos éticos .....	44
3.1.b. Población del estudio y criterios de selección .....	45
3.1.c. Procesamiento de las muestras .....	45
3.1.d. Lectura e interpretación de los resultados .....	45
3.1.e. Análisis estadístico .....	46
3.2. Malaria .....	46
3.2.a. Descripción general y aspectos éticos .....	46
3.2.b. Población del estudio y criterios de selección.....	47
3.2.b.1. Criterios de exclusión .....	47
3.2.c. Procesamiento de las muestras .....	47
3.2.c.1.Reacción y lectura del test LAMP .....	48

3.2.d. Lectura e interpretación de los resultados .....	49
3.2.e. Análisis estadístico.....	49
3.3. Parasitosis intestinales .....	49
3.3.a. Descripción general y aspectos éticos .....	49
3.3.b. Población del estudio y criterios de selección.....	50
3.3.c. Procesamiento de las muestras .....	50
3.3.c.1. Examen microscópico directo.....	50
3.3.c.2. Concentración de parásitos .....	50
3.3.c.3. Extracción y purificación de ADN .....	51
3.3.d. Lectura e interpretación de los resultados .....	51
3.3.d.1. Examen microscópico .....	51
3.3.d.2. Detección molecular y caracterización de <i>Giardia duodenalis</i> .....	52
3.3.d.3. Detección molecular y caracterización de cepas de <i>Cryptosporidium</i> pp .....	52
3.3.d.4. Detección molecular de <i>Entamoeba histolytica</i> y <i>E. dispar</i> .....	53
3.3.e. Análisis estadístico .....	53
<b>4. RESULTADOS.....</b>	<b>54</b>
4.2. Tuberculosis .....	55
4.3. Malaria .....	56
4.4. Parásitos intestinales.....	58
<b>5. DISCUSION.....</b>	<b>61</b>
5.2. Tuberculosis .....	62
5.3. Malaria .....	64
5.4. Parásitos intestinales.....	68
<b>6. PROBLEMAS Y LIMITACIONES AL DESARROLLO DE ESTOS ESTUDIOS.....</b>	<b>73</b>
<b>7. CONCLUSIONES.....</b>	<b>76</b>
<b>8. BIBLIOGRAFÍA .....</b>	<b>79</b>
<b>9. ANEXOS .....</b>	<b>104</b>

## **INDICE DE TABLAS**

<b>Tabla 1.-</b> Clasificación de las extensiones de esputo según el número de bacilos ácido-alcohol resistentes (BAAR) visualizados con microscopía óptica y de fluorescencia .....	46
<b>Tabla 2.-</b> Resultados en la población general de la microscopía óptica y de fluorescencia para el diagnóstico de la Tuberculosis.....	55
<b>Tabla 3.-</b> Resultados en la población infantil de la microscopía óptica y de fluorescencia para el diagnóstico de la Tuberculosis.....	55
<b>Tabla 4.-</b> Comparación entre LAMP, RDT y microscopía con extensión fina en pacientes .....	56
<b>Tabla 5.-</b> Descripción de los parámetros diagnósticos cuantitativos (a) y cualitativos (b) en los pacientes LAMP positivos.....	57
<b>Tabla 6.-</b> Análisis del coste y el tiempo necesario para realizar las pruebas con todos los métodos.....	58
<b>Tabla 7.-</b> Signos y síntomas referidos por los pacientes estudiados .....	59
<b>Tabla 8.-</b> Signos y síntomas clínicos de los pacientes con giardiasis.....	59
<b>Tabla 9.-</b> Comparación entre la microscopía del examen directo y la microscopía del concentrado de heces.....	59
<b>Tabla 10.-</b> Signos y síntomas clínicos de los pacientes con <i>Hymenolepis spp</i> .....	60

## **INDICE DE FIGURAS**

<b>Figura 1.-</b> Tierras altas de Etiopía (Oromía) .....	21
<b>Figura 2.-</b> Viviendas de la población autóctona oromo en los alrededores del Hospital de Gambo.....	22
<b>Figura 3.-</b> Pista de acceso al hospital de Gambo .....	23
<b>Figura 4.-</b> Puerta de acceso al hospital .....	23
<b>Figura 5.-</b> Mapa del hospital.....	25
<b>Figura 6.-</b> Sala de reuniones en el área de gerencia .....	26
<b>Figura 7.-</b> Pacientes esperando para entregar muestras en el laboratorio .....	26
<b>Figura 8.-</b> Área de recepción de muestras .....	27
<b>Figura 9.-</b> Técnicos de laboratorio al microscopio .....	27
<b>Figura 10.-</b> Sala de Pediatría.....	27
<b>Figura 11.-</b> Sala de Medicina Interna .....	28
<b>Figura 12.-</b> Reducción de los casos confirmados de Malaria entre 2001 y 2011 .....	32
<b>Figura 13.-</b> Cobertura de fumigación con insecticidas residuales .....	33
<b>Figura 14.-</b> Evolución temporal de las tasas de protección con LLIN, IRS y ACT de la población efíope (2001-2011) .....	34

## **1. INTRODUCCIÓN**

---

## **1.1. Cooperación Internacional para la investigación biomédica en el ámbito sanitario**

### **1.1.1.a. Cooperación Norte-Sur**

La cooperación de los países más avanzados con los países de renta baja en el ámbito sanitario ha evolucionado radicalmente desde la época colonial en la que se limitaba, sobre todo, al estudio de las enfermedades infecciosas que afectaban a expatriados europeos como era el caso de militares, funcionarios, misioneros, comerciantes o colonos (Gibson, 2009a). En esta etapa se prestaba especial interés a las infecciones epidémicas que podían importarse como el cólera, la fiebre amarilla, malaria o viriasis hemorrágicas (Gibson, 2009b).

Si bien la colaboración Norte-Sur en investigación biomédica es un tema clave en el futuro de la Salud Global también es cierto que se enfrenta a graves problemas que tienen que ver con la distribución desigual de los fondos, en tanto que se dedica tan solo un 10% de los fondos globales disponibles a las enfermedades que suponen un 90% de la carga de morbilidad global (Edejer, 1999). Un principio clave de la investigación biomédica es que sus resultados deberían beneficiar por igual a las poblaciones, sin distinguir entre Norte y Sur o, más exactamente, entre países de renta alta y renta baja. En este sentido, un principio rector debe guiar los procesos de investigación rentables: hay que intentar resolver problemas locales y las soluciones deben ser sostenibles a largo plazo. El marco teórico que relaciona el conocimiento, la innovación y la educación con el desarrollo de la atención sanitaria debe adaptarse siempre a las condiciones locales y a los entornos complejos en que debe aplicarse. La cooperación internacional debe incluir entre sus objetivos el fortalecimiento de la cultura científica como factor de desarrollo (Sebastián, 2007).

En relación con estos principios, parece lógico centrar los esfuerzos de cooperación sanitaria en enfermedades infecciosas con gran carga de morbimortalidad que sean tratables o prevenibles como la diarrea, las infecciones respiratorias, la Malaria, el VIH, la Tuberculosis o las enfermedades tropicales desatendidas y la malnutrición, la salud-materno infantil y las enfermedades crónicas que están afectando ahora a las sociedades diagnóstico de salud en fase de transición (Sebastian, 2007; De Cock, Simone, Davison & Slutsker., 2013).

También es cierto que las prioridades de investigación pueden variar según los acuerdos de cooperación, los organismos financiadores y los intereses de las instituciones académicas de los países receptores de ayuda. Actualmente son frecuentes los acuerdos de colaboración entre instituciones sanitarias europeas o norteamericanas y centros clínicos de países de renta baja y los intereses de investigación en estas alianzas pueden ser variables (p.ej., nacionales vs. internacionales, políticas sanitarias nacionales, intereses académicos) pero en todos los casos es fundamental crear alianzas a largo plazo basadas en la confianza mutua y los objetivos comunes (Bradley, 2007; Mayhew, Doherty & Pitayarangsarit., 2008).

#### **1.1.1.b. Cooperación Sur-Sur**

La cooperación internacional sanitaria se remonta a mediados del siglo XIX en la época colonial, cuando los avances en el conocimiento de las enfermedades infecciosas y la aparición de los motores de vapor multiplicaron las expediciones científicas a los países tropicales (Burki, 2014). La creación de la WHO en 1948 fue un hito histórico que sentó los pilares para establecer procesos, reglas e instituciones para alcanzar una gobernanza local.

En las décadas de los 60 y 70, la presión de los países no alineados en la WHO propició políticas sanitarias basadas en la Atención Primaria, siguiendo los principios establecidos en Alma Ata (Rohde et al., 2008) pero a partir de los 80, la crisis financiera y la epidemia de VIH aumentaron radicalmente la carga en los sistemas sanitarios de los países de rentas medias y bajas. La creciente desigualdad asociada a los procesos de globalización y la huida del personal sanitario, sobre todo de los países africanos a los países ricos del Norte, empeoró la situación crítica en muchos países (Eastwood et al., 2005).

Así, el acceso a los servicios sanitarios dejó de considerarse un servicio público y la atención sanitaria se fue privatizando de forma creciente, dejando a las capas más necesitadas de la sociedad sin servicios de salud (Almeida, Travassos, Porto & Labra., 2000). En estos años, la cooperación Norte Sur se centró en las

intervenciones tecnológicas y el estudio de nuevos fármacos y vacunas y se descuidaron los sistemas de suministro de intervenciones de salud.

Con el cambio del siglo, la situación comenzó a mejorar con el establecimiento de los ODM (Objetivos de Desarrollo del Milenio), ocho objetivos de desarrollo claros, entre los que había tres relacionados con la salud (el Objetivo n° 4: “Reducir la mortalidad de los niños menores de 5 años”; el Objetivo n° 5: “Mejorar la salud materna” y el Objetivo n° 6, “Combatir el VIH/SIDA, la Malaria y otras enfermedades” (United Nations, 2005). Para el cumplimiento de estos objetivos se necesitaba el desarrollo de sistemas sanitarios públicos robustos en los que todos los actores, públicos y privados pudieran contribuir a mejorar los índices de salud de las poblaciones (Travis et al., 2004; Easterlyco, 2009).

En las primeras décadas del siglo XXI la demanda sanitaria de la mayoría de los países de renta baja sigue aumentando exponencialmente y, además, la situación de los sistemas de salud ha empeorado respecto a las décadas previas (Almeida, Campos, Buss, Ferreira & Fonseca., 2010). Esta situación requiere un esfuerzo renovado de cooperación en un mundo cada vez más global (Menéndez-Navarro, 2007; Brito, 2014).

### **1.1.1.c. Cooperación en investigación biomédica con países de renta baja.**

#### **Modelos asociativos**

La cooperación para la investigación biomédica se ha basado siempre en patrones obsoletos y asimétricos que todavía se siguen utilizando. Algunos ejemplos los tenemos en la “investigación postal” en la que las muestras se envían por correo desde un centro africano o asiático a un laboratorio del Norte, la “investigación paracaidista” o de “médicos vampiros” (Grietens et al., 2014) que se desplazan por periodos cortos a terreno y recogen muestras para procesarlas en centros externos (Staunton & Moodley., 2016).

Estos modelos no suelen contemplar tres elementos que hoy en día son fundamentales para cimentar una relación académica y de investigadores sólida y justa, como la cesión de la propiedad intelectual de los resultados al país de origen, la sostenibilidad de las intervenciones y el fortalecimiento de la capacidad

investigadora local (Alonso, 2003). Una cooperación verdadera debe basarse en la confianza mutua y en la toma de decisiones compartida, la cesión de la propiedad intelectual y la prioridad en conseguir que los resultados de la investigación se apliquen en la práctica e influyan en las políticas sanitarias (Costello & Zumla., 2000). Por otro lado, ahora son frecuentes los centros de investigación locales “anexionados” por centros europeos o americanos donde trabajan investigadores expatriados y locales muy cualificados (Edejer, 1999; Lang, Gouveia & Leta., 2013).

Aunque estos centros realizan estudios de gran calidad y potencial impacto en la salud local, suelen atraer con sueldos muy elevados a investigadores locales preparados, que abandonan así los centros académicos locales y como resultado se merma la capacidad investigadora de las naciones. Se calcula que gran parte de los fondos internacionales para la investigación en países de renta baja se dedican a financiar una decena de centros en todo el mundo, mientras que las instituciones académicas locales languidecen por falta de personal y de fondos. Una solución éticamente aceptable sería integrar estos centros de excelencia en las redes de investigación locales, lo cual favorecería sin duda la traslación de los resultados a la práctica clínica.

En un modelo adecuado, tal y como proponen diferentes autores habría que realizar una investigación de alta calidad a bajo coste, que sea útil para la práctica (Gaillard, 1994; Chandiwana & Ornbjerg., 2003; Mayhew, Doherty & Pitayarangsarit., 2008).

#### **1.1.1.d. La Cooperación al Desarrollo en el ámbito de la salud**

Entre los 214 países contemplados por el World Bank, solo 31 (14%) se consideran actualmente países de renta baja, con un producto nacional bruto per cápita de menos de 1025\$ /año (datos de 2015) (World Bank, 2015). Todos estos países menos cuatro (Afganistán, Haití, Nepal y Corea del Norte) se encuentran en el África subsahariana. El desarrollo económico aumenta la capacidad de los países para generar recursos sanitarios y los países del grupo BRICS y los del grupo de países petroleros ricos están proporcionando también asistencia a estos países de renta baja.

Existe una correlación lineal entre el aumento del producto interior bruto de los países y la mejora de sus índices sanitarios como la mortalidad en menores de cinco años o la esperanza de vida, con algunas excepciones de países rápidamente enriquecidos por recursos naturales que no han desarrollado adecuadamente sus sistemas sanitarios, como es el caso de Guinea Ecuatorial. El desarrollo económico eleva la calidad de vida, permite ofrecer viviendas dignas a los habitantes y mejora la nutrición y seguridad alimentaria y el acceso al agua potable y los sistemas de eliminación de aguas residuales; así mismo, la dedicación de más recursos a la salud materno-infantil, la planificación familiar y la educación de la mujer mejoran con rapidez los parámetros de salud (De Cock et al., 2013). El mensaje es claro para las agencias de cooperación, la medida más eficaz para mejorar la salud de la población es reducir la pobreza, y por ello se incluye como el 1<sup>er</sup> objetivo en los objetivos de desarrollo sostenible (ODS o SDG, por sus siglas en inglés). De hecho, más del 50 % de las muertes <5 años se producen en países pobres y muy poblados de África como Nigeria, República Democrática del Congo o Etiopía (NIG, 2017; NIA, 2018) donde cada año mueren >200.000 niños (World Health Organization, WHO, 2017).

#### **1.1.1.e. Perspectiva histórica**

La cooperación internacional en salud nació inicialmente de la necesidad de los países ricos del Norte de curar a sus expatriados y evitar la llegada de epidemias que amenazaban la seguridad y bienestar de sus ciudadanos (Aldis, 2009). En la época colonial, militares, mercenarios, funcionarios, religiosos y aventureros de diversa índole volvían del Trópico con enfermedades febriles raras, desconocidas en Europa, para las que no había tratamiento alguno. La incorporación de la microscopía como herramienta de investigación médica impulsó el estudio por médicos y microbiólogos pioneros de la mayoría de las enfermedades tropicales (Gibson, 2009b) y en pocos años se descubrieron los agentes causales de casi todas ellas.

La aparición de los antibióticos y la administración sistemática de vacunas en los países del Norte redujo el impacto de las epidemias catastróficas y la erradicación de una enfermedad temible como la viruela que fue un hito en la historia de la Medicina (WHO, 2010). Así, el optimismo inicial llevó a algunos expertos

occidentales a predecir que las enfermedades infecciosas podrían desaparecer del mundo, sin embargo, la pandemia de VIH/SIDA, la aparición de multirresistencias de las bacterias a los antibióticos y de *Plasmodium* spp a los antipalúdicos (Power, 1999), así como los brotes epidémicos de virosis emergentes como el SARS, gripe aviar y, más recientemente, Ebola (Chan, 2014) indican un elevado grado de vulnerabilidad de los países potenciado por la enorme rapidez de los transportes, la globalización y los flujos migratorios.

La Asamblea Mundial de la Salud aprobó en el año 2005 unas Directrices de Salud Internacional de aplicación en las instituciones relacionadas con la defensa y la diplomacia de los países y relacionadas directamente con el control de las armas químicas, biológicas y nucleares (Aginam, 2005). Actualmente se han desarrollado redes internacionales de laboratorios y de vigilancia de enfermedades epidémicas y la colaboración de los sistemas sanitarios funcionales garantiza la capacidad para detectar e investigar con rapidez cualquier amenaza para la salud pública mundial (WHO, 2017).

## **A. Evolución de la situación de la salud en el mundo**

### **A.1 De las enfermedades de la miseria y la pobreza a las enfermedades tropicales desatendidas.**

La totalidad de los ODS se relacionan con la salud porque su cumplimiento mejoraría los factores determinantes sociales. Así, por ejemplo, en la reunión del Grupo Estratégico y Técnico Asesor (STAG) de las Enfermedades Tropicales Desatendidas (ETD) celebrada en abril de 2014 después del Día Mundial de la Salud se trataron de forma prioritaria las enfermedades transmitidas por vectores y se planteó como objetivo el uso al 100% de los fármacos esenciales donados para combatir las enfermedades más comunes en la población más desfavorecida, entre los que se encuentran la mayoría de los que se emplean en el tratamiento de las ETD (Holmes, 2014).

Este paso necesitaría el firme compromiso de los países afectados para controlar estas enfermedades, asegurar la distribución equitativa de los recursos sanitarios y avanzar en el objetivo global de disminuir la pobreza y lograr la cobertura sanitaria global. Las virosis como el dengue y el Chikungunya (Montero, 2015) son una

amenaza global para el bienestar y desarrollo de las poblaciones y deben combatirse en el camino por alcanzar los ODS.

## **A.2. Salud Global, un nuevo marco para la acción**

La Salud Global como área de conocimiento ha sustituido a otras disciplinas, como la medicina tropical, la salud internacional y la actividad sanitaria ligada a la ayuda al desarrollo (Koplan et al., 2009; Health, Murray & Lopez., 2013). La Salud Global actualmente incluye un gran número de actores como gobiernos locales, asociaciones filantrópicas y religiosas internacionales, organismos sanitarios globales (como la WHO) y ONG locales e internacionales (Cueto & Zamora., 2006). Para cumplir el objetivo de mejorar la salud de todos los habitantes del mundo, se requieren intervenciones específicas con el fin de combatir las enfermedades, no solo médicas o científicas, sino en la forma de financiar y organizar funcionalmente los sistemas sanitarios.

La creciente globalización del planeta implica un flujo cada vez más constante de bienes y servicios, personas y microorganismos que dificulta en gran medida el control de la diseminación de patógenos y riesgos no infecciosos. En este sentido, la Salud Global tiene como objetivo lograr, para toda la población del planeta, una atención sanitaria de calidad y el acceso a unos servicios clínicos esenciales partiendo de la premisa de que ningún país puede garantizar de forma aislada la seguridad sanitaria de sus habitantes (Brown, Cueto & Fee., 2006; Macfarlane, Jacobs & Kaaya., 2008).

### **1.2. Enfermedades globales para un mundo global.**

#### **1.2.a. Enfermedades infecciosas**

Se calcula que actualmente las enfermedades infecciosas provocan un 19% de las muertes globales (Carrera et al., 2007; Health et al., 2013; WHO, 2017).

En África, tres de cada cuatro muertes todavía pueden atribuirse a causas infecciosas, nutricionales, neonatales o relacionadas con la salud materno-infantil. Sigue siendo necesario combatir estas enfermedades para salvar vidas, mejorar el desarrollo económico y la equidad en salud e impedir su diseminación global. En cooperación sanitaria, los esfuerzos se han centrado inicialmente en programas

verticales para combatir la Malaria, el sida y la Tuberculosis con un especial énfasis en el uso de intervenciones biomédicas con alto índice de eficacia (McKee et al., 2014; Fox & Reich., 2015).

### **1.2.b. Enfermedades no transmisibles**

Más del 60% de las muertes prevenibles en todo el mundo pueden atribuirse ahora a enfermedades no transmisibles (cardiovasculares, cáncer, diabetes y enfermedades respiratorias crónicas); en los países de ingresos bajos y medios, el 48% de estas muertes se producen en personas <70 años de edad, en comparación con un 26% en los países de ingresos altos (De Cock et al., 2013). La incidencia de estas enfermedades también está aumentando rápidamente en África, una región en la que la urbanización y el crecimiento de la población son más extremos (WHO, 2017).

### **1.2.c. La salud en la agenda de los Objetivos de Desarrollo del Milenio (ODM)**

Los objetivos del desarrollo del Milenio (ODM o MDG, por sus siglas en inglés) (United Nation, 2005) reflejaban la preocupación a escala global sobre la pobreza, el hambre, la enfermedad, la falta de escolarización, la situación de la mujer y la degradación medioambiental. Los ODM transformaron la salud mundial: despertaron la conciencia de políticos y ciudadanos, catalizaron la sociedad civil y favorecieron el desarrollo de marcos adecuados de seguimiento y evaluación; además, potenciaron las comunidades de investigación y crearon nuevas instituciones asistenciales y académicas a nivel local e internacional.

Entre los periodos de 1990 y 2010 se redujo la pobreza a la mitad en los países en vías de desarrollo, sobre todo gracias al espectacular crecimiento de China. El establecimiento de este conjunto de 8 objetivos prioritarios en un periodo limitado de tiempo ha favorecido el desarrollo de concienciación global, responsabilidad política, mejora en los sistemas de medición y evaluación, compromiso social y presión pública. Sin embargo, los ODM presentaban también algunos aspectos negativos ya que ignoraban el papel central de los sistemas de salud, no prestaban la atención debida a las enfermedades no transmisibles de los países emergentes y fragmentaban los sistemas de salud, centrándose en los resultados de salud finales

relacionados con programas verticales en lugar de construir sistemas sanitarios integrales (SDGF, 2017) (González, Umaña-Peña & Donat Castelló., 2012).

#### **1.2.d. La salud en la agenda post-2015 (ODS). Retos**

En la cumbre Rio+20 se recomendó el planteamiento de un conjunto de ODS basados en el desarrollo económico, la protección sostenible del medio ambiente y la inclusión social. Es necesario un reajuste de la gobernanza a todos los niveles, local, regional, nacional e internacional para lograr estos objetivos (Sachs, 2012a). El planeta ha entrado en una nueva geológica, el Antropoceno, y la supervivencia de la especie humana depende del uso adecuado de los recursos naturales.

Las Naciones Unidas aprobaron en septiembre de 2015 los Objetivos de Desarrollo Sostenible (ODS), un paquete con 17 objetivos a desarrollar entre 2016 y 2030 (SDGF, 2017). La salud de todos los seres humanos depende de los determinantes sociales ligados a estos objetivos, aunque la salud se cita específicamente en el objetivo número 3: "*Garantizar una vida sana a todas personas durante toda su vida*". Este objetivo se relaciona directamente con la resolución de la Asamblea General de las NNUU celebrada en diciembre de 2012 en la que subrayó la necesidad de establecer una cobertura sanitaria global (*Universal Health Coverage, UHC*) como un objetivo prioritario clave en Salud Global (Vega, 2013).

En esta resolución se urge a los gobiernos a crear mecanismos de aseguramiento que agrupen los riesgos y eviten la necesidad de realizar pagos directos por la asistencia sanitaria. De este modo, la UHC se convierte en el objetivo de salud único y unificador en la agenda de los ODS (Vega, 2013).

#### **1.2.e. Riesgos en el consenso de mínimos**

El objetivo de alcanzar una cobertura sanitaria universal depende en gran medida de voluntades políticas, criterios éticos y el respeto y desarrollo de las leyes internacionales. A pesar de que el derecho la salud es universal y está reconocido en la Declaración Universal de Derechos Humanos de 1948, alcanzar ese objetivo depende totalmente de factores económicos y sociales totalmente fuera del alcance de la legislación internacional (Sachs, 2012b).

Incluso en los países ricos con grandes desigualdades en ingresos la capa social más baja puede presentar unos indicadores de salud muy bajos, como ocurre Estados Unidos donde en algunas zonas deprimidas la esperanza de vida o la mortalidad infantil son similares a los países más pobres de África (NIA, 2018). Los resultados en salud dependen de factores complejos y determinantes sociales internos y externos al sistema sanitario (Fox & Reich., 2015).

La pobreza dificulta el acceso al sector sanitario formal y empeora otros factores como la seguridad medioambiental, la calidad del agua y saneamiento, la exposición a sustancias tóxicas, la limitación del conocimiento sobre temas de salud por analfabetismo o falta de escolarización y por el efecto directo de un estatus social bajo debido al estrés fisiológico y la falta de bienestar psicosocial (Chalkidou et al., 2016).

Si los gobiernos proveen a sus ciudadanos de elementos tan básicos como agua potable, saneamiento, electricidad, un medioambiente sano e infraestructuras y transportes seguros, el sector sanitario puede realizar intervenciones altamente costo-eficaces y eliminar una porción sustancial de la carga de enfermedad excesiva en las familias pobres como resultado de las enfermedades del grupo I (infecciosas, relacionadas con la nutrición o la mortalidad materno-infantil) (Sachs, 2012 a, b).

Todas estas enfermedades pueden prevenirse, tratarse o curarse con intervenciones de bajo coste para el sector sanitario de forma que incluso en situaciones de pobreza se puede controlar y reducir gran parte de la carga de enfermedad excesiva a bajo coste (Sachs, 2012 b; Fox & Reich., 2015). La cobertura sanitaria universal debe definirse en parte como una cobertura mínima básica de necesidades sanitarias en las que se priorizan las intervenciones de bajo coste para eliminar la carga excesiva de enfermedad en la población local. Estas enfermedades deben incluirse en un paquete mínimo de cobertura universal y pertenecen al grupo I, a un subgrupo del grupo II (como la diabetes, hipertensión, enfermedad cardiovascular) y al grupo III (traumatismos, accidentes) y su prevención y tratamiento puede abordarse gran eficacia a bajo coste. Es indispensable que las políticas sanitarias influyan fuera del sector sanitario en

campos como la regulación del uso y comercio del tabaco, la producción agrícola, la provisión de infraestructuras básicas o de alimentos en las escuelas (Fusheini & Eyles., 2016).

### **1.1.2. Crisis de la cooperación sanitaria: pasado, presente y futuro**

La cooperación internacional surge en el marco general de la Ayuda al Desarrollo, auspiciada por las Naciones Unidas tras la II Guerra Mundial, por el que se crearon instituciones y programas para la cooperación económica con los países más pobres. Los acuerdos de Bretton Woods en 1944 y la creación del World Bank y el Fondo Monetario Internacional pueden considerarse el punto de partida de los programas de cooperación al desarrollo con los países pobres. El Plan Marshall de ayuda a Europa fue un éxito y favoreció la creación de agencias y programas de ayuda internacional.

Desde el punto de vista de las ayudas oficiales, podríamos decir que existen tres tipos de ayuda: la humanitaria o de emergencia, la caritativa (gestionada habitualmente por ONG) y la ayuda sistemática de los gobiernos. Esta última es la más importante en magnitud y económicamente se vehiculiza en forma de créditos reembolsables con tipos de interés bajo y a largo plazo o de donaciones o ayuda no reembolsable (Cinca, 2016).

La Cooperación Sanitaria se canaliza actualmente por las tres vías anteriormente descritas, aunque es la asistencia caritativa, especialmente de las ONG religiosas, la que más tradición y peso tiene en el continente africano, donde se gestionan hospitales y centros de salud en algunos casos desde hace un siglo. Esta cooperación se entrelaza con la historia colonial de las potencias europeas, ya que la mayoría de estas órdenes se establecieron en las antiguas colonias gracias a donaciones territoriales o usufructos otorgados por las administraciones coloniales (Manji & O'Coill., 2002). Respecto a la ayuda humanitaria, organizaciones como MSF ofrecen desde hace años ayuda y gestión sanitaria en situaciones de crisis con fuentes de financiación independiente.

Con todo, es la ayuda gubernamental sistemática la que más peso cuantitativo tiene y puede ser bilateral, cuando los fondos se destinan a un país concreto

mediante una agencia de cooperación estatal o multilateral o cuando los fondos se aportan a una iniciativa internacional. El primer formato suele ser más eficaz y en muchos casos está condicionado por intereses comerciales, como la concesión de préstamos para adquisición de bienes y servicios proporcionados por el propio prestatario (Buse & Gwin., 1998).

La Cooperación Española al Desarrollo se viene realizando de forma sistemática desde los años 70, en los que se instauró la Ayuda Oficial al Desarrollo (AOD) desde la Administración Central del Estado. Estas ayudas oficiales se dirigieron desde el principio a las antiguas colonias españolas (Latinoamérica y Guinea Ecuatorial) y se vincularon a intereses comerciales de las empresas que las utilizaban como instrumento de internacionalización (créditos FAD) (Chirino & Melin., 2003). Tras la adhesión de España a la CE en los años 80, la Cooperación al Desarrollo recibe un notable impulso y la sociedad civil se incorpora activamente a través de las ONGD (Organizaciones no Gubernamentales para el Desarrollo).

El marco legal se regula ya en el año 1987 con la aprobación de las primeras "Líneas Directrices de la Política Española de Cooperación al Desarrollo" que van a regir esta actividad hasta el año 1998, una fecha clave en la que se plantea el objetivo de destinar a la ayuda al desarrollo un 0,7% del PIB, como ya en 1970, había decidido la Asamblea General de las Naciones Unidas (Jerez, Sampedro & Rey., 2008).

En estos años se aumenta la ayuda a África hasta alcanzar un 38% del total y los fondos se reparten, en su casi totalidad, entre América Latina y África. La Agencia Española de Cooperación para el Desarrollo (AECI) se crea a finales de la década de los ochenta con el objetivo de que gestione los fondos de cooperación bilateral no reembolsables.

En el año 1991, España entra a formar parte del Comité de Ayuda al Desarrollo (CAD) de la OCDE, un paso clave en la transición del modelo de país receptor a país donante. En 1998 se publica la Ley de Cooperación Internacional para el Desarrollo (BOE, 1998) y la política de cooperación adquiere cada vez más peso en las relaciones exteriores del país. Pero, aunque la ayuda aumentó de forma

considerable y en el año 2009, llegó a alcanzar un 0,46% del PIB, la crisis económica y social de la última década ha provocado un retroceso cuantitativo muy importante y en 2015 el porcentaje fue tan solo del 0,13%.

Los recortes del Gobierno español a la ayuda al desarrollo han reducido, por ejemplo, su aportación al Programa de las Naciones Unidas para el Desarrollo (PNUD) de 331 millones de euros en 2008 a 4 millones en 2014, (una reducción del 99%) (Oxfam-Intermon, 2016). Información actualizada sobre este tema encontramos en el informe Salud y Desarrollo de Acción por la Salud Global (Médicos del Mundo, 2016). De este programa salen los fondos que harán realidad el cumplimiento de los ODS.

En el contexto europeo, España se caracteriza también por presentar una multiplicidad de iniciativas de las diferentes Comunidades Autónomas y ciudades que diversifican en gran medida y dificultan la coordinación y canalización de la ayuda de forma eficaz.

Debe señalarse claramente que si consideramos la distribución de los fondos totales distribuidos por CAD a nivel global en 2014 (577 mil millones de dólares) un 24% era AOD (fondos aportados por estados, a la cabeza EE UU, RU, Alemania, Francia y Japón) un 6% fondos netos de ONG y un 70% donaciones privadas (entre las que destaca la Fundación de Bill y Melinda Gates, entre otras) (Cinca, 2016).

Actualmente, unos 836 millones de personas viven con menos de 1 dólar al día, 2400 millones sin saneamientos, 663 sin acceso a agua potable, 780 con malnutrición crónica, 300.000 mujeres mueren por el embarazo o parto y 3 millones de niños mueren por causas neonatales (SDGF, 2017; WHO, 2017). La cooperación sanitaria para el Desarrollo se ha centrado en proyectos encaminados a combatir las enfermedades asociadas a la pobreza y la desigualdad de elevada morbimortalidad como la Malaria. Buenos ejemplos de proyectos del contexto español encaminados al control de estas enfermedades son el Centro de Maniça en Mozambique (ISG Global) donde los esfuerzos se han centrado en la búsqueda de una vacuna eficaz o la administración de profilaxis antipalúdica intermitente a embarazadas (Alonso et al., 1994; Menéndez, Fleming, & Alonso, 2000; Alonso et al.,

2005; Macete et al., 2006). En Guinea Ecuatorial, el Centro Nacional de Medicina Tropical (CNMT) del Instituto Carlos III ha pilotado proyectos como el Control del Paludismo en la isla de Bioko (1991-2000) y la creación de un Centro de Referencia para el Control de Endemias en Guinea Ecuatorial (CRCE). En 2002, en donde se ha colaborado en áreas clave como el diseño y desarrollo de nuevos métodos diagnósticos en el terreno o el control vectorial (Rubio et al., 1999; Cano et al., 2004). El CNMT también está colaborando en el diseño, construcción y dotación de un Laboratorio de Salud Pública en Malabo (Guinea Infomarket, 2017),

Por otro lado, el creciente interés por la cooperación, que se refleja en las numerosas iniciativas privadas del ámbito religioso, asociativo, sanitario y académico debe canalizarse de forma eficaz para construir sinergias, evitar duplicidades y conseguir resultados eficaces. Hay que desarrollar iniciativas de cooperación entre las diferentes ONG como bancos de proyectos, páginas web con buscadores de voluntarios y proyectos y crear grupos de trabajo y asociaciones de ONG con objetivos comunes (Go Overseas, 2009; Global Health Volunteering (GHVP), 2009)

También es importante desarrollar la formación adecuada del personal mediante la inclusión de asignaturas específicas en los cursos de pregrado y la implantación de cursos de Máster especializados en cooperación sanitaria en países de renta baja. En este sentido, cada vez más organizaciones académicas de nuestros países ofrecen cursos y maestrías en este campo (Gil Iriondo., 2018).

### **1.1.3. El futuro de la financiación de la salud**

Para alcanzar el objetivo común de una cobertura sanitaria global es necesario adoptar una estrategia ambiciosa y realista (Sachs, 2012b; Vega, 2013; Fox & Reich., 2015). Los sistemas sanitarios con atención sanitaria universal, tal como se reflejan en los ODS, mejoran al máximo los resultados sanitarios, favorecen la distribución equitativa de recursos, son accesibles desde el punto de vista financiero y geográfico, permiten acceder a los recursos con eficiencia y evitan el gasto sanitario catastrófico que puede sumir en la miseria a las familias (Owho et al., 2014).

En el momento actual, el sector privado en los países de rentas bajas y medias es heterogéneo e incluye desde vendedores ambulantes de fármacos y curanderos locales que atienden a la población más pobre hasta sofisticados hospitales privados para la élite económica del país (McPake & Hanson., 2016).

El tamaño y calidad de estos proveedores privados es muy variado, aunque pueden agruparse de la siguiente forma: sector local no cualificado de baja calidad, ONG locales y extranjeras que operan a diversos niveles, consultas privadas registradas de tamaño pequeño o mediano y hospitales comerciales corporativos, un sector que está creciendo a gran velocidad en todo el mundo (McPake & Hanson., 2016). El futuro de la financiación sanitaria dependerá de la capacidad de cada gobierno para potenciar al máximo una asistencia pública de calidad en el contexto de un mercado sanitario con proveedores públicos y privados (Mackintosh et al., 2016).

El principal objetivo de las políticas gubernamentales sanitarias debe ser regular la asistencia pública y privada para conseguir una atención de calidad y asequible para toda la población. No es posible establecer una recomendación clara sobre el porcentaje de financiación que deben aportar los gobiernos y dependerá en cada caso de su capacidad financiera y reguladora (McKee et al., 2014). Algunos países como Bangladesh y Tailandia han conseguido alcanzar un sistema sanitario con cobertura universal y financiación pública de una calidad razonable potenciando una red de clínicas privadas y hospitales públicos y sistemas de aseguramiento público y privado (Tangcharoensathien, Limwattananon, Patcharanarumol & Thammatacharee., 2014; Blecher et al., 2016).

Sin embargo, a la hora de conseguir un paquete mínimo de intervenciones sanitarias hay que considerar cómo se financia y se organiza la provisión de los cuidados sanitarios. La financiación puede obtenerse directamente del presupuesto nacional, por pagos privados, directo o por aseguradoras, o por la provisión directa de ONG (como hemos indicado ya, la mayoría religiosas). En los países de rentas más bajas, hay aspectos básicos de la pobreza que impiden el acceso a la cobertura sanitaria a muchas familias con economías de subsistencia que no pueden pagar absolutamente nada para atención sanitaria, simplemente

porque no tienen dinero en efectivo durante muchos meses del año hasta que no llega la cosecha, o porque en la familia, la madre, que es normalmente la que cuida de los niños, no tiene acceso al dinero en efectivo que tiene el marido (WHO, 2017).

#### **1.1.4. Características generales de Etiopía**

##### **1.1.4.a. Entorno geográfico, político, social y económico**

###### **A. Geografía**

Etiopía es un país sin litoral marítimo porque toda la costa del Mar Rojo se perdió con la independencia de Eritrea el 24 de mayo de 1993, de manera que es el país sin litoral más poblado del mundo. La principal fuente del Nilo se encuentra en el lago Tana al noroeste de Etiopía.

En el centro del país se elevan las tierras altas o *Highland* ampliamente pobladas y por las que discurre de norte a sur el valle del Rift, jalonado por numerosos lagos de origen volcánico. Al este se encuentra en desierto somalí y hacia el oeste la frontera con Sudán. Se cree que tres importantes cultivos se originaron en Etiopía: café, sorgo y ricino (World Bank, 2017)

Se calcula una población actual de unos 102.374.044 habitantes, entre la que los grupos étnicos principales son los Oromo 34,4%, Amhara (Amara) 27%, Somali (Somalia) 6,2%, Tigray (Tigrinya) 6,1%, Sidama 4%, Gurage 2,5%, Wolaita 2,3%, Hadiya 1,7%, Afar %, Gedeo 1,3%, Silte 1,3%, Kefficho 1,2%, y otros 8,8% (estimaciones de 2007) (Assefa, 2017). Las lenguas más habladas son el Oromo (33,8%), Amharico (lengua oficial nacional) 29,3%, Somali (lengua oficial de trabajo del Estado de Sumale) 6,2%, Tigrina (lengua de trabajo oficial del Estado de Tigray) y 5,9%, Sidamo y la distribución por religiones es: ortodoxa etíope 43,5%, musulmán 33,9%, protestante 18,5%, tradicional 2,7%, católica 0,7%, otro 0,6% (CIA, 2017).

###### **B. Perfil demográfico**

Etiopía es un país predominantemente agrícola, más del 80% de la población vive en zonas rurales, que se encuentra en las primeras etapas de la transición demográfica. La mortalidad infantil y materna ha disminuido drásticamente durante la última década, pero la tasa de fecundidad total ha disminuido más

lentamente y la población sigue creciendo a pesar del retraso creciente en la edad de matrimonio y la mayor proporción de mujeres solteras (WHO, 2017).

La tasa global de uso de anticonceptivos (27% en 2012) es muy baja. El rápido crecimiento de la población en Etiopía aumenta la presión sobre los recursos de la tierra, eleva la degradación ambiental y la vulnerabilidad de la población ante la escasez de alimentos. Con más del 40 por ciento de la población menor de 15 años y una tasa de fecundidad de más de 5 hijos por mujer (e incluso más en las zonas rurales), Etiopía tendrá que seguir avanzando en el logro de sus necesidades de planificación familiar si desea lograr la estructura de edad necesaria para afrontar su desarrollo integral en las próximas décadas (WHO, 2018).

La pobreza, la sequía, la represión política y el reasentamiento forzoso del gobierno han impulsado la migración interna y externa de Etiopía desde los años sesenta (Assefa, 2017). Antes de la revolución de 1974, sólo un pequeño número de la élite etíope fue al extranjero a estudiar y luego regresó a su país, pero bajo el brutal régimen de Derg, miles de personas huyeron del país, principalmente como refugiados.

Entre 1982 y 1991 se produjo una nueva ola de migración hacia Occidente para la reunificación familiar. Desde la derrota del Derg en 1991, los etíopes han emigrado para escapar de la violencia entre algunos de los grupos étnicos del país o para buscar nuevas oportunidades económicas. La exportación internacional de mujeres y niños para el trabajo doméstico en régimen de semiesclavitud y la prostitución es un problema creciente.

La base de la pirámide poblacional está formada por un 44% de niños de 0 a 14 años y la edad media de la población es de 17, 8 años; esto junto con un índice de natalidad de 36,9 nacimientos por 1000 habitantes resulta un crecimiento demográfico anual del 2,88% (CIA, 2017).

### **C. Situación económica y social**

Etiopía es el segundo país más poblado de África Subsahariana y uno de los más pobres del mundo con una renta per cápita de 590 dólares, notablemente inferior a

la media regional (UNDP, 2017). Su economía ha crecido de forma sostenida en los últimos años a un promedio del 10,8% por año entre los años 2003/04 - 2014/15, en comparación con el promedio regional del 5,4%. Este crecimiento depende fundamentalmente de la expansión de los sectores servicios y agrícola. El crecimiento económico ha reducido la pobreza de forma desequilibrada en las áreas rurales y urbanas. Actualmente uno de cada tres etíopes vive en condiciones de pobreza extrema (ingresos inferiores a 2 dólares al día) (World Bank, 2017).

Etiopía también es uno de los países que han hecho mayores progresos para conseguir los Objetivos de Desarrollo del Milenio (ODM). En los dos últimos decenios se han producido avances significativos en los principales indicadores de desarrollo humano: el número de alumnos en las escuelas primarias se ha cuadruplicado, la mortalidad infantil se ha reducido a la mitad y el número de personas con acceso a agua potable se ha duplicado. Etiopía está planificando estratégicamente los Objetivos de Desarrollo Sostenible (Economist Intelligence Unit [EIU], 2016).

En el marco de su estrategia nacional, los ODM se implementaron gracias a la coordinación de las partes interesadas y el liderazgo gubernamental de una manera organizada y estructurada en todo el país. Etiopía ha seguido políticas a favor de los pobres, poniendo en marcha planes y programas de desarrollo con notables logros en el ámbito de crecimiento económico, desarrollo social y de gestión ambiental. De esta forma, las experiencias de desarrollo han servido de base para la elaboración de una estrategia racional de aprovechamiento de oportunidades de futuro. Etiopía ha aceptado y respaldado la Agenda 2030 para el Desarrollo Sostenible con compromisos nacionales y el firme propósito de implementar la Agenda 2030 y sus Objetivos de Desarrollo Sostenible (ODS) como parte integral de su marco de desarrollo nacional (United Nations, 2017)

#### **1.1.4.b. Condicionantes de salud de Etiopía**

Según los datos del *Global Health Observatory* (en enero de 2015), Etiopía es un país con unos indicadores demográficos básicos típicos de un país africano en el que el 48% de la población son menores de 15 años, la tasa de fertilidad es de 4,5 hijos y la esperanza de vida al nacer es de 64 años (WHO, 2016).

Sin embargo, a lo largo de estos años, ha habido algunos cambios. Así, la esperanza de vida ha aumentado en 13 años para ambos sexos durante el periodo 2000-2012. Los indicadores de salud relacionados con los ODS (United Nations, 2005) han mejorado claramente desde el año 1990 al 2012: la mortalidad en menores de 5 años (x 1000 nacidos vivos) ha disminuido de 205 a 64, la tasa de mortalidad materna (x 100.000 nacidos vivos) de 1400 a 400 y las muertes por VIH, Malaria y Tuberculosis se han reducido, respectivamente, de 131,7 a 54,6, de 42,5 a 16,4 y 102 a 33 en personas VIH negativas (WHO, 2016).

Las principales causas de muerte en menores de 5 años son las infecciones respiratorias agudas (19%), asfixia en el nacimiento (15%), prematuridad (12%), diarrea (9%), sepsis neonatal (8%), lesiones al nacer (7%), anomalías congénitas (5%), Malaria (3%), VIH-SIDA (2%) y sarampión (2%). La cobertura vacunal de DPT3 en niños de un año es aproximadamente del 70%. y el gasto total per cápita en 2014 fue de 73 dólares americanos o el 4,9 % del PIB (WHO, 2017).

El promedio con un PIB per cápita de 859 dólares (de los diez países más pobres del mundo) (UNDP, 2017). La economía del país está basada en la agricultura que absorbe el 45% del PIB, el 90% de las exportaciones y el 80% de la mano de obra. Los procesos de sequía han convertido gran parte de las extensiones de terreno de cultivo en zonas áridas y semiáridas. Se trata de un país necesitado de ayuda exterior que es beneficiario de 1,6 mil millones de dólares al año.

Actualmente, según los datos publicados por la WHO, el 50% de la población infantil etíope presenta un retraso del crecimiento para su edad, el porcentaje de niños menores de 5 años con insuficiencia ponderal para la edad es de un 34,6% y la probabilidad de morir antes de cumplir los 4 años por 1000 nacidos vivos es de 119. En este país el acceso a fuentes mejoradas de agua potable se encuentra entre las más bajas a nivel mundial (42%) (WHO, 2016). Una buena noticia al respecto es que Etiopía es uno de los países con una mayor tendencia a alcanzar los objetivos propuestos por la WHO, al menos en cuanto al acceso al agua potable se refiere.

#### 1.1.4.c. Estructura del sistema sanitario de Etiopía

El país dedica el 3,9% del PIB a gasto de salud. La estructura sanitaria se basa en minúsculos centros o puestos de salud ("*Health Posts*") de los que hay 9.914, lo que significa que para cada 10.000 habitantes hay 1,2 puestos de salud. A continuación, están los Centros de Salud ("*Health Center*"), tan solo 690 en todo el país, lo que representa 1 centro por cada 100.000 habitantes. En cuanto a los hospitales, se contabilizan 143, es decir, uno por cada 1,8 millones de habitantes y la mayoría no tienen más de 130 camas y cuentan con recursos muy limitados (AHO, African Hebrew Organization, 2017).

Respecto a los trabajadores de salud en Etiopía, hay 1.806 médicos, lo que corresponde a 2,34 médicos por cada 100.000 habitantes. La enfermería y los asistentes médicos (*Medical assistants*) desempeñan un papel fundamental de la atención de salud en los países en vías de desarrollo, ya que sus salarios son inferiores y suelen residir cerca del centro de trabajo con sus familiares. En la página del Ministerio Etíope de Salud (Ministry of Health Ethiopia, 2017) se pueden encontrar más datos sobre la situación sanitaria del país.

#### 1.1.5. El Hospital de Gambo

Gambo se encuentra dentro de la región de Oromía, en la comuna de Koma Sade, Distrito de Kore, Provincia Occidental del Arsi (Hospital de Gambo, 2015).



**Figura 1.-** Tierras altas de Etiopía (Oromía) (Colección privada del doctorando).

La región de Oromía (casi un tercio del país, 353.632 kilómetros cuadrados), es la más poblada de Etiopía con unos 27 millones de habitantes, de los cuales sólo el 11% vive en ciudades. La capital de Etiopía, Addis Abeba, se encuentra dentro del territorio de la Oromía (World Bank, 2015), donde recientemente se han producido

disturbios (2016) debido al descontento de la población local con las políticas de gestión territorial del gobierno (Abebe Fentaw Nebebe., 2016).

El grupo étnico mayoritario en la Oromia es el pueblo Oromo, lo que representa el (87,8%, censo de 2007, datos de la Agencia Central de Estadística de Etiopía).



**Figura 2.-** Viviendas de la población autóctona oromo en los alrededores del Hospital de Gambo (Colección privada del doctorando).

Las principales actividades de la región son la agricultura y la ganadería; la región de Oromia produce cerca del 50% del café etíope y tiene aproximadamente 17 millones de cabezas de ganado vacuno (44% del total nacional) (CSA Ethiopia, 2017). Entre la población que vive en las tierras altas (Figura 1), alrededor de Gambo, una gran parte en viviendas tradicionales (Figura 2), la mayoría de los habitantes son pequeños agricultores especializados en la cría de ganado, caballos y ovejas, y la agricultura se está extendiendo lentamente con la producción de cereales y hortalizas (Hospital de Gambo, 2015).

El pueblo de Gambo está situado en una pendiente en ascenso en el Valle del Rift, a 2.200 metros sobre el nivel del mar. Se encuentra a 18 kilómetros de Arsi Negele, lo que supone un viaje por una pista de tierra (Figura 3) que dura de aproximadamente una hora en transporte público.



**Figura 3.-** Pista de acceso al Hospital de Gambo. (Colección privada del doctorando).

Está rodeado de bosques, exuberante vegetación y vida silvestre. Debido a la elevación, el clima es afroalpino, caracterizado por variaciones de temperatura más significativas entre el día y la noche que los registrados entre los cambios de temporada. La zona está rodeada de innumerables senderos de tierra que conducen a las numerosas aldeas que conforman la población del Hospital de Gambo.

#### **1.1.5.a. Breve historia del hospital**

En 1922, un grupo de frailes capuchinos creó la Misión Gambo como leprosería para proporcionar atención médica a la numerosa población local afectada por esta enfermedad. En los años 60 la leprosería acogía a casi 40 pacientes y sus familias en un recinto de cabañas tradicionales. En 1969, construyó un nuevo complejo de edificios de mortero y la leprosería de Gambo se convirtió en el centro oficial del Programa Nacional de Lepra en la Provincia de Arsi (Ramos, Reyes, Lemma, Belinchón & Gómez., 2011, Ramos et al., 2014) responsable de las actividades de control y supervisión de toda la provincia.



**Figura 4.-** Puerta de acceso al hospital (Colección privada del doctorando).

La introducción en 1981 del tratamiento con múltiples fármacos para la lepra (MDT) (WHO, 2017) permitió finalmente que los pacientes fueran dados de alta de los centros de cuidados crónicos y pudieran regresar a sus comunidades sin riesgo para el resto de la población, de manera que Gambo se convirtió en un centro sanitario que se transformó oficialmente en 1987 en un hospital general con 140 camas, gracias al apoyo financiero y técnico de 1985 a 1995 de CUAMM (Médicos con África) (CUAMM, 2017). En 1989, la responsabilidad del Programa Nacional de Lepra en Arsi fue asumida por el Gobierno Federal de Etiopía, aunque el Hospital General Rural de Gambo continuó con una sala completamente equipada de lepra para el tratamiento de pacientes de lepra con complicaciones.

Actualmente el Ministerio de Sanidad etíope clasifica a Gambo como un hospital de distrito y el hospital debe seguir las normas, directrices y protocolos nacionales que se aplican en todos los hospitales de distrito etíopes. El Hospital Gambo participa en todos los Programas Nacionales de Salud de Etiopía como los Programas de control de Tuberculosis y Lepra, Prevención y el Diagnóstico del VIH, Tratamiento Antirretroviral (TARV) y Prevención de la Transmisión Materno infantil (PTMI) (Ministry of Health, Ethiopia, 2017); también forma parte de las redes de Centros de Alimentación Terapéutica para la Desnutrición Aguda Grave y participa mediante campañas regulares y en situaciones de emergencia en el Programa Ampliado de Inmunización (Ministry of Health Ethiopia, 2017).

#### **1.1.5.b. Dotación y actividad asistencial**

El Hospital de Gambo atiende un área de casi 435.000 personas de las que 71.000 son menores de 5 años y 16.000 gestantes. El hospital tiene 174 camas y se atienden unas 25.000 consultas externas al año. Las instalaciones pueden observarse en la Figura 5.

# MAP OF GAMBO HOSPITAL

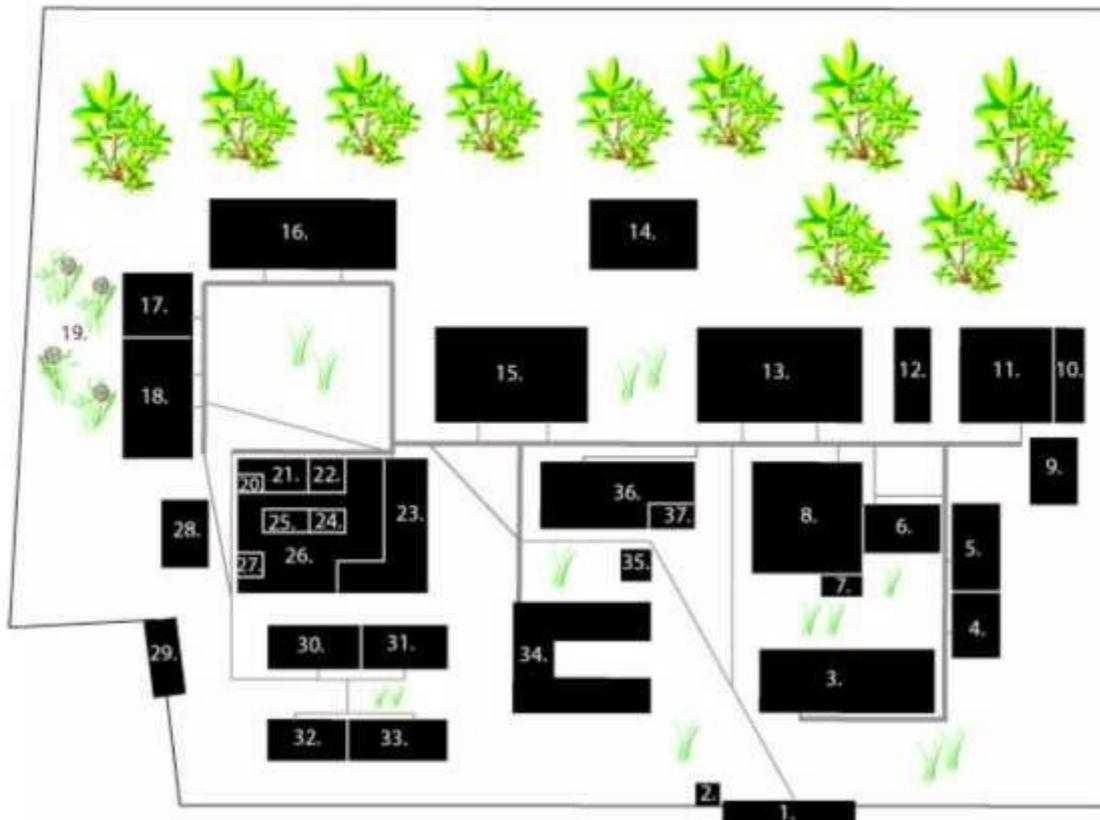
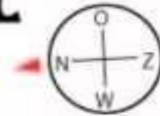


Figura 5.- Plano del Hospital de Gambo.

1 Puerta de entrada principal (puede observarse en la Figura 4)

## Administración

2 a 7 Gerencia y otros servicios centrales

## Consultas externas

20, 22, 23, 29 Consultas externas (OPD)

30. Clínica pediátrica < 5 años

31. MCH Clínica materno-infantil (18 camas)

32. ART (Clínica VIH)

33. ORL, oftalmología

### **Salas de pacientes ingresados**

- 8. Quirófanos (2 quirófanos)
- 13. Sala de Cirugía
- 15. Sala de Medicina Interna (25 camas) (Figura 11)
- 16. Sala de Lepra (45 camas)
- 34. Sala de Pediatría (39 camas) (Figura 10)
- 36. Maternidad
- 37. Banco de sangre

### **Servicios centrales**

- 18. Farmacia
- 21. Laboratorio (Figura 7, 8 y 9)



**Figura 6.-** Sala de reuniones en el área de gerencia (Colección privada del doctorando).



**Figura 7. –** Pacientes esperando para entregar muestras en el laboratorio (Foto: [Pablo María Matamolu](#)).



**Figura 8.-** Área de recepción de muestras (Foto: [Pablo Maria Matamolu](#)).



**Figura 9.-** Técnicos de laboratorio al microscopio (Foto: [Pablo Maria Matamolu](#)).



**Figura 10.-** Sala de Pediatría (Foto: [Pablo Maria Matamolu](#)).



**Figura 11.-** Sala de Medicina Interna (Foto: [Pablo Maria Matamolu](#)).

El Hospital y la Misión emplean un total combinado de aproximadamente 400 personas, de las cuales en el año 2015 había dos médicos generales (etíopes), un cirujano (etíope), un especialista en medicina interna (español) y un ginecólogo (holandés). El hospital recibe continuamente voluntarios, sobre todo de España, Italia u Holanda que trabajan en tareas asistenciales médicas, quirúrgicas o en el laboratorio.

## **1.2. Enfermedades infecciosas de alto impacto en Etiopía que se tratan en el Hospital de Gambo**

### **1. 2.1. Tuberculosis**

#### **1. 2.1. a. Contexto de la situación en el país**

Etiopía es uno de los 22 países con mayor carga de enfermedad por Tuberculosis (TB) del mundo y la TB sigue siendo una de las principales causas de mortalidad en este país. Según el informe de la WHO de 2014, la prevalencia e incidencia de todas las formas de TB fue de 211 y 224 por 100.000 de la población, respectivamente. Excluyendo las muertes relacionadas con el VIH, en 2013 la mortalidad por Tuberculosis se estimó en 32 por 100.000 de la población (Kebede et al., 2014).

Alrededor del 13% de todos los nuevos casos de Tuberculosis también están coinfectados por el VIH (AHO, 2017). Además, Etiopía es uno de los países con mayor carga de Tuberculosis TB / VIH multirresistente. Entre los pacientes de Tuberculosis con estado de VIH conocido, alrededor del 11% estaban coinfectados

por el VIH. Según el reciente informe nacional de vigilancia de la resistencia a los medicamentos contra la Tuberculosis, se estima que el 2,3% de los nuevos casos de Tuberculosis y el 17,8% de los casos de Tuberculosis tratados previamente tenían MDR TB (WHO, 2016).

Hay que indicar que el Objetivo de Desarrollo del Milenio nº6 para reducir la incidencia de la Tuberculosis a la mitad ya se había conseguido en el año 2015 en Etiopía. A nivel nacional, la tasa de incidencia de la Tuberculosis se había reducido a 224 por 100.000 habitantes en 2013 frente a 369 en 1990 (Kebede et al., 2014). Etiopía también ha logrado el objetivo de una reducción del 50% de la tasa de mortalidad por Tuberculosis: en 2013, la tasa nacional de mortalidad por TB había disminuido en un 64%.

La WHO desempeña un papel clave en la dirección y coordinación de organizaciones sanitarias que luchan contra la TB/VIH y la Tuberculosis resistente a múltiples fármacos MDR, como los Centros para el Control de Enfermedades (CDC), la Fundación Bristol-Myers Squibb o USAID. La WHO ha apoyado al Ministerio Federal de Salud (FMoH) (MOH, 2017) a través del Comité Asesor de Investigación sobre la Tuberculosis (TRAC, por sus siglas en inglés) en la determinación de las prioridades de investigación sobre Tuberculosis y TB / VIH, en la investigación operativa y en la difusión de los resultados de la investigación.

El año 2016 marca el comienzo de la era de los Objetivos de Desarrollo Sostenible (ODS). Etiopía está progresando en la lucha contra la Tuberculosis (TB), una de las principales enfermedades infecciosas del país, junto con el VIH. El gobierno etíope se ha comprometido a poner fin a la Tuberculosis como problema de salud pública en el año 2030 y ha integrado plenamente en su Plan Estratégico Nacional de TB la Estrategia de la WHO para la Eliminación de la Tuberculosis, la nueva hoja de ruta para que los países pongan fin a esta mortal enfermedad.

La microscopía de esputo es la única prueba de diagnóstico disponible en la mayoría de los hospitales rurales del África subsahariana. En numerosos estudios de ha confirmado que la fluorescencia tiene un rendimiento diagnóstico superior a la tinción de Ziehl-Neelsen (ZN) con microscopía óptica (Githui et al., 1993; Singh et al.,

1998; Kivihya-Ndugga et al., 2003; Prasanti et al. 2005; Häscheid et al., 2007; Steingart et al., 2007).

Según los resultados de una revisión sistemática realizada con 18 estudios, con una especificidad similar al ZN, la auramina aumenta un 10% la sensibilidad de la microscopía (Steingart et al., 2007) y reduce el tiempo necesario para revisar una muestra. Esta ventaja es fundamental en laboratorios sobrecargados de trabajo, donde la mayoría de las muestras son negativas. Según un documento de consenso de la Unión Internacional para la lucha contra la Tuberculosis, es necesario revisar una muestra un tiempo mínimo de 5 minutos antes de registrar el resultado como negativo (IUATLD, 2018).

En numerosos estudios realizados en el terreno en África se confirma que el tiempo medio de estudio no supera los 2 minutos (Cambanis et al., 2007) con pérdidas diagnósticas de hasta el 50 % (Cambanis et al., 2007). En otro estudio se demostró que el examen con auramina de una muestra de esputo durante 1 minuto es equivalente a la revisión de un ZN durante 4 minutos (Bennedsen et al., 1966).

A pesar de las claras ventajas de la microscopía de fluorescencia, la microscopía de luz óptica convencional sigue siendo el método diagnóstico principal y el único disponible en una mayoría de los países de renta baja (Githui et al., 1993). El principal motivo por el que la microscopía de fluorescencia no se utiliza en estos países es su limitada vida útil (200-300 h) y el costo de las lámparas convencionales de mercurio (Anthony et al., 2006). El encendido y apagado frecuente, tan común en entornos rurales donde el suministro eléctrico falla con mucha frecuencia es otro de los motivos por el que se acortaba la vida útil de las lámparas, que tienen un coste muy elevado, requieren una fuente de alimentación potente y liberan sustancias tóxicas como el mercurio al medio ambiente (Anthony et al., 2006), por no hablar de los elevados costes de mantenimiento (Van Hung, 2007).

Actualmente, la tecnología de diodos emisores de luz (LED) permite disponer de una fuente de luz barata y fiable con una vida útil de hasta 150.000h. El encendido y apagado frecuentes no acorta su vida útil y no presentan ningún riesgo de toxicidad (Anthony et al., 2006). En diversos estudios clínicos previos se ha

comprobado la utilidad de la microscopía de fluorescencia (Hänscheid et al., 2007; Marais et al., 2008) y en el año 2012 se decidió introducir esta tecnología en el laboratorio clínico del Hospital de Gambo y realizar un estudio para comparar los resultados obtenidos en 6 meses con la microscopía de fluorescencia con lámpara LED y tinción de auramina con los de resultados un estudio de prevalencia anterior realizado con microscopía óptica y tinción de ZN.

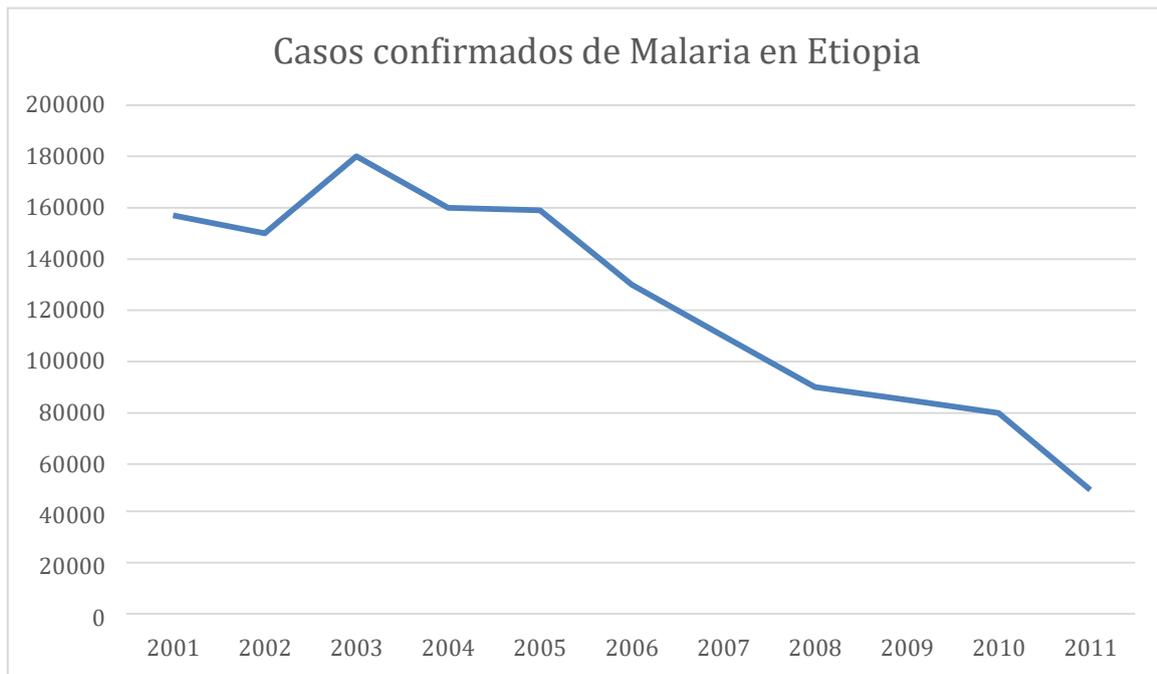
## **1.2.2. Malaria**

### **1.2.2.a. Contexto de la situación en el país**

La Malaria es uno de los principales problemas de salud pública en la mayor parte del África subsahariana, particularmente en Etiopía. Se estima que en aproximadamente un 75% de la superficie de Etiopía existe transmisión activa de la enfermedad y que aproximadamente el 68% de la población corre el riesgo de padecer Malaria correspondiente a la población humana que vive en zonas inferiores a 2000m (Midekisa, Senay, Henebry, Semuniguse & Wimberly., 2012).

Los brotes epidémicos de Malaria a gran escala ocurren particularmente en las tierras altas de Etiopía donde la transmisión es inestable, la inmunidad de la población es baja y casi todos los grupos de edad de la población corren el riesgo de morbilidad y mortalidad severas por Malaria. En Etiopía, las epidemias ocurren en ciclos de 5-8 años; algunas de especial intensidad como las ocurridas en 2003 y 2005.

La mortalidad e incidencia de la Malaria en Etiopía ha disminuido considerablemente en la última década, según muestra la Figura 12 (Aregawi, 2014), en respuesta a una intervención ampliada en todo el territorio nacional desarrollada a partir del año 2005.



**Figura 12.-** Reducción de los casos confirmados de Malaria entre 2001 y 2011. Modificado de Aregawi et al., 2014.

### **A. Distribución geográfica y epidemiología**

La transmisión del paludismo en Etiopía se produce principalmente hasta la elevación de 2000 metros, aunque ocasionalmente puede afectar áreas de hasta 2300m de elevación. Sin embargo, los niveles de riesgo de Malaria y de intensidad de transmisión dentro de estos rangos geográficos muestran una marcada variabilidad estacional, interanual y espacial debido a las grandes diferencias climáticas (temperatura, lluvia y humedad relativa), topográficas (altitud, hidrología superficial, cobertura vegetal, uso de la tierra, etc.) y los patrones de asentamiento humano y movimiento poblacional (Manuel Ramos, Reyes, & Tesfamariam., 2005; Ministry of Health, Ethiopia, 2017).

En la mayor parte del país, los periodos de máxima incidencia de Malaria ocurren entre septiembre y diciembre, siguiendo las principales estaciones lluviosas (junio-septiembre) y de marzo a mayo, durante y después de las pequeñas temporadas lluviosas (febrero-marzo).

*Plasmodium falciparum* y *Plasmodium vivax* son los dos principales parásitos productores de la Malaria en Etiopía. Son prevalentes en todas las áreas endémicas

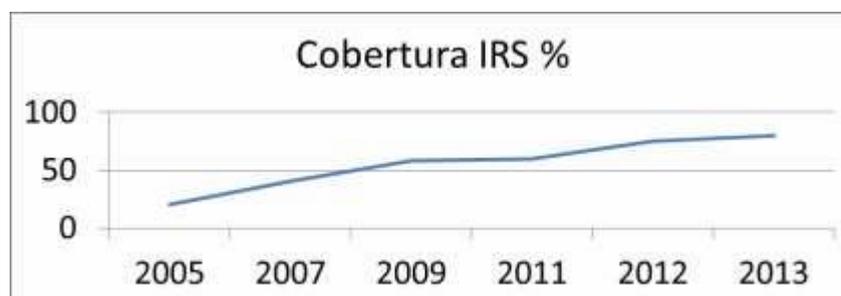
de paludismo del país y *P. falciparum* representa aproximadamente el 77% (Ministry of Health 2017) del total de casos de Malaria notificados. La frecuencia relativa varía en el tiempo y el espacio dentro de un rango geográfico, dado que *P. malariae* y *P. ovale* son raros y representan menos del 1% de todos los casos confirmados de Malaria.

El principal vector de Malaria en Etiopía es *Anopheles arabiensis*; en algunas zonas *A. pharoensis*, *A. funestus* y *A. nili* también desempeñan un papel menor en la transmisión. La construcción de nuevos megaproyectos de irrigación como la presa del milenio en el curso del Nilo Azul podría intensificar de forma notable la transmisión de la Malaria en las zonas geográficas afectadas y requerirá un estricto control de la proliferación de vectores en la zona (Kibret, Wilson, Ryder, Tekie & Petros., 2017).

#### **A.1. Políticas y estrategias de intervención**

Desde el año 1960 se llevan a cabo de forma selectiva fumigaciones con insecticidas residuales en interiores de viviendas (IRS). El DDT y la deltametrina se prohibieron a partir del año 2009 porque los vectores desarrollaron resistencia y actualmente se utilizan carbamatos. En la Figura 13, aparece el porcentaje de cobertura de fumigación con insecticidas residuales entre 2005 y 2013.

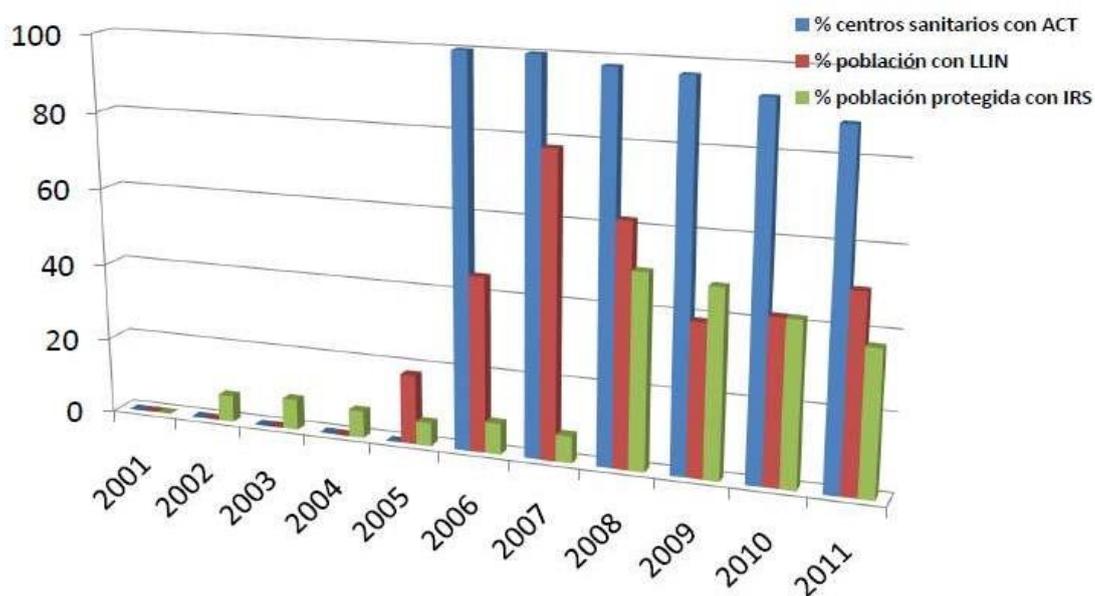
Se distribuyen de forma gratuita mosquiteras impregnadas de insecticidas de larga duración (ITNs / LLIN) en todos los grupos etarios desde el año 2004 (Ministry of Health Ethiopia, 2017). El control larvario es una de las intervenciones que se utilizan cuando es pertinente.



**Figura 13.-** Cobertura de fumigación con insecticidas residuales (Elaboración propia).

En la Figura 14 se recogen la evolución anual entre 2001 y 2011 de las tasas de protección en la población por el uso de LLIN (por sus siglas en inglés, mosquiteras impregnadas con insecticidas de larga duración), IRS y disponibilidad de tratamientos combinados con artemisininas (ACT) en los centros sanitarios.

## Tasas de protección con LLIN, IRS y ACT en Etiopía (2001-2011)



Modificado de Aregawi M y cols. (2014)

<http://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0106359>

**Figura 14.-** Evolución temporal de las tasas de protección con LLIN, IRS y ACT de la población etíope (2001-2011) (Aregawi et al., 2014).

### A.2. Diagnóstico

En todo paciente con sospecha de Malaria se realiza una prueba de diagnóstica, que es gratuita en el sector público. Los test de diagnóstico rápido o *Rapid Diagnostic Test* (RDT) y la microscopía se utilizan en el diagnóstico conforme al nivel asistencial y la disponibilidad de reactivos, los RDT en los *Health Posts* (puestos de salud) (Feleke, Tarko, & Hadush, 2017a) y microscopía en los *Health Centers* (Centros de Salud), y hospitales (Hailegiorgis et al., 2010; Biadglegne et al., 2014; Abreha et al., 2014).

### **A.3. Tratamiento**

Los medicamentos contra la Malaria se administran de forma gratuita en los centros sanitarios públicos y el protocolo nacional recomienda el tratamiento con cloroquina para *P. vivax* y la combinación de artemeter-lumefrantina para las infecciones por *P. falciparum* o infecciones mixtas por *P. falciparum* y *P. vivax* (Abreha et al., 2017). El tratamiento de la Malaria grave se realiza con quinina o artesunato (rara vez disponible) por vía parenteral. Uno de los problemas que deben resolverse para controlar la enfermedad es la reciente aparición de resistencia a cloroquina y las recaídas tardías provocadas por los hipnozoítos de *P. vivax* (Abreha et al., 2017).

### **B. Situación en el Hospital de Gambo**

En una primera evaluación de los protocolos de atención a los pacientes con Malaria en el Hospital de Gambo se observó que sólo se utilizaba el diagnóstico microscópico en extensiones finas de sangre y no la gota gruesa ni los test rápidos que serían las pruebas de mayor sensibilidad que permiten descartar la enfermedad con un valor predictivo negativo adecuado.

Por este motivo, se decidió realizar un estudio piloto para comprobar la sensibilidad de la técnica estándar local (microscopía de extensión fina) con los test rápidos y técnicas moleculares muy sensibles (LAMP Malaria) (Cuadros et al., 2015).

En muchas zonas de Etiopía, el diagnóstico de laboratorio de la Malaria sigue basándose en microscopía. Las limitaciones de la microscopía de las extensiones finas de sangre fueron un factor determinante en el fracaso del Programa Mundial de la WHO para eliminar la Malaria desarrollado en 1950-1960 (Bhadade et al., 2015).

Estudios recientes han demostrado que en muchos laboratorios clínicos de Etiopía se utilizan sólo extensiones finas (Zimmerman & Howes., 2015) con baja sensibilidad y casi total falta de control de la calidad de los resultados (Woyessa, Deressa, Ali & Lindtjørn., 2013), lo que podría afectar tanto a la sensibilidad como especificidad de esta prueba diagnóstica. Estos resultados incluso empeoran si las extensiones finas se preparan con portaobjetos reciclados, en laboratorios sin control de

calidad ni programas de formación periódica de los técnicos de laboratorio (Woyessa et al., 2013). Es posible que una situación similar sea la norma en una mayoría de centros de salud de los países africanos de renta baja, donde no se dispone de test rápidos de Malaria (TRM) fiables (Abreha et al., 2014).

En Etiopía, los RDT se suministran de forma gratuita a los puestos de salud que no disponen de microscopio, desde que estudios realizados en el terreno demostraron la fiabilidad de algunos kits para la detección de *Plasmodium falciparum* y *Plasmodium vivax* (Molyneux & Geissler., 2008). Por este motivo, algunos hospitales equipados con microscopios no están utilizando los kits de RDT y el diagnóstico de la Malaria se basa exclusivamente en la microscopía, por lo que la fiabilidad del diagnóstico en algunos entornos rurales podría ser menor.

El Hospital de Gambo se encuentra a 2.200 m de altitud sobre el nivel del mar en la región de Oromia, en una zona tradicionalmente libre de Malaria. Sin embargo, muchos pacientes con Malaria procedentes de partes más bajas del valle del Riff acuden y se tratan en el hospital. La incidencia de Malaria es menor durante la estación seca y más elevada justo después de la temporada de lluvias cuando aumenta la población de mosquitos. En este contexto un aumento de la incidencia, tras un periodo de baja incidencia durante algunos años puede provocar cuadros clínicos más graves debido a un bajo nivel de inmunidad en la población afectada (Woyessa et al., 2013).

Los estudios basados en PCR convencional realizada en laboratorios de externos son adecuados en investigación, pero requieren el envío de muestras a laboratorios de referencia y son costosos en términos económicos y administrativos.

Los resultados son apropiados para la evaluación de nuevas tecnologías, pero la PCR convencional no es una herramienta útil en los programas de control de calidad interno en laboratorios pequeños sin equipamiento específico ni personal entrenado. En los últimos años, se ha desarrollado una prueba nueva de diagnóstico molecular rápido y sencilla, la amplificación isotérmica de ADN mediada por bucle (LAMP) que no necesita equipamiento especial ni una distribución específica en los laboratorios y permite obtener resultados con una

sensibilidad similar a la PCR en tan sólo 60 minutos (Abeku, van Oortmarssen, Borsboom, de Vlas & Habbema., 2003).

Aprovechando la facilidad de uso de esta tecnología en contextos rurales y remotos, se diseñó un estudio en el terreno para comparar el método diagnóstico realizado en el Hospital de Gambo, la microscopía de extensión fina, con un TRM y un método molecular de referencia (LAMP) (Hopkins et al., 2013; Port, Nguetse, Adukpo & Velavan., 2014).

### **1.2.3. Parasitosis intestinales**

#### **1.2.3.a. Contexto de la situación del país**

Las parasitosis entéricas causadas por helmintos y protozoos suponen una enorme carga de enfermedad a escala global, sobre todo en los países de renta baja, donde se estima que unas 2000 millones de personas están infectadas por algún geohelminto (como *Ascaris lumbricoides*, *Trichuris trichiura* y uncinarias) (Alelign, Degarege & Erko., 2015) y 1500 millones más por diferentes protozoos intestinales (Ghiwot, Degarege & Erko., 2014) Estas infecciones representan un grave problema de salud pública en los países de renta baja porque pueden causar malnutrición, anemia, obstrucción intestinal y retraso físico y mental (Ghiwot et al., 2014). Además, se calcula que 258 millones de personas de todo el mundo están infectadas por *Schistosoma* spp. y la mayoría de los afectados se encuentran en el continente africano (WHO, 2017).

La situación es especialmente preocupante en los países del África subsahariana y, más concretamente en Etiopía, donde las condiciones climáticas permiten el desarrollo de los geohelmintos en todo el territorio, salvo en zonas desérticas de Somalia y la región Afar, donde la temperatura es demasiado elevada para el desarrollo del ciclo parasitario (Deribe et al., 2012). En algunas zonas del país la prevalencia de geohelmintiasis alcanza el 83% (Mengistu Legesse, 2004). Numerosos estudios han relacionado esta elevada prevalencia con factores de riesgo como falta de saneamiento, caminar descalzos, falta de higiene personal, no utilización de letrinas, analfabetismo de los progenitores o habitar viviendas con suelo de tierra (Alelign et al., 2015).

En algunas zonas de Etiopía se ha observado también una elevada prevalencia y asociación de otros helmintos intestinales como *Schistosoma mansoni* e *Hymenolepis nana*, sobre todo cuando se utilizaron métodos de concentración con acetato sódico y formalina (SAF, por sus siglas en inglés), en comparación con el método de Kato-Katz (Ghiwot et al., 2014).

Recientemente se ha estudiado el impacto que las medidas WASH (siglas del inglés, *Water, Sanitation and Hygiene*) pueden tener en la prevalencia de geohelmintiasis y se ha comprobado que la mejora en el tratamiento de las aguas residuales reduce significativamente la prevalencia de *Ascaris* spp y algo la prevalencia de uncinarias, aunque la simple mejora de la higiene no mejoraba mucho las tasas de infección por *Ascaris* spp o *Trichuris* spp (Grimes et al., 2016).

Los problemas más importantes del laboratorio en los PRB en la detección de parásitos intestinales podrían resumirse en:

- La microscopía en heces frescas es el único recurso disponible en la mayoría de los laboratorios con dotación de personal insuficiente y presupuesto bajo. Esta técnica tiene una sensibilidad inferior al 50 % cuando se realiza en una sola muestra en la mayoría de los casos de helmintiasis y protozoosis (van Lieshout & Roestenberg., 2015).
- Los métodos de concentración clásicos requieren un trabajo intensivo y técnicamente exigente, lo cual se traduce en largos tiempos de respuesta (Martín-Rabadán, Martínez-Ruiz, Cuadros & Cañavate., 2010).
- Muchos laboratorios no tienen tecnólogos que puedan identificar de manera fiable patógenos y diferenciarlos de especies no patógenas o artefactos (McHardy, 2014).
- La sensibilidad en comparación con los métodos moleculares actuales realizados en una sola muestra varía enormemente, del 20 al 90%, según el personal, equipamiento y número de muestras estudiados (van Lieshout & Roestenberg., 2015).
- Algunos ensayos de detección de antígenos, por ejemplo, los de *Cryptosporidium* spp. son poco sensibles (Flecha et al., 2015).

- El acceso inadecuado a la información del paciente por parte del laboratorio, debido a que los pacientes son valorados generalmente por *medical assistants* (personal sanitario no médico entrenado para diagnosticar y tratar pacientes con patologías comunes) o personal de enfermería impide la puesta en marcha de algoritmos eficaces basados en el diagnóstico de sospecha y los datos epidemiológicos del paciente (Ramos, Górgolas, Cuadros, Fanjul & Tropical., 2012).
- Existen pocos estudios realizados en el terreno que permitan validar las nuevas plataformas de pruebas y medios de transporte.
- En general, debido a la baja prioridad que se da a esta patología en la mayoría de los países hiperendémicos, no existen programas de capacitación ni recursos para la parasitología (Turkeltaub, McCarty & Hotez., 2015).
- La escasa sensibilidad y rentabilidad de las pruebas de microscopía en muestra directa y la falta de microscopios y personal formado en muchos centros (Wegayehu, Tsalla, Seifu & Teklu., 2013) tiene como consecuencia la baja demanda diagnóstica por parte de los médicos.

#### **1.2.3.b. Situación en el Hospital de Gambo**

Las parasitosis entéricas se diagnostican mediante microscopía de heces frescas sin concentración. Como se acaba de comentar, este método es específico, pero tiene una baja sensibilidad y a efectos prácticos se desconoce la prevalencia real de las protozoosis y helmintiasis entéricas.

Por otro lado, la reciente puesta en marcha en los centros escolares y de salud locales etíopes de los programas de tratamiento masivo con antihelmínticos ha reducido la carga parasitaria en la población y en muchos pacientes será necesario realizar técnicas de concentración para establecer el diagnóstico (Abossie & Seid, 2014).

Recientemente, se han incorporado al mercado nuevos dispositivos de concentración a bajo precio que podrían mejorar la sensibilidad del examen de parásitos en las heces. Estos dispositivos están disponibles en diferentes formatos y

pueden contener diferentes conservantes (SAF, MIF, formalina 10 %, PVA, ECO fix, Total Fix, que se eligen según las características y necesidades de cada laboratorio.

Así, en una visita en el año 2002 al Hospital de Gambo se pudieron observar las carencias del laboratorio clínico del hospital en el área de diagnóstico microbiológico. Aparte del diagnóstico serológico con test rápidos de la infección por el VIH y las hepatitis B y C y algunas otras enfermedades de transmisión congénita como la sífilis, la actividad principal del laboratorio se centraba en el diagnóstico de la Malaria mediante microscopía de extensión fina, el diagnóstico de la Tuberculosis por tinción de Zhiel-Neelsen y la detección de parásitos intestinales mediante examen al fresco de heces sin concentrar.

Se trataba de técnicas específicas, pero de baja sensibilidad (Cuadros et al., 2015; Flecha et al., 2015) y la morbilidad y mortalidad potencialmente atribuible a los diagnósticos no realizados o perdidos era muy elevada.

## **2. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS**

---

El comienzo de una colaboración docente y asistencial con el hospital, gracias al Máster Propio de Medicina Tropical y Salud Internacional de la Universidad Autónoma de Madrid (UAM) en el que el doctorando participa como profesor y coordinador del módulo de Parasitología desde hace 10 años, permitió plantear esta tesis doctoral, cuyo objetivo principal fue diseñar y concluir tres proyectos de investigación en las áreas citadas cuyos resultados pudieron aplicarse directamente en la atención a los pacientes con el consiguiente beneficio e impacto favorable en términos sanitarios.

Derivados del objetivo principal abarcamos los siguientes objetivos específicos:

### **2. 1. Objetivo específico relacionado con la Tuberculosis**

El objetivo del estudio fue comparar la rentabilidad y eficiencia de la tinción de auramina con la tinción clásica de Zhiel-Neelsen en el diagnóstico de la Tuberculosis tras el cambio tecnológico introducido en el hospital en el año 2013.

### **2. 2. Objetivo específico relacionado con la Malaria**

El objetivo de este estudio fue determinar la sensibilidad y la especificidad de microscopía de extensión fina y de un test rápido de Malaria, así como comprobar si era posible utilizar un método molecular simple, sin equipamiento especial, en un laboratorio básico de un hospital rural africano.

### **2. 3. Objetivo específico relacionado con las parasitosis intestinales**

El objetivo principal del estudio fue evaluar la prevalencia de helmintiasis y protozoosis y comparar la técnica de microscopía directa con la microscopía de un concentrado de heces utilizando un dispositivo nuevo.

Derivado de este objetivo se plantearon también dos objetivos secundarios:

1. Estudiar con métodos moleculares la prevalencia de *Cryptosporidium* spp, *Giardia* spp y *Entamoeba histolytica* en la población de pacientes atendidos en Gambo.
2. Conocer los diferentes genotipos de *Giardia duodenalis* en el Hospital de Gambo.

### **3. MATERIAL Y MÉTODOS**

---

### **3.1. Tuberculosis**

#### **3.1.a. Descripción general y aspectos éticos**

En el año 2012, se adquirió para el Hospital de Gambo un microscopio LED (Primo Star i LED (Zeiss, 2017) tras contactar con la organización *The Foundation for Innovative New Diagnostics* (FIND), que financió la compra gracias a un programa de ayuda para el control de la Tuberculosis en países con alta tasas de prevalencia (FIND, 2018).

Debido a la inexistencia de proveedores locales y el elevado coste que habría supuesto importar los colorantes líquidos necesarios para realizar la tinción de auramina (Fischer, 2018) se decidió elaborar en el laboratorio los colorantes a partir de las sustancias en polvo valorado (Merck, 2018).

Por este motivo, se desplazaron dos microbiólogas voluntarias al hospital en periodos diferentes para implantar la técnica, formar al personal técnico del laboratorio y poner en marcha un sistema de garantía y control de calidad. Cuando el personal estuvo formado y los agentes sanitarios del gobierno lo autorizaron, se sustituyó de forma permanente la técnica de ZN por la microscopía de fluorescencia (2013). En este momento se decidió realizar un estudio para comprobar si el uso de LED-FM (julio-diciembre 2013) permitía aumentar la sensibilidad y reducir el tiempo necesario para realizar la microscopía en comparación con la tinción convencional de ZN (julio-diciembre de 2012).

El estudio se realizó justo antes de que el gobierno etíope decidiera implantar a nivel nacional el uso de tinción de auramina O.

El Comité Ético de Revisión del Hospital General de Gambo autorizó la realización de este estudio y todos los datos fueron recogidos por médicos e investigadores autorizados mediante entrevistas personales y de los cuadernos de registro del laboratorio y las historias clínicas. No fue necesario solicitar consentimiento informado a los pacientes al tratarse de un estudio observacional comparativo de dos test diagnósticos normalizados y aceptados en la práctica clínica asistencial que se realizaron por indicación clínica a los pacientes.

### **3.1.b. Población del estudio y criterios de selección de pacientes**

La población del estudio fueron todos los pacientes a los que el médico solicitó la prueba diagnóstica de Tuberculosis disponible en el laboratorio en los períodos indicados (tinción de Zhiel o tinción de auramina). Solo se procesaron muestras de esputo en las que se observaba algún componente mucopurulento y se descartaron todas las que eran claramente saliva.

### **3.1.c. Procesamiento de las muestras**

Las extensiones se prepararon a partir de muestras clínicas de esputo recogidas durante los períodos de estudio, sin realizar procedimientos de descontaminación ni concentración previos. En el primer periodo de estudio (julio-diciembre de 2012) se utilizó la tinción de ZN, según un protocolo internacional estandarizado (IUATLD, 2018).

En el segundo periodo (julio-diciembre de 2013) se tiñeron con la tinción de fluorocromo con auramina O (Siddiqi., 2003) un colorante con afinidad por el ácido micólico que contiene la pared celular de las micobacterias. En la tinción con auramina O, las micobacterias se visualizan en forma de bacilos fluorescentes de color amarillo brillante cuando aplica una fuente de luz azul excitada (longitud de onda, 450-480 nm) que emite fluorescencia en el rango verde-amarillo (longitud de onda, 500-600 nm) (Hänscheid, 2007). En la tinción de ZN se examinaron un mínimo de 100 campos a x1000 aumentos y en la tinción de auramina se barrió la muestra a x200 aumentos durante al menos 2 minutos.

### **3.1.d. Lectura e interpretación de resultados**

El número de bacilos ácido-alcohol resistentes se cuantificó siguiendo los criterios de los CDC (Tabla 1) (IUATLD, 2018) y se consideraron positivas para el estudio las muestras clasificadas como “positivas dudosas” según los CDC o con “escasos” bacilos. En la Tabla 1 se realiza una clasificación de las extensiones de esputo según el número de bacilos ácido-alcohol resistentes (BAAR) visualizados con microscopía óptica y de fluorescencia.

<b>Nº de BAAR</b>	<b>Guía CDC</b>	<b>Estudio</b>
0	Negativo	Negativo
1-2 en toda la extensión	Positivo dudoso	Escasos BAAR
1-9 por 100 campos	Positivo	+
1-9 por 10 campos	Positivo	++
< 9 campo	Positivo	+++

**Tabla 1.-** Clasificación de las extensiones de esputo según el número de bacilos ácido-alcohol resistentes (BAAR) visualizados con microscopía óptica y de fluorescencia (Centers for Disease Control and Prevention, adaptado de Kent y Kubica (Kent, 1985).

### **3.1.e. Análisis estadístico**

Para el análisis estadístico se utilizó el software EPIDAT 3.1. Las diferencias en los resultados finales entre la microscopía óptica y la microscopía de fluorescencia se compararon utilizando la prueba del chi cuadrado. Se consideró que un valor de  $p < 0,05$  presentaba significación estadística.

## **3.2. Malaria**

### **3.2.a. Descripción general y aspectos éticos**

El estudio se realizó entre el 1 de noviembre y el 31 de diciembre de 2013 en individuos sintomáticos febriles y durante la estación seca, en una época del año con mayor incidencia de la Malaria en esa zona geográfica.

Los reactivos de LAMP necesarios para realizar el estudio se importaron de Japón gracias a la colaboración de FIND Diagnostics, una organización internacional con sede en Ginebra que se dedica al desarrollo de productos diagnósticos para enfermedades infecciosas de países tropicales y/o renta baja (FIND, 2015).

No se obtuvo el consentimiento informado por escrito debido a la elevada tasa de analfabetismo en la población. A todos los pacientes se les solicitó verbalmente el consentimiento a participar de forma voluntaria en el estudio. El estudio fue aprobado previamente por el Comité de Investigación y Publicación local del Hospital General de Gambo y el Comité Ético del Secretariado Católico Etíope (GH/MSMHF/706).

El protocolo del estudio cumplía todas las directrices éticas de la Declaración de Helsinki de 1975, como se indica en el documento de aprobación del comité de revisión de investigación humana de la institución. Se aseguró también que en todos los casos se obtuviera el consentimiento verbal informado y se rellenó un completo cuestionario con preguntas clínicas y epidemiológica (Anexos 1 y 2).

En todos los cuestionarios se registró el consentimiento informado verbal obtenido de los padres, tutores o familiares responsables de los niños. No hubo compensación económica por participar en el estudio. Los datos fueron tratados de forma confidencial y anónima.

### **3.2.b. Población del estudio y criterios de selección**

La población del estudio incluyó a todos los pacientes mayores de dos años atendidos en la consulta externa del Hospital de Gambo con sospecha de Malaria no complicada (temperatura axilar  $> 37,5^{\circ}\text{C}$  o antecedentes de fiebre en las 48 horas previas), que no cumplían ninguno de los criterios de exclusión y a los que se solicitó el estudio de hemoparásitos en sangre.

#### **3.2.b.1. Criterios de exclusión**

Los criterios de exclusión fueron: fiebre  $\geq 3$  semanas, tratamiento antipalúdico en la semana anterior, infección focal aparente (por ejemplo, faringitis, meningitis o infección del tracto urinario), infección con un diagnóstico clínico definitivo (por ejemplo, paperas, difteria, varicela, o enfermedades exantemáticas como parvovirus, sarampión o rubéola) y los pacientes vacunados en las 48 horas anteriores o que habían recibido por vía parenteral productos hemoderivados en los 6 meses previos.

#### **3.2.c. Procesamiento de las muestras**

En el momento del reclutamiento para el estudio se tomó la sangre de los pacientes mediante punción digital en la pulpa del 3<sup>a</sup> o 4<sup>a</sup> dedo previamente desinfectado con alcohol etílico (70%) y se realizó una extensión de sangre, los test rápidos de Malaria y el test del LAMP. Las extensiones de sangre fueron revisadas por el personal del laboratorio; los resultados de la microscopía y los TRM se informaron a los médicos para que pudieran utilizarse en el tratamiento del paciente conforme a

los protocolos clínicos. Debido a la baja sensibilidad de la extensión fina, se dio prioridad a los resultados de los TRM respecto a la microscopía.

Los resultados del LAMP no se informaron y se utilizaron exclusivamente para el estudio. Se utilizaron los TRM recomendados en Etiopía, donde *P. falciparum* y *P. vivax* son coendémicos (VIKIA® Malaria Ag Pf / Pan), con la proteína HRP-2 y la LDH panmalárica. El procedimiento del LAMP se desarrolló según el protocolo estándar publicado en la página web de Find (Find, 2015). En el que una alícuota de 60µl de sangre de cada paciente fue transferida al tubo de extracción y mezclada con 60µl de tampón de extracción (NaCl 400mM, 40mM Tris pH 6,5, 0,4% SDS) con vórtex durante 10 segundos. Los tubos de extracción con las muestras se colocaron en un termobloque (Eppendorf 5350) a 95°C durante 5 minutos y después se centrifugaron a 10.000 g durante 3 minutos (mini-centrifugadora MCF-2360); finalmente, 30 µl de sobrenadante claro fueron transferidos al tubo de dilución. Las muestras de ADN que no se utilizaron inmediatamente se almacenaron a -20°C.

### **3.2.c.1. Reacción y lectura del test LAMP**

Se siguieron los procedimientos operativos estándar del kit de detección Loopamp® MALARIA Pan / Pf (FIND, Suiza, Eiken química CO., LTD).

El kit incluye dos conjuntos de cebadores diseñados para detectar el ADN mitocondrial de *Plasmodium* spp. Los cebadores específicos detectan una secuencia de ADN diana común a una amplia gama de especies de *Plasmodium* spp, incluidas las cuatro especies más comunes que causan la Malaria humana. En estudios previos se ha confirmado la especificidad de los cebadores de *P. falciparum* (Pf).

Se utilizaron dos tubos de reacción (uno para el cebador *Pan* y otro para el cebador *Pf*) por muestra y dos tubos de reacción para los controles (control positivo, CP, y control negativo, CN) Ambos controles están incluidos en el kit. A cada tubo de reacción, se añadieron 30µl de muestra de ADN (muestra = M) o de CN y CP y los tubos de reacción se agitaron para mezclar bien los reactivos. Los tubos se colocaron inmediatamente en el termobloque a 65°C durante 40 minutos

(reacción de amplificación). Al final de la reacción de amplificación, los tubos se calentaron a 80°C durante 5 minutos para la inactivación enzimática.

### **3.2.d. Lectura e interpretación de los resultados**

La parte inferior de cada tubo de reacción se iluminó con la lámpara UV (longitud de onda de 240 nm a 260 nm y 350 nm a 370 nm) y se observó lateralmente con gafas oscuras. La prueba se validaba si el CP emitía una luz verde y el CN no emitía ninguna luz.

### **3.2.e. Análisis estadístico**

Para el análisis estadístico se utilizó el software EPIDAT 3.1. Los resultados finales de la microscopía y la RDT se compararon con los resultados obtenidos usando LAMP utilizando la prueba de McNemar y la sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo (VPP) y el valor predictivo negativo (VPN) se calcularon con un intervalo de confianza del 95% (IC). Los resultados de prevalencia se expresan con un IC del 95%.

En el estudio descriptivo, las variables continuas se representan como la media  $\pm$  desviación estándar (DE) y las variables cualitativas se expresaron como frecuencias relativas. La relación estadística entre las muestras LAMP positivas y los parámetros diagnósticos cuantitativos se realizaron mediante la prueba de Mann-Whitney U, y entre las muestras LAMP positivas y los parámetros de diagnóstico cualitativo con la prueba de Chi-cuadrado. Se consideró que un valor de  $p < 0,05$  presentaba significación estadística.

## **3.3. Parásitos intestinales**

### **3.3.a. Descripción general y aspectos éticos**

Se realiza un estudio prospectivo, observacional, no intervencionista para comparar el método de diagnóstico estándar de la microscopía directa con el nuevo método de concentración.

El Comité Ético de Revisión del Hospital General de Gambo autorizó la realización de este estudio y todos los datos fueron recogidos por médicos e investigadores autorizados mediante entrevistas personales y de los cuadernos de registro del

laboratorio y las historias clínicas (Anexo 3). No fue necesario solicitar consentimiento informado a los pacientes al tratarse de un estudio observacional comparativo de dos test diagnósticos normalizados y aceptados en la práctica clínica asistencial que se realizaron por indicación clínica a los pacientes.

### **3.3.b. Población del estudio y criterios de selección**

Durante el mes de junio de 2016 se recogieron sucesivamente 120 muestras de heces pacientes atendidos en las consultas externas del Hospital de Gambo en el Sur de Etiopía, a los que se solicitó un estudio parasitológico tras la evaluación médica en la consulta. Las muestras se obtuvieron en frascos de cristal sin conservante y en los dispositivos de concentración y se remitieron al laboratorio inmediatamente después de su obtención.

### **3.3.c. Procesamiento de las muestras**

#### **3.3.c.1. Examen microscópico directo**

Se prepararon exámenes en fresco mezclando una gota de heces frescas (si eran líquidas) o una mezcla de una cantidad de heces equivalente a un grano de arroz mezclada con una gota de solución salina. Estos exámenes se revisaron inmediatamente a la microscopía a 100x aumentos para descartar helmintos y a 200x para el estudio de protozoosis.

#### **3.3.c.2. Concentración de parásitos**

Este sistema se basa en el uso de TOTAL FIX, (García, Shimizu, & Paltridge, 2011; McHardy, Wu, Shimizu-Cohen, Couturier, & Humphries, 2014) un conservante sin componentes mercuriales ni formol que no se asocia a ningún riesgo para la salud y que no genera residuos peligrosos.

El dispositivo facilita el proceso de recogida y transporte de muestra y ofrece a los pacientes un sistema limpio, que sustituye al procedimiento actual de recogida mediante un sistema abierto de frascos pequeños de cristal. Incluye una cucharilla que evita el contacto de las manos del paciente con la muestra y cuentas de cristal para optimizar la homogeneización y consta de un tubo de 15ml con filtro incorporado, pipetas y gradilla para colocación de las muestras.

El procedimiento de concentración de dicho dispositivo se basa en la separación de parásitos y el resto de componentes que forman las heces, mediante un filtro con poros de diámetro determinado (acorde al tamaño de parásitos). De esta forma, los parásitos atraviesan dicho filtro junto con el líquido conservante y sedimentan el fondo del tubo de forma cónica, mientras que el resto se queda en el filtro. Dicho *pellet* se puede recoger con una pipeta Pasteur de vidrio, de punta fina y estirada, y depositar en un portaobjetos para su posterior observación al microscopio.

De entre los diferentes sistemas disponibles en el mercado se seleccionó este por su reducido precio y la fácil manipulación en un contexto en el que las instrucciones de recogida de muestra deben realizarse brevemente y de forma verbal. Los pacientes recogen la muestra directamente y entregan el tubo en el laboratorio, donde los pasos de filtrado y centrifugación se realizan directamente en el mismo tubo, lo cual reduce el tiempo de trabajo y mejora la aceptación del procedimiento por el personal técnico. En este procedimiento el volumen de muestra es menor que en que se emplea en los procedimientos clásicos con recipientes de mayor volumen (30 ml), pero estos no son adecuados para el contexto de los PRB debido a su elevado precio y mayor tiempo de procesamiento de las muestras en el laboratorio

### **3.3.c.3. Extracción y purificación de ADN**

El ADN total se extrajo de aproximadamente 200 mg de material fecal concentrado utilizando el QIAamp® DNA Stool Mini Kit (QIAGEN, Hilden, Alemania) siguiendo las instrucciones del fabricante. Las muestras de ADN purificado (200µl) se almacenaron a -20°C y se enviaron al Laboratorio de Referencia e Investigación de Parasitología del Centro Nacional de Microbiología (Majadahonda, España) para análisis de diagnóstico y gentipificación basados en PCR. Se incluyó un control de extracción de agua en todos los lotes de muestras procesadas.

### **3.3.d. Lectura e interpretación de los resultados**

#### **3.3.d.1. Examen microscópico**

Los exámenes en frescos fueron revisados por los técnicos del laboratorio mediante un cribado de huevos y larvas de helmintos a x200 aumentos y de quistes y

trofozoítos de protozoos a x 400. Los concentrados se revisaron del mismo modo por un observador que desconocía el resultado de los exámenes en fresco. En la evaluación morfológica se utilizó como referencia los atlas y manuales de uso común en los laboratorios de los países de renta baja.

### **3.3.d.2. Detección molecular y caracterización de *Giardia duodenalis***

La detección inicial del ADN de *G. duodenalis* se realizó mediante un método de qPCR dirigido a una región de 62 pb del gen SSR del ARNr del parásito (Verweij et al., 2003). Las reacciones de amplificación (25µl) se realizaron con 3µl de ADN molde, 0,5µM de los cebadores Gd-80F (5'-GACGGCTCAGGACAACGGTT-3') y Gd-127R (5'-TTGCCAGCGGTGTCCG-3'), 0,4µM de sonda -CCCGCGGCGGTCCCTGCTAG-BHQ1) y 12,5µL de TaqMan® Gene Expression Master Mix (Applied Biosystems, CA, EUA). La detección del ADN del parásito se realizó en un sistema de PCR en tiempo real Corbett Rotor Gene™ 6000 (Qiagen) usando un protocolo de amplificación que consistía en un paso de espera inicial de 2 min a 55°C y 15 min a 95°C, seguido de 45 ciclos de 15s a 95°C y 1min a 60°C. Se incluyeron controles de agua (sin molde) y ADN genómico (positivos) en cada prueba de PCR.

### **3.3.d.3. Detección molecular y caracterización de las cepas de *Cryptosporidium* spp.**

La presencia de *Cryptosporidium* spp. se evaluó utilizando un protocolo de PCR anidada para amplificar un fragmento de 587pb del gen SSR rRNA del parásito (Tiangtip & Jongwutiwes, 2002). Las reacciones de amplificación (50µl) incluyeron 3µl de muestra de ADN y 0,3µM de los pares de cebadores CR-P1 / CR-P2 (5'-CAGGGAGGTAGTGACAAGAA-3' y 5'-TCAGCCTTGCGACCATACTC-3') en la reacción primaria y CR- P3 / CPB-DIAGR (5'-ATTGGAGGGCAAGTCTGGTG-3' y 5'-TAAGGTGCTGAAGGAGTAAGG-3') en la reacción secundaria, respectivamente. Ambas reacciones de PCR se realizaron de la siguiente manera: una fase a 94°C durante 3 min, seguida de 35 ciclos de 94°C durante 40s, 50°C durante 40s y 72°C durante 1 min, concluyendo con una extensión final de 72°C durante 10 min.

#### **3.3.d.4. Detección molecular de *Entamoeba histolytica* y *Entamoeba dispar***

El diagnóstico diferencial entre *E. histolytica* patógena y *E. dispar* no patógena se realizó mediante qPCR para amplificar específicamente un fragmento de 172 pb del gen SSR rRNA de estos protozoos, utilizando el par de cebadores Ehd-239F / Ehd-88R (5'-ATTGTCGTGGCATCCTAACTCA 3'y 5'-GCGGACGGCTCATTATAACA-3') descritos previamente (Verweij et al., 2003) y las secuencias de sonda (FAM TCATTGAATGAATTGGCCATT-MGB y VIC-TTACTTACATAAATTGGCCACTTTG-MGB) modificadas (Gutiérrez-Cisneros et al., 2010).

Las condiciones de termociclado de la qPCR y los ajustes fueron los mismos que se aplicaron en la detección de *G. duodenalis* descrita anteriormente.

#### **3.3.e. Análisis estadístico**

Para el análisis estadístico se utilizó el software EPIDAT 3.1. Las diferencias en los resultados finales entre el examen microscópico directo en fresco y la microscopía del sedimento obtenido tras el procedimiento de concentración se compararon utilizando la prueba del chi cuadrado. Se consideró que un valor de  $p < 0,05$  presentaba significación estadística.

## **4. RESULTADOS**

---

#### 4.1. Tuberculosis

En total, se revisaron 1126 pacientes atendidos en el Hospital con sospecha de TBP durante julio-diciembre 2012 (ZN) y julio-diciembre 2013 (LED-FM). De julio a diciembre de 2012, se realizó una tinción de ZN a 532 pacientes de los que 28 fueron positivos (5,3%) y en julio-diciembre de 2013, se analizaron 594 pacientes con LED-FM, de los que 52 (8,8%) fueron positivos ( $P = 0,02$ ) (Tabla 2). De los pacientes estudiados en el periodo julio-diciembre de 2012, 44 pacientes (8,3%) fueron niños, de los cuales 2 (4,5%) fueron PTB-positivos en comparación con 6 (15,4%) pacientes PTB-positivos de 39 (6,6%) diagnosticados con la tinción de auramina en 2013 ( $p = 0,09$ , prueba de Chi cuadrado) (Tabla 3).

	2012*	%		2103*	%	P
<b>ZN positivo</b>	28	5,25%	<b>Au positivo</b>	52	8,75%	0,09
<b>ZN negativo</b>	504	94,73 %	<b>Au negativo</b>	542	91,24 %	
<b>Total</b>	532			594		

**Tabla 2.-** Resultados en la población general de la microscopía óptica y de fluorescencia para el diagnóstico de la Tuberculosis

ZN: Tinción de Zhiel-Neelsen; Au: Tinción de Auramina. \* Periodos de julio a diciembre de 2012 y 2013.

	2012*	%		2103*	%	p
<b>ZN positivo</b>	2	4,54%	<b>Au positivo</b>	6	15,38%	0,02
<b>ZN negativo</b>	42	95,46%	<b>Au negativo</b>	33	84,62%	
<b>Total</b>	44	100%		39		

**Tabla 3.** Resultados en la población infantil de la microscopía óptica y de fluorescencia para el diagnóstico de la Tuberculosis.

ZN: Tinción de Zhiel-Neelsen; Au: Tinción de Auramina. \* Periodos de julio a diciembre de 2012 y 2013.

Este estudio no compara los resultados de las dos técnicas en la misma muestra, por lo que los resultados deben interpretarse con precaución. Con todo, las diferencias halladas fueron estadísticamente significativas y en ambos grupos se incluyó un número muy elevado de muestras, lo cual reduce al mínimo la posibilidad de aparición de sesgos sistemáticos.

## 4.2. Malaria

Se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los diferentes métodos utilizados en comparación con el LAMP. En 11 de los 162 pacientes con fiebre a se obtuvo una prueba de LAMP positiva (prevalencia: 6,8%; IC del 95%: 3.8 a 11.7%), en 3 TRM positivos (prevalencia: 1,8%; IC del 95%: 0,6 a 5,3%) ( $p = 0,0133$ , test de McNemar's) y en ninguno se detectó Malaria con la microscopía en extensión fina (prevalencia: 0%; IC del 95%: 0-2,3%) ( $p = 0,0094$ , test de McNemar's). Los resultados se muestran en la Tabla 4.

La Tabla 5 muestra un menor nivel de hemoglobina y plaquetas recuento de los pacientes positivos de LAMP en comparación con el test de LAMP negativo.

La relación coste-eficacia de LAMP, TDR y microscopía en relación con el tratamiento presuntivo se muestra en la Tabla 6.

Edad	Sexo	RDT	LAMP	Mic	Hb	Pla
6	m	Pf	Pf	N	8,5	140.000
30	f	N	Pf	N	12,7	25.000
22	f	N	Pf	N	12,8	90.000
22	f	N	Pf	N	5,1	123.000
11	f	N	Pf	N	14,8	153.000
15	m	N	Pv	N	16.5	172.000
10	m	N	Pv	N	11,7	92.000
15	m	Pf	Pf	N	6,6	131.000
38	f	N	Pf	N	7.6	35.000
20	f	N	Pf	N	12,6	379.000
65	m	Pf	Pf	N	12,4	61.000

**Tabla 4.-** Comparación entre LAMP, RDT y microscopía con extensión fina en pacientes LAMP positivos. RDT: Test diagnóstico rápido Mic: Microscopía; Hb: Hemoglobina (g/dl); Pla: Plaquetas (/ $\mu$ l), v: varón; m: mujer, N negativo, Pf: *Plasmodium falciparum*, Pv *Plasmodium vivax*. (Cuadros et al., 2015).

La sensibilidad, especificidad, VPP y VNP de los RDTs fueron 27% (CI95%: 0,58%), 100% (95% CI: 99,6-100%), 100% (95% CI: 83,3%) and 94 % (95% CI: 91.2-98.6%), respectivamente.

a) Parámetros diagnósticos cuantitativos

<b>Parámetro diagnóstico</b>	<b>Media ± SD</b>	<b>Media ± SD</b>	<b>Valor de p</b>
	<b>LAMP positivo</b>	<b>LAMP negative</b>	
Edad	23 ± 16	24 ± 14	0,593
Días con síntomas	5,1 ± 3.5	6.618±3.880	0,186
Leucocitos	8054 ± 4887	8722±5031	0,397
Linfocitos	2294 ± 789	1957±1311	0,840
Neutrófilos	5152 ± 3267	5440±4529	0,979
Hemoglobina	9,9 ± 4.8	13, 2±3,2	0,015
Plaquetas	110666 ± 43247	256869±104907	≤0,001

b) Parámetros diagnósticos cualitativos

<b>Parámetro</b>	<b>LAMP positivo</b>	<b>LAMP negativo</b>	<b>Valor de p</b>
	<b>N (%positivos)</b>	<b>N (%negativos)</b>	
Sexo (mujer)	6(54,54%)	83(58,041%)	0,821
Ingreso	2(18,18%)	17(11,18%)	0,667
Cefalea	9(81,82%)	73(48,03%)	0,091
Nauseas	6(54,54%)	27(17,76%)	0,012
Escalofríos	3(27,27%)	26(17,10%)	0,395
Otros*	8(72,73%)	81(53,29%)	0,472

**Tabla 5.-** Descripción de los parámetros diagnósticos cuantitativos (a) y cualitativos (b) en los pacientes LAMP positivos.

\*Otros síntomas fueron malestar general, dolor abdominal y tos.

Método	Coste del dco/muestra*	Tiempo de diagnóstico	Coste del tratamiento <sup>3,4</sup>	Total <sup>5</sup>
LAMP <sup>1</sup>	8,18	1 hora/10 muestras <sup>1</sup>	57,6	1382,60
RDT	0,60- 1,00	20 min-30min/10 muestras	115,2	21,4-277,2
Microscopía	0,32-1,27	30-60 min/muestra <sup>2</sup>	158,4	210,40-364,14

**Tabla 6.-** Análisis del coste y el tiempo necesario para realizar las pruebas con todos los métodos (Cuadros et al., 2015).

\* En dólares.

<sup>1</sup>La extracción de ADN dura 10 minutos + 50 minutos de la reacción y lectura del LAMP. La capacidad del termobloque es de 24 muestras: para cada determinación se utilizan dos tubos, uno para *P. falciparum* y otro para *Plasmodium* spp. + controles (positivo y negativo para *P. falciparum* y *P. vivax*).

<sup>2</sup>Para obtener la misma sensibilidad que en la gota gruesa con objetivo de inmersión (x1000) y revisión durante 10 minutos una extensión fina debería examinarse durante al menos 30 minutos (WHO, 2010).

<sup>3</sup>Solo se consideró el tratamiento con ACT en los pacientes con diagnóstico negativos con todos los métodos.

<sup>4</sup>Se consideró exclusivamente el tratamiento con ACT.

<sup>5</sup>Coste total del diagnóstico + coste total del tratamiento.

### 4.3. Parásitos intestinales

Se estudió un grupo de 120 pacientes a los que se había solicitado un estudio de parásitos en las consultas externas (OPD). La mayoría de ellos presentaba dolor abdominal o diarrea (46 % y 13 %) (Tabla 7). En el subgrupo de pacientes con giardiasis (n=21), la mayoría referían también dolor abdominal (76%) o diarrea (42%) (Tabla 8). En 80 muestras se realizó microscopía directa mediante examen en fresco y microscopía tras concentración de parásitos con el sistema Total-Fix MiniSystem REAL y pudieron compararse los resultados. El uso del concentrador aumentó la rentabilidad de la microscopía un 42% globalmente y hasta un 150% en el caso de las helmintiasis (Tabla 9). De los 7 pacientes con *Hymenolepis* spp, 5 presentaron dolor abdominal y ninguno diarrea (Tabla 10).

<b>Clínica</b>	<b>Nº de pacientes</b>
Dolor abdominal	55
Diarrea	16
Fiebre	10
Heces sanguinolentas	6
Vómitos	5
ITU	4
Malestar general	3
Malnutrición	2
Otros	19
<b>Total</b>	<b>120</b>

**Tabla 7.** -Signos y síntomas referidos por los pacientes estudiados. N = 80.

<b>Clínica</b>	<b>Nº de pacientes</b>
<b>Dolor abdominal</b>	16
<b>Diarrea</b>	9
<b>Vómitos</b>	3
<b>Dispepsia</b>	2
<b>Total</b>	<b>30</b>

**Tabla 8.** - Signos y síntomas clínicos de los pacientes con giardiasis. N = 21 .

<b>Parásito</b>	<b>Examen directo</b>	<b>Concentración</b>	<b>% ↑</b>
<i>Giardia duodenalis</i>	18	21	17 %
<i>Entamoeba spp.</i>	2	3	50%
<i>Hymenolepis nana</i>	3	8	167%
<i>Taenia sp</i>	1	0	100%
<i>Ascaris lumbricoides</i>	0	2	200%
<b>Total</b>	<b>24</b>	<b>34</b>	<b>42%</b>

**Tabla 9.** - Comparación entre la microscopía del examen directo y la microscopía del concentrado de heces. N= 80.

↑ global de la rentabilidad diagnóstica= 42%

↑de rentabilidad en helmintos= 150%

Clinica	Nº de pacientes
Dolor abdominal	6
Diarrea	0
Otros	5

**Tabla 10.-** Signos y síntomas clínicos de los pacientes con *Hymenolepis* spp N = 7.

Los resultados del estudio molecular de protozoos permitieron detectar pacientes infectados con *G. duodenalis* que no se habían detectado en la microscopía, con lo cual aumentaron la rentabilidad del estudio de parásitos un 42%. En este grupo de pacientes no se detectó ninguna infección por *E. hystolitica* ni *Cryptosporidium* spp. por métodos moleculares.

## **5. DISCUSIÓN**

---

## 5. 1. Tuberculosis

En entornos de recursos limitados como el Hospital General de Gambo, con alta incidencia de Tuberculosis, el diagnóstico de Tuberculosis pulmonar (TBP) se realiza principalmente mediante microscopía de bacilos ácido-alcohol resistentes (AFB, por sus siglas en inglés) (Davis, Cattamanchi, Cuevas, Hopewell & Steingart., 2013; Chandra, Selvaraj & Sharma., 2015). Sin embargo, la sensibilidad de esta prueba es escasa (Den Hertog, Daher, Straetemans, Scholing & Anthony., 2013) y el cultivo de micobacterias o el uso de métodos automatizados como GeneXpert MTB / RIF para el diagnóstico rápido de la TB generalmente no es posible (Bhadade, Mehta, Kanade & Nataraj., 2015; Tesfaye et al. 2017). La microscopía de fluorescencia (MF) con la tinción de auramina O es más sensible que la microscopía convencional utilizando tinción Ziehl-Neelsen (ZN) (Singh, 1998; Davis et al., 2013; Chandra et al., 2015; Bhadade et al., 2015).

En Etiopía, un problema añadido al coste respecto a la MF es que en la mayoría de los servicios de salud no se dispone de espacio en oscuridad completa (Bhadade et al., 2015; Bhalla et al., 2013). Los nuevos microscopios de fluorescencia que emplean sistemas de emisión de luz por diodos (LED-MF) ofrecen las ventajas de la MF sin las anteriores desventajas: son de fácil mantenimiento y operación y no requieren una habitación oscura (Cuevas et al., 2011). Los resultados de este estudio confirman los resultados de estudios previos que indican la mayor rentabilidad de la microscopía de fluorescencia, en comparación con microscopía de luz convencional (Githui et al., 1993; Singh et al., 1998; Kivihya-Ndugga et al., 2003; Prasanti et al. 2005; Hänscheid et al., 2007; Steingart et al., 2007).

Además, el ahorro de tiempo que se logra con la microscopía de fluorescencia como resultado del uso de menor aumento, pueden atribuirse a la mayor rapidez en la revisión de los campos, también por la mejor visibilidad de las micobacterias. Otra ventaja adicional de la microscopía de fluorescencia es que la tinción del fluorocromo es más simple en comparación con el ZN (Steingart et al., 2006) y no requiere calentamiento con llama, con lo que se evitan posibles accidentes de laboratorio. El microscopio PrimoStar LED resultó ser una fuente de luz fiable y alternativa a los microscopios con lámparas de fluorescencia convencionales (Anthony et al., 2007; Van Hung et al., 2007).

Además, el bajo requerimiento energético de las lámparas LED permite equipar a estos microscopios con baterías que suplen el suministro general en los frecuentes cortes de suministro que se producen en las áreas rurales de los países de renta baja.

El microscopio de fluorescencia se utilizó en un área no oscurecida del laboratorio y la visualización fue perfecta. Esta ventaja mejora la detección de casos y reduce el retraso diagnóstico al facilitar la organización logística del laboratorio, especialmente en zonas rurales y remotas (El Sony, 2003; Cuevas., Al-Sonboli., Lawson et al., 2011; Abdissa et al., 2015).

Los resultados de este estudio coinciden con los obtenidos por otros autores (Bhadade et al. 2015) (Stop TB, 2017) y muestran que la técnica LED-FM aumenta el número de diagnósticos y reduce el tiempo necesario para analizar cada muestra en comparación con el ZN, especialmente en los niños, donde el diagnóstico microbiológico de la Tuberculosis es especialmente difícil. Este hecho, combinado con la facilidad de uso de la prueba, indica que la introducción de la LED-FM para el cribado de los pacientes puede realizarse con fiabilidad en un laboratorio rural africano en una región con alta prevalencia de TB y escasos recursos. En el último Informe Mundial sobre la Tuberculosis de la OMS se señala que el presupuesto para mejorar el diagnóstico, la atención y la prevención de la Tuberculosis se ha duplicado entre 2006 y 2016 lo cual ha permitido mejorar la capacidad diagnóstica de los sistemas sanitarios de los 118 países que mayor prevalencia tienen de la enfermedad (WHO, 2017). En este sentido, Etiopía ha introducido en todos sus centros sanitarios primarios y secundarios la microscopía de fluorescencia y los test moleculares para la detección a tiempo real del bacilo tuberculoso y de cepas resistentes a los fármacos.

En la práctica, una mejora en el diagnóstico rápido y directo en las muestras de esputo, es decir, una mejora en los servicios diagnósticos descentralizados permite incluir a los pacientes con rapidez en los protocolos estatales de tratamiento y seguimiento, mejora el pronóstico en la evolución del paciente y reduce la transmisión de la enfermedad. La prevención secundaria de la Tuberculosis es otro aspecto fundamental de la lucha contra la enfermedad y

cualquier mejora en la detección de casos de enfermedad activa permitirá realizar más estudios de contactos y reducir la incidencia en el futuro mediante el uso de isoniazida o de una combinación de fármacos como es la rifapentina e isoniazida (3HP) que está ensayando actualmente ISG Global en Etiopía, Mozambique y Ghana (ISGlobal, 2017).

En conclusión, este estudio demuestra que la microscopía de fluorescencia LED es una alternativa válida a los métodos convencionales por su bajo coste, robustez, eficiencia energética y facilidad de uso en ambientes no oscurecidos. A corto plazo, mientras no estén disponibles test rápidos más sensibles, la microscopía optimizada es la opción más realista de diagnóstico rápido en entornos de recursos limitados.

## **5.2. Malaria**

La incidencia de la Malaria ha ido disminuyendo a escala global en la última década, sin embargo, en países como Etiopía sigue siendo uno de los principales problemas de salud y se ha descrito como una de las tres causas principales de morbilidad y mortalidad en los últimos años (Shillcutt et al., 2008). Los esfuerzos para controlar y erradicar la Malaria requieren mejorar la capacidad de diagnóstico, para detectar y tratar de forma precoz cualquier paciente parasitémico.

En estudios recientes se ha observado una sensibilidad de tan sólo el 51% con la gota gruesa y extensión fina revisadas por microscopistas expertos en comparación con los test de LAMP en Uganda (Biadglegne et al., 2014). En otro estudio previo realizado en el área de del Hospital de Gambo en Etiopía (Santana-Morales et al., 2012), la microscopía (gota gruesa y extensión fina analizadas por un observador externo) mostró una sensibilidad del 52%, en comparación con una PCR semi-automatizada en el diagnóstico de *P. falciparum* y *P. vivax*.

El kit de LAMP para el diagnóstico de la Malaria se puede utilizar por técnicos de laboratorio sin formación previa en métodos moleculares, además los conocimientos y habilidades pueden adquirirse en un corto periodo de formación de menos de tres días. No obstante, es imprescindible cumplir de forma estricta los procedimientos para obtener resultados fiables.

En diversos estudios clínicos se ha validado en el terreno esta prueba molecular rápida con resultados similares a la PCR convencional (Patel et al., 2014). Las ventajas adicionales del LAMP son su tolerancia a las sustancias inhibitoras presentes en las muestras de sangre (como la hemoglobina y la inmunoglobulina) (Patel et al., 2014), así como la posibilidad de ser utilizado también con una cantidad mínima de sangre en papel de filtro (Yongkiettrakul et al., 2014).

Los resultados obtenidos en este estudio indican la necesidad urgente de mejorar la calidad del diagnóstico microscópico en los laboratorios clínicos no certificados y la necesidad de disponer de TRM en los laboratorios de los hospitales con deficiencias en la microscopía de la Malaria, por lo menos hasta que el laboratorio logre una cualificación o certificación. La escasa sensibilidad de los TRM en comparación con la observada en otros estudios realizados en África podría indicar que, en nuestro pequeño grupo de pacientes, las muestras positivas tenían una parasitemia muy baja (<200 trofozoítos / microlitro). En un estudio previo de prevalencia realizado en el Suroeste de Etiopía se detectó la infección mediante PCR en 24 de 555 habitantes (4,3%) en los que la microscopía y los test rápidos fueron negativos, lo cual indica el importante papel que los portadores asintomáticos tienen en las zonas donde puede plantearse la erradicación de la enfermedad (Tadesse et al. 2015).

En los resultados obtenidos en el estudio de la WHO de los TRM comercializados en 2013 se registró una sensibilidad del 5,7% -86,0% para *P. vivax*-*P. falciparum* y del 0% para *P. falciparum* con el antígeno Pan (panmalárico) a esta baja densidad (Aydin-Schmidt et al., 2014). Sin embargo, diversos estudios como el realizado recientemente en el noroeste de Etiopía (Feleke et al. 2017) muestran una sensibilidad y especificidad superior al 90 % para *P. falciparum* y *P. no falciparum* en pacientes febriles en comparación con la microscopía convencional realizada por expertos (Moges et al., 2012).

Por otra parte, los resultados falsos negativos de los TRM también pueden asociarse a deleciones de los genes codificadores de HRP-2 y HRP-3 (WHO, 2014). Cook et al demostraron que con la técnica LAMP se detectaron más infecciones en

comparación con los TRM en Zanzíbar (18 vs 10 infecciones) (Zimmerman & Howes., 2015).

De acuerdo con estudios realizados en Tailandia e India (Patel, 2014; Aydin-Schmidt, 2014), este estudio muestra que el LAMP puede utilizarse en una zona rural y remota para detectar la presencia de pacientes con parasitemias muy bajas que no pueden diagnosticarse con microscopía ni pruebas rápidas. Por tanto, es conveniente utilizar herramientas diagnósticas más potentes en cualquier estrategia destinada a controlar o erradicar la Malaria en zonas de transmisión baja (Cook et al., 2015).

Debido al coste, estamos de acuerdo con la experiencia de Tailandia y la India (Hsiang, 2014); por ahora, la técnica de LAMP no está indicada para el diagnóstico clínico habitual y debe reservarse para la vigilancia activa de infecciones subpatentes (Polley et al., 2013; Aydin-Schmidt et al., 2014; Oriero, Jacobs, Geertruyden, Nwakanma, & D'Alessandro., 2014; Patel et al., 2014).

Otro uso potencial de esta técnica en el terreno podría ser la detección de donantes de sangre infectados antes de una transfusión (Kitchen & Chiodini, 2006). Diferentes estudios realizados en África muestran una prevalencia de Malaria microscópica en donantes asintomáticos en zonas hiperendémicas como el suroeste de Nigeria de hasta el 40 % (Uneke, 2006). La incorporación de métodos moleculares altamente sensibles y económicos permitiría descartar en la práctica esta vía de transmisión.

La microscopia es poco útil en pacientes asintomáticos con parasitemias bajas como se demostró en un estudio realizado en Senegal, donde se utilizó la detección de LDH parasitaria como método de cribado (Diop, 2009).

Como ya se ha mostrado, la microscopía con gota gruesa y los TRM no detectan con una sensibilidad apropiada pacientes con menos de 100 parásitos / l. Los sistemas de vigilancia actuales que se basan en la microscopía o los TRM no son lo suficientemente sensibles como para detectar portadores asintomáticos u oligosintomáticos que actúan como reservorios de transmisión de la Malaria y

pueden desarrollar episodios de Malaria en el futuro (Hsiang, Greenhouse, & Rosenthal, 2014; Zimmerman & Howes, 2015). Por otra parte, las coinfecciones con múltiples especies complican el diagnóstico de la Malaria en el terreno (Lee et al., 2012).

Port et al. (2014) indican una limitación importante para el uso del LAMP en el terreno, como es la falta de electricidad necesaria para el calentamiento de los termo-bloques. Sin embargo, se han realizado ensayos con termobloques alimentados por baterías manuales portátiles que permiten ofrecer un método barato, sencillo y rápido de detección molecular de parásitos de la Malaria (Zimmerman & Howes, 2015).

Además, se ha utilizado la técnica de LAMP para detectar ADN de *Plasmodium* spp en muestras de saliva y orina, lo cual proporciona un nuevo enfoque para el diagnóstico de la Malaria. Ghayour et al mostraron que existe una correlación entre la parasitemia y la transferencia de ADN de la Malaria a la saliva y la orina (Port et al., 2014). La técnica de LAMP permite obtener resultados fiables en los laboratorios rurales básicos sin la necesidad de una infraestructura especializada y podría desempeñar un papel clave en los programas de control de la Malaria. Esta tecnología se está utilizando de forma creciente también en proyectos de investigación y asistenciales en otras enfermedades tropicales desatendidas como la tripanosomiasis africana, la esquistosomiasis o el micetoma (Njiru et al 2008; Fernández-Soto et al., 2014; Bergquist et al., 2015).

Los resultados de este ensayo sirvieron para convencer al director gerente del Hospital de Gambo de la urgente necesidad de mejorar el diagnóstico de la Malaria. Con este motivo, desde el año 2016 se introdujeron los test rápidos (Feleke, Tarko, & Hadush, 2017) en el estudio de los pacientes con fiebre sin foco en que se sospecha Malaria. Esta intervención ha sido posible gracias a la financiación del Grupo de Cooperación Sanitaria con Etiopia de la UAH (UAH-GUdC 16-02) a través del proyecto de formación y promoción sanitaria del personal del Hospital Rural de Gambo financiado por el Vicerrectorado de Relaciones Internacionales a través de las Convocatorias I y II de Ayudas para el Fomento de la Cooperación Universitaria al Desarrollo (años 2016, 2017).

### 5.3. Parásitos intestinales

El diagnóstico de laboratorio de las infecciones por protozoos y helmintos intestinales se basa desde hace décadas en la detección de trofozoítos, quistes, huevos y larvas por examen microscópico de las heces. Para aumentar la sensibilidad de la microscopía es necesario estudiar múltiples muestras y aplicar procedimientos de concentración (Branda, Lin, Rosenberg, Halpern & Ferraro., 2006).

Otros test que se utilizan en la práctica clínica son los inmunoensayos enzimáticos (Weitzel, Dittrich, Mhl, Adusu, & Jelinek, 2006) para la detección de *G. duodenalis* y *Cryptosporidium* spp en heces. La microscopía no permite distinguir entre *E. histolytica* y *E. dispar* y actualmente es necesario utilizar métodos adicionales como la detección de antígenos o la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) para establecer el diagnóstico de amebiasis invasiva (Fotedar et al., 2007).

El diagnóstico de las parasitosis intestinales en los países tropicales y subtropicales se realiza desde hace más de un siglo mediante la observación de heces frescas con el microscopio (Power, 1999) y la sensibilidad de este método no ha cambiado desde entonces. La introducción de métodos de concentración en los estudios sistemáticos de prevalencia ya en la primera mitad del siglo XX (Faust et al., 1938; Loughlin & Stoll, 1946) permitió obtener datos más fiables sobre la carga de la enfermedad asociada a esta infección a escala global. Sin embargo, la falta de normalización de los métodos y las numerosas variables que pueden modificar los resultados suponen un obstáculo importante en las evaluaciones comparativas entre los diferentes protocolos de concentración como los de filtración simple con solución salina, la técnica de Baermann, la técnica de Kato-Katz o la técnica de concentración con formol-éter (Knight, Hiatt, Cline, & Ritchie, 1976). Todos estos métodos son laboriosos y requieren personal entrenado.

La introducción de la PCR en tiempo real que combina varias dianas en un ensayo multiplex y la automatización ofrece la posibilidad de utilizar técnicas de detección basadas en el ADN con un enfoque diagnóstico de alto rendimiento (Ten Hove et al., 2007). Según los resultados del anterior estudio, la sensibilidad de la PCR múltiple

en tiempo real es muy superior en comparación con la microscopía en la detección de infecciones parasitarias por *Giardia* spp y *Cryptosporidium* spp. En la actualidad, una de las restricciones de la PCR multiplex a tiempo real es la limitación en el número de dianas de parásitos que se pueden detectar simultáneamente. Con todo, la introducción de estos métodos moleculares en la práctica de laboratorio diaria es muy limitada en los países de renta elevada y tardará muchos años en poder utilizarse en los países de renta baja.

En estudios previos, se ha demostrado que el uso de dispositivos de pequeño formato que simplifican la detección de los parásitos utilizando un solo vial, es una solución costo-eficaz en los laboratorios con una carga moderada-elevada de trabajo (Couturier et al., 2015). Además, la sustitución de la formalina por conservantes nuevos que no generen problemas en la eliminación de residuos y permiten la realización de pruebas moleculares, es una ventaja clara (Shimizu & Garcia, 2015).

Según nuestros resultados, el uso de estos dispositivos aumenta de forma muy significativa la detección de parasitosis intestinales (un 42% globalmente y un 150% en las helmintiasis). La rentabilidad obtenida en este último grupo podría indicar que la carga parasitaria en la población atendida por el hospital se ha reducido, probablemente a causa de la implantación de programas de tratamiento masivo antihelmíntico que se desarrollan en los centros escolares de Etiopia desde hace años (Albonico et al., 2008).

*Giardia duodenalis* fue el protozoo más detectado en la población de nuestro estudio. Diferentes investigadores han demostrado la importancia de este patógeno como causa de diarrea crónica y persistente en las poblaciones pediátricas y de adultos en todo el mundo (Muhsen & Levine, 2012). En Etiopia, numerosos estudios epidemiológicos y clínicos han documentado la presencia de este protozoo en poblaciones de pacientes pediátricos, residentes en prisiones, pacientes atendidos en hospitales o de la comunidad y personas infectadas por el VIH, con tasas de prevalencia que varían del 2 al 35% dependiendo de la población y el contexto (Flecha et al., 2015).

En nuestro estudio, combinando la microscopia y las técnicas de detección molecular, hallamos una tasa de infección por *Giardia* spp del 26,2% en la población que acude al hospital y que presenta generalmente diarrea y/o dolor abdominal (89%). Esta prevalencia duplica la obtenida en un estudio previo realizado por nuestro grupo en 92 pacientes (10%), donde se determinó también el genotipo y se describieron 7 subtipos diferentes (cuatro nuevos) pertenecientes al linaje B (reservorio humano, primates y perros y gatos) (Thompson & Monis., 2012; Flecha et al., 2015).

Estudios recientes confirman la existencia de diferencias entre los distintos genotipos respecto a su virulencia, patogenicidad y reservorios (Thompson & Monis., 2012). En este sentido, el genotipo prevalente en el área del Hospital de Gambo refleja la coexistencia del poblamiento humano y de babuinos (*Papio hamadryas*) y animales domésticos (perros).

La tenia *Hymenolepis nana* fue el helminto más frecuente en nuestra población (11/80, prevalencia del 14%) y estos resultados coinciden con los descritos en poblaciones de niños que habitan en infraviviendas como barrios de chabolas en la India (Mirdha & Samantray., 2002), población en campos de refugiados saharavis (Del Olmo, 2011) o en población nativa en los territorios del Norte de Australia (Willcocks, McAuliffe & Baird., 2015), donde la población infantil comparte los mismos factores de riesgo de infección como son la pobreza, el hacinamiento y la convivencia con roedores, que son el reservorio principal de estos parásitos.

En Etiopía, al igual que en la India y en otras zonas del planeta de alta endemia (Mirdha & Samantray, 2002), los tratamientos antihelmínticos masivos se realizan habitualmente con albendazol y este fármaco no elimina la infestación por *Hymenolepis* spp, como muestra un estudio realizado en los territorios del norte australiano, donde la prevalencia de esta cestodosis permaneció constante entre 2002 y 2013 en 6,9/100.000 habitantes nativos (Willcocks et al., 2015). Esta infección se asocia generalmente a eosinofilia y anemia y puede transmitirse de persona a persona en el entorno familiar o institucional (es muy frecuente en niños de orfanatos) (Sirivichayakul, Radomyos, Praevanit, Jojjaroen-Anant & Wisetsing., 2000).

En conclusión, el uso de concentradores de pequeño formato en una población con alta endemia de parasitosis intestinales aumenta de forma muy significativa la tasa de detección de parásitos intestinales y por su bajo coste puede ser una opción costo-eficaz en países de renta baja donde es urgente realizar intervenciones para reducir la carga de estas enfermedades.

Finalmente indicar que la Tuberculosis, la Malaria y las parasitosis intestinales son tres de los problemas clave se han abordado en esta tesis trabajando siempre junto a los médicos y técnicos de laboratorio locales para intentar mejorar con los resultados de los estudios la atención de la población local.

Tras el desarrollo de este trabajo se observa que la LED-FM ha mejorado claramente el diagnóstico y el rendimiento de las muestras de esputo en la Tuberculosis, principalmente en adultos. De esta manera el gobierno etíope ha decidido dotar a toda la red pública de laboratorios que intervienen en el Programa Nacional de Tuberculosis de estos microscopios e implantó la técnica realizada en este estudio en todo el país. Fue en el laboratorio de Gambo donde los expertos sanitarios etíopes pudieron comprobar por primera vez fiabilidad de esta tecnología.

En el campo de la Malaria se ha contribuido a reducir claramente la morbimortalidad asociada a esta enfermedad ya que la situación previa del hospital era insostenible porque el personal médico trataba la enfermedad de forma empírica debido a la baja sensibilidad de la microscopía con extensión fina. Se ha utilizado por primera vez en un hospital rural etíope una tecnología molecular que no necesita equipamiento cómo es el LAMP y se ha abierto el camino para utilizar esta tecnología, no sólo con la Malaria, sino con otras enfermedades infecciosas desatendidas. De hecho, en la actualidad grupos de alto nivel investigador como el que trabaja en enfermedades tropicales en la Universidad de Salamanca utilizan este método para la detección de esquistosomiasis y otras enfermedades tropicales desatendidas.

En el caso de las parasitosis intestinales, un grupo de enfermedades especialmente prevalente entre la población pobre y analfabeta de las zonas rurales colindantes con el Hospital de Gambo, se ha demostrado que el uso de dispositivos

concentradores de bajo coste (1 €) mejora en gran medida la tasa de detección de helmintos.

En conclusión, los trabajos realizados por el doctorando han seguido un principio básico, según el cual, la cooperación en investigación para la salud debe centrarse en objetivos que consigan mejorar la atención universal básica de la población local utilizando de forma eficiente los recursos humanos y materiales disponibles para reducir así la enorme morbilidad que las enfermedades infecciosas siguen teniendo, tanto en países de renta baja, como en países con modelos de salud en proceso de transición, donde coexisten con una doble carga las enfermedades transmisibles y las enfermedades emergentes asociadas a los nuevos estilos de vida.

## **6. PROBLEMAS Y LIMITACIONES AL DESARROLLO DE ESTOS ESTUDIOS**

---

La experiencia adquirida a lo largo de estos años en los proyectos de colaboración e investigación con el Hospital de Gambo arrojan un balance muy positivo. Por un lado, es estimulante observar como después de varios años, el personal sanitario local muestra interés por progresar académica y profesionalmente tras comprobar cómo pueden optimizarse los protocolos de trabajo con pequeños cambios tecnológicos o en los procedimientos normalizados de trabajo, y como esto consigue mejorar la atención de los pacientes.

Durante varios años, el grupo de Cooperación Sanitaria para el Desarrollo de la UAH (GUdC 16-02) ha financiado a través de las convocatorias de ayudas anuales para el fomento de la cooperación la formación y especialización de personal del hospital mediante cursos de enfermería, gestión y supervisión de laboratorios.

Por otro lado, el personal expatriado que ha colaborado en los proyectos ha aprendido a trabajar en condiciones difíciles y ha adquirido una experiencia en el diagnóstico y tratamiento de enfermedades tropicales que rara vez se importan a nuestro país o en enfermedades cosmopolitas con signos y síntomas característicos de fases muy avanzadas de otras enfermedades infecciosas que ya no se observan en Europa. Este es uno de los aspectos formativos más interesantes del trabajo en el terreno. La integración con el personal local fue excelente ya que ambas partes son conscientes de los beneficios mutuos de esta colaboración.

En la ejecución de los proyectos se encontraron numerosos obstáculos administrativos, financieros, estructurales y de recursos humanos que debieron resolverse con paciencia y comprensión. En concreto, el proceso de importación del microscopio de fluorescencia fue largo, ya que hubo que gestionar la compra a un precio reducido con la casa alemana Zeiss a través de FIND Diagnostics (FIND, 2017), una organización con base en Ginebra. Los reactivos necesarios para la reacción de LAMP tuvieron que importarse de Japón a través de terceros por la necesidad de disponer de una licencia de importación de productos sanitarios.

En el Hospital de Gambo, el material de laboratorio local no siempre era de calidad óptima, ya que se adquiere generalmente a empresas proveedoras indias o chinas que suministran productos de calidad inferior a la de los productos europeos o

norteamericanos. También se reciclan algunos productos que en España son desechables como los portaobjetos y los tubos de vidrio, lo cual a veces interfiere con el diagnóstico microscópico.

La comunicación con el personal sanitario y los pacientes también es un problema ya que en la Oromia se hablan diferentes lenguas y dialectos de manera que es imprescindible contar con un traductor local que a veces no transfiere de forma exacta el significado de las palabras de los pacientes al médico o al técnico de laboratorio. La gestión de la información fue difícil porque las historias clínicas y datos de laboratorio se registran manualmente y fueron frecuentes las pérdidas de información.

La ausencia de un sistema público de atención sanitaria universal en la gran mayoría de los países de renta baja es un gran obstáculo para conseguir los objetivos de desarrollo sostenible (ODS). La necesidad de financiar el hospital con aportaciones de los pacientes, dificulta el acceso de las capas más desfavorecidas a la atención sanitaria y la necesidad de efectuar pagos según los procedimientos diagnósticos o terapéuticos también es un factor que facilita la pérdida de pacientes en los estudios.

## **7. CONCLUSIONES**

---

- 1.** La cooperación Norte-Sur para la investigación en salud es beneficiosa para los países receptores si se enfoca de forma adecuada y ayuda a dotar de una cobertura sanitaria transversal que incluya el diagnóstico de las enfermedades infecciosas de mayor morbimortalidad y cubra las necesidades básicas de la población en las áreas de salud materno infantil, prevención y cuidados médicos y quirúrgicos básicos.
- 2.** Con este tipo de cooperación se pueden establecer lazos permanentes entre entidades sanitarias y académicas occidentales y hospitales universitarios, hospitales de distrito, e incluso centros de salud, ubicados en áreas remotas de países tropicales de renta baja.
- 3.** La colaboración en proyectos de investigación en este entorno debe centrarse en la mejora de la atención y situación sanitaria de la población local, especialmente en el campo de las enfermedades infecciosas, que son las más relevantes debido a su alta morbimortalidad en muchos países africanos.
- 4.** Es fundamental dotar a los centros de laboratorios y métodos diagnósticos sencillos, fiables y económicos que permitan conocer la causa de las enfermedades para instaurar los tratamientos adecuados o adoptar las medidas epidemiológicas profilácticas pertinentes en caso de epidemia o de enfermedades altamente endémicas.
- 5.** En el caso de la Tuberculosis se ha conseguido mejorar notablemente la tasa de detección de la enfermedad y reducir a la mitad la carga de trabajo relacionada con la microscopia de la Tuberculosis en el laboratorio. Los resultados del estudio han demostrado que la tecnología de microscopios LED se puede aplicar fácilmente en África.
- 6.** En la Malaria se ha contribuido a reducir la morbimortalidad asociada a esta enfermedad ya que el personal médico trataba la enfermedad de forma empírica debido a la baja sensibilidad de la microscopía con extensión fina. Se ha utilizado por primera vez en un hospital rural etíope una tecnología molecular que no necesita equipamiento como es el LAMP y se ha abierto el camino para utilizar esta

tecnología, no sólo con la Malaria, sino con otras enfermedades infecciosas desatendidas.

**7.** En las parasitosis intestinales se ha demostrado que el uso de dispositivos concentradores de bajo coste (2 €) mejora en gran medida la tasa de detección de helmintos y se ha confirmado una prevalencia superior al 50% de parasitosis intestinales en todos los pacientes que acuden con diarrea al hospital.

## **8. BIBLIOGRAFÍA**

---

Abdissa, K., Tadesse, M., Abdella, K., Bekele, A., Bezabih, M., & Abebe, G. (2015). Diagnostic performance of fluorescent light-emitting diode microscopy for tuberculous lymphadenitis in a high-burden setting. *Tropical Medicine & International Health: TM & IH*, 20(11), 1543-1548.

Abebe Fentaw Nebebe, C H. (2016). Determinants of income inequality in urban Ethiopia: A study of south Wollo administrative zone, Amhara national regional state. *International Journal of Applied Research*, 2(1), 550-563.

Abeku, T. A., van Oortmarsen, G. J., Borsboom, G., de Vlas, S. J., & Habbema, J. D. F. (2003). Spatial and temporal variations of Malaria epidemic risk in Ethiopia: Factors involved and implications. *Acta Tropica*, 87(3), 331-340.

Abossie, A., & Seid, M. (2014). Assessment of the prevalence of intestinal parasitosis and associated risk factors among primary school children in Chencha town, southern Ethiopia. *BMC Public Health*, 14(1), 166.

Abreha, T., Alemayehu, B., Tadesse, Y., Gebresillassie, S., Tadesse, A., Demeke, L., et al. (2014). Malaria diagnostic capacity in health facilities in Ethiopia., 1-8.

Abreha, T., Hwang, J., Thriemer, K., Tadesse, Y., Girma, S., Melaku, Z., et al. (2017). Comparison of artemether-lumefantrine and chloroquine with and without primaquine for the treatment of Plasmodium vivax infection in Ethiopia: A randomized controlled trial. *PLoS Medicine*, 14(5), e1002299.

Aginam, O. (2005). Bio-terrorism, human security and public health: Can international law bring them together in an age of globalization. *Med. & L.*, 24, 455.

AHO, 2017. *Comprehensive analytical profile: Ethiopia AHO*. Consultado 03/04/2017. Disponible en: [http://www.aho.afro.who.int/profiles\\_information/index.php/Ethiopia:Index](http://www.aho.afro.who.int/profiles_information/index.php/Ethiopia:Index)

Albonico, M., Allen, H., Chitsulo, L., Engels, D., Gabrielli, A., & Savioli, L. (2008).

Controlling soil-transmitted helminthiasis in pre-school-age children through preventive chemotherapy. *PLOS Neglected Tropical Diseases*, 2(3), e126.

Aldis, W. (2009). Health security as a public health concept: A critical analysis. *Revista Gerencia Y Políticas De Salud*, 8(17), 12-27.

Aleign, T., Degarege, A., & Erko, B. (2015). Soil-transmitted helminth infections and associated risk factors among schoolchildren in Durbete town, northwestern Ethiopia. *J Parasitol Res*, 2010, 641602.

Almeida, C., Campos, R. P. d., Buss, P., Ferreira, J. R., & Fonseca, L. E. (2010). Brazil's conception of south-south "structural cooperation" in health. *Reciis*, 4(1), 23-32.

Almeida, C., Travassos, C., Porto, S., & Labra, M. E. (2000). Health sector reform in Brazil: A case study of inequity. *International Journal of Health Services*, 30(1), 129-162.

Alonso, P. L., Smith, T., Schellenberg, J. A., Masanja, H., Mwankusye, S., Urassa, H., et al. (1994). Randomised trial of efficacy of SPf66 vaccine against plasmodium falciparum malaria in children in southern tanzania. *The Lancet*, 344(8931), 1175-1181.

Alonso, P. L. (2003). Trends in international health: Challenges and opportunities for our society. *Gaceta Sanitaria*, 17(3), 175-178.

Alonso, P. L., Sacarlal, J., Aponte, J. J., Leach, A., Macete, E., Aide, P., et al. (2005). Duration of protection with RTS, S/AS02A malaria vaccine in prevention of plasmodium falciparum disease in mozambican children: Single-blind extended follow-up of a randomised controlled trial. *The Lancet*, 366(9502), 2012-2018

Anthony, R. M., Kolk, A. H. J., Kuijper, S., & Klatser, P. R. (2006). Light emitting diodes for auramine O fluorescence microscopic screening of mycobacterium tuberculosis. *International Journal of Tuberculosis and Lung Disease*, 10(9), 1060-1062.

Aregawi, M., Lynch, M., Bekele, W., Kebede, H., Jima, D., Taffese, H. S., et al. (2014). Time series analysis of trends in Malaria cases and deaths at hospitals and the effect of antiMalarial interventions, 2001–2011, Ethiopia. *PLoS One*, 9(11), e106359.

Assefa, E. (2017). Migration and health (refugees and returnees in Ethiopia). *The Ethiopian Journal of Health Development (EJHD)*, 6(1).

Aydin-Schmidt, B., Xu, W., González, I. J., Polley, S. D., Bell, D., Shakely, D., et al. (2014). Loop mediated isothermal amplification (LAMP) accurately detects Malaria DNA from filter paper blood samples of low density parasitaemias. *PloS One*, 9(8), e103905.

Bennedsen, J., & Larsen, S. O. (1966). Examination for tubercle bacilli by fluorescence microscopy. *Scandinavian journal of respiratory diseases*, 47(2), 114-20.

Bergquist, R., Yang, G. J., Knopp, S., Utzinger, J., & Tanner, M. (2015). Surveillance and response: tools and approaches for the elimination stage of neglected tropical diseases. *Acta Tropica*, 141, 229-234.

Bhadade, A., Mehta, P., Kanade, S., & Nataraj, G. (2015). Utility of light-emitting diode microscopy for the diagnosis of pulmonary Tuberculosis in HIV infected patients. *International Journal of Mycobacteriology*, 4(1), 31-35.

Bhalla, M., Sidiq, Z., Sharma, P. P., Singhal, R., Myneedu, V. P., & Sarin, R. (2013). Performance of light-emitting diode fluorescence microscope for diagnosis of Tuberculosis. *International Journal of Mycobacteriology*, 2(3), 174-178.

Biadlegne, F., Belyhun, Y., Ali, J., Walle, F., Gudeta, N., Kassu, A., et al. (2014). Does the practice of blood film microscopy for detection and quantification of Malaria parasites in northwest Ethiopia fit the standard? *BMC Health Services Research*, 14(1), 529.

Blecher, M., Pillay, A., Patcharanarumol, W., Panichkriangkrai, W., Tangcharoensathien, V., Teerawattananon, Y., et al. (2016). Health financing lessons from Thailand for south Africa on the path towards universal health coverage. *South African Medical Journal = Suid-Afrikaanse Tydskrif Vir Geneeskunde*, 106(6), 4-5.

BOE, 1998. *Ley 23/1998, de 7 de julio, de cooperación internacional para el desarrollo Ministerio de Asuntos Exteriores. Secretaria de Estado para la cooperación internacional y para Iberoamérica*. Consultado 08/07/2017. Disponible en: <https://www.boe.es/buscar/doc.php?id=BOE-A-1998-16303>

Bradley, M. (2007). North-south research partnerships: Challenges, responses and trends; a literature review and annotated bibliography.

Branda, J. A., Lin, T. D., Rosenberg, E. S., Halpern, E. F., & Ferraro, M. J. (2006). A rational approach to the stool ova and parasite examination. *Clinical Infectious Diseases*, 42(7), 972-978.

Brito, P. E. (2014). La cooperación internacional en salud, tendencias y dilemas en la era de la salud global. *Revista Cubana De Salud Pública*, 40(1), 96-113.

Brown, T. M., Cueto, M., & Fee, E. (2006). The world health organization and the transition from "international" to "global" public health. *American Journal of Public Health*, 96(1), 62-72.

Burki, T. K. (2014). 25 years of the tropical health and education trust. *The Lancet*, 384(9959), 2011-2012.

Buse, K., & Gwin, C. (1998). The world bank and global cooperation in health: The case of Bangladesh. *The Lancet*, 351(9103), 665-669.

Cambanis, A., Ramsay, A., Wirkom, V., Tata, E., & Cuevas, L. E. (2007). Investing time in microscopy: an opportunity to optimise smear-based case detection of

tuberculosis. *The International Journal of Tuberculosis and Lung Disease*, 11(1), 40-45.

Cano, J., Berzosa, P. J., Roche, J., Rubio, J. M., Moyano, E., Guerra-Neira, A., et al. (2004). Malaria vectors in the bioko island (equatorial guinea): Estimation of vector dynamics and transmission intensities. *Journal of Medical Entomology*, 41(2), 158-161.

Carrera, J. M., Devesa, N., Chacn, D., Cararach, V., Fabre, E., Foradada, C. M., et al. (2007). Mortalidad materna en África. *Progresos De Obstetricia y Ginecología*, 50(7), 405-419.

Chalkidou, K., Glassman, A., Marten, R., Vega, J., Teerawattananon, Y., Tritasavit, N., et al. (2016). Priority-setting for achieving universal health coverage. *Bulletin of the World Health Organization*, 94(6), 462-467.

Chan, M. (2014). Ebola virus disease in west Africa - no early end to the outbreak. *The New England Journal of Medicine*, 371(13), 1183-1185.

Chandiwana, S., & Ornbjerg, N. (2003). Review of north-south and south-south cooperation and conditions necessary to sustain research capability in developing countries. *J Health Popul Nutr.*, 21(3):288-97.

Chandra, T. J., Selvaraj, R., & Sharma, Y. V. (2015). Same day sputum smear microscopy for the diagnosis of pulmonary Tuberculosis: Ziehl-Neelsen versus fluorescent staining. *Journal of Family Medicine and Primary Care*, 4(4), 525-528.

Chirino, J. B., & Melin, J. M. B. (2003). Un modelo MIMIC para estudiar la eficacia de la ayuda oficial al desarrollo. *Documento De Trabajo.*, 02.

CIA, 2017. *The World Fact Book: Ethiopia*. Consultado 27/03/2017. Disponible en: <https://www.cia.gov/library/publications/the-world-factbook/geos/et.html>

Cinca, A. N. (2016). Presente y futuro de la ayuda oficial al desarrollo. *Consejeros*:

*La Revista Del Buen Gobierno y La Responsabilidad Corporativa*, (120), 59-62.

Cook, J., Aydin-Schmidt, B., González, I. J., Bell, D., Edlund, E., Nassor, M. H., et al. (2015). Loop-mediated isothermal amplification (LAMP) for point-of-care detection of asymptomatic low-density Malaria parasite carriers in Zanzibar. *Malaria Journal*, 14(1), 43.

Cooperación y voluntariado UAH, 2016. *Dirección de cooperación al desarrollo UAH*. Consultado 30 de junio de, 2017. Disponible en: <https://www.uah.es/es/vivir-la-uah/participacion/cooperacion-voluntariado/direccion-de-cooperacion-al-desarrollo/>

Costello, a., & Zumla, a. (2000). Moving to research partnerships in developing countries. *BMJ (Clinical Research Ed.)*, 321(7264), 827-829.

CSA Ethiopia, 2017. *Central statistical agency Ethiopia*. Consultado 03/04/2017. Disponible en: <http://www.csa.gov.et/index.php>

Couturier, B. A., Jensen, R., Arias, N., Heffron, M., Gubler, E., Case, K., et al. (2015). Clinical and analytical evaluation of a single-vial stool collection device with formalin-free fixative for improved processing and comprehensive detection of gastrointestinal parasites. *Journal of Clinical Microbiology*, 53(8), 2539-2548.

Cuadros, J., Pérez-Tanoira, R., Prieto-Pérez, L., Martín-Martín, I., Berzosa, P., González, V., et al. (2015). Field evaluation of Malaria microscopy, rapid Malaria tests and loop-mediated isothermal amplification in a rural hospital in south western Ethiopia. *PloS One*, 10(11), e0142842.

CUAMM, ND. *Medici con l'Africa*. Consultado Jun 29, 2017. Disponible en: <http://www.mediciconlafrica.org/en/>

Cueto, M., & Zamora, V. (2006). *Historia, salud y globalización*, Lima.

Cuevas, L. E., Al-Sonboli, N., Lawson, L., Yassin, M. A., Arbide, I., Al-Aghbari, N., et al.

(2011). LED fluorescence microscopy for the diagnosis of pulmonary Tuberculosis: A multi-country cross-sectional evaluation. *PLoS Medicine*, 8(7), e1001057.

Davis, J. L., Cattamanchi, A., Cuevas, L. E., Hopewell, P. C., & Steingart, K. R. (2013). Diagnostic accuracy of same-day microscopy versus standard microscopy for pulmonary Tuberculosis: A systematic review and meta-analysis. *The Lancet Infectious Diseases*, 13(2), 147-154.

De Cock, K. M., Simone, P. M., Davison, V., & Slutsker, L. (2013). The new global health. *Emerging Infectious Diseases*, 19(8), 1192-1197.

Del Olmo, G. S., Escudero, M., Medina, M., & Molina, J. (2011). Prevalence of intestinal parasite infestation in foster children from the Sahara. *Revista del Laboratorio Clinico*, 4(1), 42-44.

Den Hertog, A. L., Daher, S., Straetemans, M., Scholing, M., & Anthony, R. M. (2013). No added value of performing Ziehl-Neelsen on auramine-positive samples for Tuberculosis diagnostics. *International Journal of Tuberculosis and Lung Disease*, 17(8), 1094-1099.

Deribe, K., Meribo, K., Gebre, T., Hailu, A., Ali, A., Aseffa, A., et al. (2012). The burden of neglected tropical diseases in Ethiopia, and opportunities for integrated control and elimination. *Parasites & Vectors*, 5(1), 240.

Diop, S., Ndiaye, M., Seck, M., Chevalier, B., Jambou, R., Sarr, A., et al. (2009). [Prevention of transfusion transmitted Malaria in endemic area]. *Transfusion Clinique Et Biologique: Journal De La Societe Francaise De Transfusion Sanguine*, 16(5-6), 454-459.

Easterlyco, W. (2009). How the millennium development goals are unfair to Africa. *World Development*, 37(1), 26-35.

Eastwood, J. B., Conroy, R. E., Naicker, S., West, P. A., Tutt, R. C., & Plange-Rhule, J. (2005). Loss of health professionals from sub-Saharan Africa: The pivotal role of the

UK. *The Lancet*, 365(9474), 1893-1900.

Edejer, T. T. (1999). North-south research partnerships: The ethics of carrying out research in developing countries. *BMJ (Clinical Research Ed.)*, 319(7207), 438-41.

EIU (2016). *Country profile: Ethiopia*. Consultado 30 de junio de, 2017. Disponible en: <https://www.parlinfo.aph.gov.au>

El-Sony, A. I., Mustafa, S. A., Khamis, A. H., Sobhi, S., Enarson, D. A., Baraka, O. Z., & Bjune, G. (2003). Symptoms in patients attending services for diagnosis of pulmonary tuberculosis in Sudan. *The International Journal of Tuberculosis and Lung Disease*, 7(6), 550-555.

Faust, E. C., D'Antoni, J. S., Odom, V., Miller, M. J., Peres, C., Sawitz, W., et al. (1938). A critical study of clinical laboratory technics for the diagnosis of protozoan cysts and helminth eggs in Feces<sup>1</sup>. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 1(2), 169-183.

Feleke, D. G., Tarko, S., & Hadush, H. (2017). Performance comparison of CareStart™ HRP2/pLDH combo rapid Malaria test with light microscopy in north-western Tigray, Ethiopia: A cross-sectional study. *BMC Infectious Diseases*, 17(1), 399.

Fernández-Soto, P., Arahuetes, J. G., Hernández, A. S., Abán, J. L., Santiago, B. V., & Muro, A. (2014). A loop-mediated isothermal amplification (LAMP) assay for early detection of *Schistosoma mansoni* in stool samples: a diagnostic approach in a murine model. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 8(9), e3126.

FIND, 2018. *Tuberculosis*. Consultado el 13/07/2018. Disponible en: <https://www.finddx.org/tb/>

FIND, 2015. *Malaria Lamp. Standard Operating Procedures*. Consultado, 30 de julio de 2017. Disponible en: <https://www.finddx.org/wp-content/uploads/2016/04/SOP-LAMP-Malaria-Aug2012.pdf>.

Fischer, 2018. *Productos químicos*. Consultado el 13/07/2018. Disponible en:

<https://www.fishersci.es/es/es/home.html>

Flecha, M. J., Benavides, C. M., Tissiano, G., Tesfamariam, A., Cuadros, J., de Lucio, A., et al. (2015). Detection and molecular characterization of *Giardia duodenalis*, cryptosporidium spp. and Entamoeba spp. among patients with gastrointestinal symptoms in Gambo hospital, Oromia region, southern Ethiopia. *Tropical Medicine & International Health: TM & IH*, 20(9), 1213-1222.

Fotedar, R., Stark, D., Beebe, N., Marriott, D., Ellis, J., & Harkness, J. (2007). Laboratory diagnostic techniques for entamoeba species. *Clinical Microbiology Reviews*, 20(3), 511-532.

Fox, A. M., & Reich, M. R. (2015). The politics of universal health coverage in low- and middle-income countries: A framework for evaluation and action. *Journal of Health Politics, Policy and Law*, 40(5), 1023-1060.

Fusheini, A., & Eyles, J. (2016). Achieving universal health coverage in south Africa through a district health system approach: Conflicting ideologies of health care provision. *BMC Health Services Research*, 16(1), 558.

Gaillard, J. F. (1994). North-south research partnership. *Is Collaboration Possible between Unequal Partners*, 7(2), 31-63.

Garcia, L. S., Shimizu, R. Y., & Paltridge, G. P. (2011). General approaches for detection and identification of parasites. *Manual of clinical microbiology, 10th edition* (pp. 2071-2090) American Society of Microbiology.

Githui, W., Kitui, F., Juma, E. S., Obwana, D. O., Mwai, J., & Kwamanga, D. (1993). A comparative study on the reliability of the fluorescence microscopy and Ziehl-Neelsen method in the diagnosis of pulmonary tuberculosis. *East African medical journal*, 70(5), 263-266.

Global Health Volunteering (FIMRC), 2009. *Global Health Volunteer Program*. Consultado el 04/11/2017. Disponible en: <https://www.fimrc.org/ghvp/>

Go Overseas, 2009. *Volunteer abroad*. Consultado el. 04/11/2017. Disponible en: <https://www.gooverseas.com/volunteer-abroad>

Ghiwot, Y., Degarege, A., & Erko, B. (2014). Prevalence of intestinal parasitic infections among children under five years of age with emphasis on *Schistosoma mansoni* in Wonji Shoa Sugar estate, Ethiopia. *PLoS One*, 9(10).

Gibson, A. D. S. (2009a). Miasma revisited: The intellectual history of tropical medicine. *Australian Family Physician*, 38(1-2), 57-59.

Gibson, M. (2009b). Tropical medicine: An illustrated history of the pioneers. *Journal of Medical Biography*, 17(3), 185-185.

Gil Iriondo, E., Cuadros González, J., González Barral, M. (2018). Estudio descriptivo sobre la enseñanza en salud global desde las universidades públicas españolas. ¿Por qué surge una necesidad formativa en salud global? *Revista de Investigación y Educación en Ciencias de la Salud (RIECS)*. Consultado Dic 2017. Disponible en <https://www.riecs.es/index.php/riecs/article/view/33>

González, D., Umaña-Peña, R., & Donat Castelló, L. (2012). ¿Está ayudando la cooperación española a conseguir los objetivos de desarrollo del milenio? *Gaceta Sanitaria*, 26(1), 1-3.

Grietens, K. P., Ribera, J. M., Erhart, A., Hoibak, S., Ravinetto, R. M., Gryseels, C., et al. (2014). Doctors and vampires in sub-Saharan Africa: Ethical challenges in clinical trial research. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 91(2), 213-215.

Grimes, J. E. T., Tadesse, G., Mekete, K., Wuletaw, Y., Gebretsadik, A., French, M. D., et al. (2016). School water, sanitation, and hygiene, soil-transmitted helminths, and schistosomes: National mapping in Ethiopia. *PLOS Neglected Tropical Diseases*,

10(3), e0004515.

Guinea Infomarket, 2017. *Guinea ecuatorial construirá un laboratorio nacional de salud pública*. (2016). Consultado Dec 16, 2017. Disponible en: <https://www.guineainfomarket.com/guinea-ecuatorial-construira-un-laboratorio-nacional-de-salud-publica/>

Gutiérrez-Cisneros, M. J., Cogollos, R., Lopez-Vélez, R., Martín-Rabadán, P., Martínez-Ruiz, R., Subirats, M., et al. (2010). Application of real-time PCR for the differentiation of *Entamoeba histolytica* and *E. dispar* in cyst-positive faecal samples from 130 immigrants living in Spain. *Annals of Tropical Medicine & Parasitology*, 104(2), 145-149.

Hänscheid, T., Egan, T. J., & Grobusch, M. P. (2007). Haemozoin: from melatonin pigment to drug target, diagnostic tool, and immune modulator. *The Lancet infectious diseases*, 7(10), 675-685.

Hailegiorgis, B., Girma, S., Melaku, Z., Teshi, T., Demeke, L., Gebresellasie, S., et al. (2010). Laboratory Malaria diagnostic capacity in health facilities in five administrative zones of Oromia regional state, Ethiopia. *Tropical Medicine & International Health: TM & IH*, 15(12), 1449-1457.

Health, G., Murray, C. J. L., & Lopez, A. D. (2013). Measuring the global burden of disease. *New England Journal of Medicine*, 369(5), 448-457.

Holmes, P. (2014). Neglected tropical diseases in the post-2015 health agenda. *The Lancet*, 383(9931), 1803.

Hopkins, H., González, I. J., Polley, S. D., Angutoko, P., Ategeka, J., Asimwe, C., et al. (2013). Highly sensitive detection of Malaria parasitemia in a Malaria-endemic setting: Performance of a new loop-mediated isothermal amplification kit in a remote clinic in Uganda. *The Journal of Infectious Diseases*, 208(4), 645-652.

Hospital de Gambo, 2015. *Hospital de Gambo, Etiopía*. Consultado Abr 3, 2017.

Disponible en: <https://www.gambohospital.org/>

Hsiang, M. S., Greenhouse, B., & Rosenthal, P. J. (2014). Point of care testing for Malaria using LAMP, loop mediated isothermal amplification. *Journal of Infectious Diseases.*, 15;210(8):1167-9.

ISGlobal, 2017. *Comienza un ensayo clínico que evaluará nuevas terapias para prevenir la Tuberculosis en personas con VIH.* Consultado Mayo 2018. Disponible en: <https://bit.ly/2J4PPZz>

IUATLD, 2018. *Publications.* Consultado julio 2018. Disponible en: <https://www.theunion.org/what-we-do/publications>

Jerez, A., Sampedro, V., & Rey, J. A. L. (2008). *Del 0, 7% a la desobediencia civil: Política e información del movimiento y las ONG de desarrollo, 1994-2000* CIS.

Kebede, D., Zielinski, C., Mbondji, P. E., Piexoto, M., Kouvididila, W., & Sambo, L. G. (2014). The African health observatory and national health observatories as platforms for strengthening health information systems in sub-Saharan Africa. *Journal of the Royal Society of Medicine*, 107(1), 6-9.

Kent, P. T., & Kubica, G. P. (1985). Public health Mycobacteriology: a guide for level III lab. US Department of health and human services. *Public health services. Center for disease control. Atlanta*, 64-68.

Kibret, S., Wilson, G. G., Ryder, D., Tekie, H., & Petros, B. (2017). Malaria impact of large dams at different eco-epidemiological settings in Ethiopia. *Tropical Medicine and Health*, 45(1), 4.

Kivihya-Ndugga, L. E. A., Van Cleeff, M. R. A., Githui, W. A., Nganga, L. W., Kibuga, D. K., Odhiambo, J. A., & Klatser, P. R. (2003). A comprehensive comparison of Ziehl-Neelsen and fluorescence microscopy for the diagnosis of tuberculosis in a resource-poor urban setting. *The International Journal of Tuberculosis and Lung Disease*, 7(12), 1163-1171.

Kitchen, A. D., & Chiodini, P. L. (2006). Malaria and blood transfusion. *Vox sanguinis*, 90(2), 77-84.

Knight, W. B., Hiatt, R. A., Cline, B. L., & Ritchie, L. S. (1976). A modification of the formol-ether concentration technique for increased sensitivity in detecting *Schistosoma mansoni* eggs. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 25(6), 818-823.

Koplan, J. P., Bond, T. C., Merson, M. H., Reddy, K. S., Rodriguez, M. H., Sewankambo, N. K., et al. (2009). Towards a common definition of global health. *The Lancet*, 373(9679), 1993-1995.

Lang, P. B., Gouveia, F. C., & Leta, J. (2013). Cooperation in health: Mapping collaborative networks on the web. *PLoS One*, 8(8).

Lee, P., Ji, D., Liu, C., Rampao, H. S., do Rosario, V. E., Lin, I., et al. (2012). Application of loop-mediated isothermal amplification for Malaria diagnosis during a follow-up study in São Tomé. *Malaria Journal*, 11, 408.

Loughlin, E. H., & Stoll, N. R. (1946). An efficient concentration method (AEX) for detecting helminthic ova in feces (modification of the Telemann technic). *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 1(4), 517-527.

Macfarlane, S. B., Jacobs, M., & Kaaya, E. E. (2008). In the name of global health: Trends in academic institutions. *Journal of Public Health Policy*, 29(4), 383-401.

Macete, E., Aide, P., Aponte, J. J., Sanz, S., Mandomando, I., Espasa, M., et al. (2006). Intermittent preventive treatment for malaria control administered at the time of routine vaccinations in mozambican infants: A randomized, placebo-controlled trial. *The Journal of Infectious Diseases*, 194(3), 276-285.

Mackintosh, M., Channon, A., Karan, A., Selvaraj, S., Cavagnero, E., & Zhao, H. (2016). What is the private sector? understanding private provision in the health systems of low-income and middle-income countries. *The Lancet (London*,

England), 388(10044), 596-605.

Manji, F., & O'Coill, C. (2002). The missionary position: NGOs and development in Africa. *International Affairs*, 78(3), 567-584.

Manuel Ramos, J., Reyes, F., & Tesfamariam, A. (2005). Change in epidemiology of Malaria infections in a rural area in Ethiopia. *Journal of Travel Medicine*, 12(3), 155-156.

Marais, B., Brittle, W., Painczyk, K., Hesselning, A., Beyers, N., Wasserman, E., et al. (2008). Use of Light-Emitting diode fluorescence microscopy to detect Acid-Fast bacilli in sputum. *Clinical Infectious Diseases*, 47(2), 203-207.

Martín-Rabadán, P., Martínez-Ruiz, R., Cuadros, J., & Caavate, C. (2010). El laboratorio de microbiología ante las enfermedades parasitarias importadas. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 28(10), 719-725.

Mayhew, S. H., Doherty, J., & Pitayarangsarit, S. (2008). Developing health systems research capacities through north-south partnership: An evaluation of collaboration with south Africa and Thailand. *Health Research Policy and Systems / BioMed Central*, 6, 8.

Merck, 2018. *Reactivos, compuestos químicos y material de laboratorio*. Consultado 13/07/2018. Disponible en: [www.merckmillipore.com/ES/es/products/reagents-chemicals-labware](http://www.merckmillipore.com/ES/es/products/reagents-chemicals-labware)

McHardy, I. H., Wu, M., Shimizu-Cohen, R., Couturier, M. R., & Humphries, R. M. (2014). Detection of intestinal protozoa in the clinical laboratory. *Journal of Clinical Microbiology*, 52(3), 712-720.

McKee, M., Marten, R., Balabanova, D., Watt, N., Huang, Y., Finch, A. P., et al. (2014). BRICS' role in global health and the promotion of universal health coverage: The debate continues. *Bulletin of the World Health Organization*, 92(6), 452-453.

McPake, B., & Hanson, K. (2016). Managing the public-private mix to achieve universal health coverage. *The Lancet (London, England)*, 388(10044), 622-630.

Médicos del Mundo, 2016. *Salud y desarrollo: que se ha conseguido*. Consultado el. 04/11/2016. Disponible en: <http://www.medicosdelmundo.org>

Menendez, C., Fleming, A. F., & Alonso, P. L. (2000). Malaria-related anaemia. *Parasitology Today*, 16(11), 469-476.

Menéndez-Navarro, A. (2007). La colaboración sanitaria internacional: Reflexiones y propuestas desde la historia.

Mengistu Legesse, B. E. (2004). Prevalence of intestinal parasites among schoolchildren in a rural area close to the southeast of lake Langano, Ethiopia. *Ethiop, J HealthDev*, 18(2), 116-120.

Midekisa, A., Senay, G., Henebry, G. M., Semuniguse, P., & Wimberly, M. C. (2012). Remote sensing-based time series models for Malaria early warning in the highlands of Ethiopia. *Malaria Journal*, 11(1), 165.

Ministry of Health, Ethiopia 2017 *Malaria in Ethiopia*. Consultado 16/06/2017. Disponible en: [www.moh.gov.et](http://www.moh.gov.et)

Mirdha, B. R., & Samantray, J. C. (2002). *Hymenolepis nana*: A common cause of paediatric diarrhoea in urban slum dwellers in India. *Journal of Tropical Pediatrics*, 48(6), 331-334.

Moges, B., Amare, B., Belyhun, Y., Tekeste, Z., Gizachew, M., Workineh, M., ... & Kassu, A. (2012). Comparison of CareStart™ HRP2/pLDH COMBO rapid Malaria test with light microscopy in north-west Ethiopia. *Malaria Journal*, 11(1), 234.

MOH, Ethiopia, nd. *Ministry of health Ethiopia*. Consultado 03/04/2017. Disponible en: <http://www.moh.gov.et/es/home>

Molyneux, S., & Geissler, P. W. (2008). *Ethics and the ethnography of medical research in Africa. Social Sciences and Medicine.*, 67(5):685-95.

Montero, A. (2015). Chikungunya fever—A new global threat. *Medicina Clínica (English Edition)*, 145(3), 118-123.

Muhsen, K., & Levine, M. M. (2012). A systematic review and meta-analysis of the association between giardia lamblia and endemic pediatric diarrhea in developing countries. *Clinical Infectious Diseases*, 55(suppl\_4), S293.

National Institute of Aging (NIA, 2017) nd. *Featured health topic: Healthy aging/longevity*. Consultado Nov 4, 2016. Disponible en: <https://www.nia.nih.gov/health/featured/healthy-aging-longevity>.

NIA Project, 2018. *Research, the NIA Project*. Consultado 13/07/2018. Disponible en: <http://www.zanaafrica.org/research-the-nia-project/>

Njiru, Z. K., Mikosza, A. S. J., Armstrong, T., Enyaru, J. C., Ndung'u, J. M., & Thompson, A. R. C. (2008). Loop-mediated isothermal amplification (LAMP) method for rapid detection of *Trypanosoma brucei rhodesiense*. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 2(2), e147.

Owho, G., Marten, R., Waris, A., Hammonds, R., Mulumba, M., & Friedman, E. A. (2014). Great expectations for the world health organization: A framework convention on global health to achieve universal health coverage. *Public Health*, 128(2), 173-178.

Oriero, E. C., Jacobs, J., Geertruyden, J. V., Nwakanma, D., & D'Alessandro, U. (2015). Molecular-based isothermal tests for field diagnosis of Malaria and their potential contribution to Malaria elimination. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy.*, 70(1):2-13.

Oxfam-Intermón, 2016. *La realidad de la ayuda*: Consultado Oct 25, 2016.

Disponible en: <http://www.realidadayuda.org/>

Patel, J. C., Lucchi, N. W., Srivastava, P., Lin, J. T., Sug-Aram, R., Aruncharus, S., et al. (2014). Field evaluation of a real-time fluorescence loop-mediated isothermal amplification assay, RealAmp, for the diagnosis of Malaria in Thailand and India. *The Journal of Infectious Diseases*, 210(8), 1180-1187.

Polley, S. D., González, I. J., Mohamed, D., Daly, R., Bowers, K., Watson, J., et al. (2013). Clinical evaluation of a loop-mediated amplification kit for diagnosis of imported Malaria. *The Journal of Infectious Diseases*, 208(4), 637-644.

Port, J. R., Nguetse, C., Adukpo, S., & Velavan, T. P. (2014). A reliable and rapid method for molecular detection of Malarial parasites using microwave irradiation and loop mediated isothermal amplification. *Malaria Journal*, 13: 454.

Power, H. J. (1999). *Tropical medicine in the twentieth century: A history of the Liverpool school of tropical medicine, 1898-1990* Routledge.

Prasanthi, K., & Kumari, A. R. (2005). Efficacy of fluorochrome stain in the diagnosis of pulmonary tuberculosis co-infected with HIV. *Indian Journal of Medical Microbiology*, 23(3), 179.

Ramos, J. M., Reyes, F., Lemma, D., Belinchón, I., & Gómez, J. R. (2011). Disability profile in leprosy patients' diagnoses in a rural reference leprosy centre in Ethiopia during 1999–2009. *Tropical Doctor*, 41(1), 51-53.

Ramos, J. M., Górgolas, M. D., Cuadros, J., Fanjul, E., & Tropical, D. P. (2012). Revista clínica española aspectos básicos en la práctica actual de la medicina clínica en el trópico (II). enfermedades bacterianas y virales; malnutrición. *Revista Clínica Española*, 212: 295-304.

Ramos, J. M., Reyes, F., Lemma, D., Tesfamariam, A., Belinchón, I., & Gorgolas, M. (2014). The burden of leprosy in children and adolescents in rural southern Ethiopia. *Paediatrics and International Child Health*, 34(1), 24-28.

Rohde, J., Cousens, S., Chopra, M., Tangcharoensathien, V., Black, R., Bhutta, Z. A., et al. (2008). 30 years after Alma-Ata: Has primary health care worked in countries? *The Lancet*, 372(9642), 950-961.

Rubio, J. M., Benito, A., Berzosa, P. J., Roche, J., Puente, S., Subirats, M., et al. (1999). Usefulness of seminested multiplex PCR in surveillance of imported malaria in Spain. *Journal of Clinical Microbiology*, 37(10), 3260-3264.

Sachs, J. D. (2012a). Achieving universal health coverage in low-income settings. *The Lancet (London, England)*, 380(9845), 944-947.

Sachs, J. D. (2012b). From millennium development goals to sustainable development goals. *The Lancet*, 379(9832), 2206-2211.

Santana-Morales, M. a., Afonso-Lehmann, R. N., Quispe, M. a., Reyes, F., Berzosa, P., Benito, A., et al. (2012). Microscopy and molecular biology for the diagnosis and evaluation of Malaria in a hospital in a rural area of Ethiopia. *Malaria Journal*, 11, 199.

SDFG, 2017. *De los ODM a los ODS*. (2015). Consultado Nov 4, 2016. Disponible en: <http://www.sdgfund.org/es/de-los-odm-los-ods>

Sebastian, J. (2007). Conocimiento, cooperación y desarrollo. *CTS: Revista Iberoamericana De Ciencia, Tecnología y Sociedad*, 3(8), 195-208.

Shimizu, R. Y., & Garcia, L. S. (2015). Specimen Collection, Transport, and Processing: Parasitology. In *Manual of Clinical Microbiology, Eleventh Edition* (pp. 2293-2309). American Society of Microbiology.

Shillcutt, S., Morel, C., Goodman, C., Coleman, P., Bell, D., Whitty, C. J. M., et al. (2008). Cost-effectiveness of Malaria diagnostic methods in sub-Saharan Africa in an era of combination therapy. *Bulletin of the World Health Organization*, 86(2), 101-110.

Siddiqi, K., Lambert, M. L., & Walley, J. (2003). Clinical diagnosis of smear-negative pulmonary tuberculosis in low-income countries: the current evidence. *The Lancet infectious diseases*, 3(5), 288-296.

Singh, N. P. (1998). The value of fluorescence microscopy of auramine stained sputum smears for the diagnosis of pulmonary Tuberculosis. *Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health*, 29(4), 860-863.

Sirivichayakul, C., Radomyos, P., Praevanit, R., Jojjaroen-Anant, C., & Wisetsing, P. (2000). *Hymenolepis nana* infection in Thai children. *Journal-Medical Association of Thailand*, 83(9), 1035-1038.

Steingart, K. R., Henry, M., Ng, V., Hopewell, P. C., Ramsay, A., Cunningham, J., ... & Pai, M. (2006). Fluorescence versus conventional sputum smear microscopy for tuberculosis: a systematic review. *The Lancet infectious diseases*, 6(9), 570-581.

Steingart, K. R., Henry, M., Laal, S., Hopewell, P. C., Ramsay, A., Menzies, D., ... & Pai, M. (2007). Commercial serological antibody detection tests for the diagnosis of pulmonary tuberculosis: a systematic review. *PLoS medicine*, 4(6), e202.

Staunton, C., & Moodley, K. (2016). Data mining and biological sample exportation from south Africa: A new wave of bioexploitation under the guise of clinical care? *SAMJ: South African Medical Journal*, 106(2), 136-138.

Stop TB, 2017. *Stop TB partnership*. Consultado May 25, 2017. Disponible en: <http://www.stoptb.org/>

Tangcharoensathien, V., Limwattananon, S., Patcharanarumol, W., & Thammatacharee, J. (2014). Monitoring and evaluating progress towards universal health coverage in Thailand. *PLoS Medicine*, 11(9), e1001726.

Tadesse, F. G., Pett, H., Baidjoe, A., Lanke, K., Grignard, L., Sutherland, C., ... & Mamo, H. (2015). Submicroscopic carriage of *Plasmodium falciparum* and

*Plasmodium vivax* in a low endemic area in Ethiopia where no parasitaemia was detected by microscopy or rapid diagnostic test. *Malaria journal*, 14(1), 303.

Ten Hove, R., Schuurman, T., Kooistra, M., Möller, L., Van Lieshout, L., & Verweij, J. J. (2007). Detection of diarrhoea-causing protozoa in general practice patients in the Netherlands by multiplex real-time PCR. *Clinical Microbiology and Infection*, 13(10), 1001-1007.

Tesfaye, A., Fiseha, D., Assefa, D., Klinkenberg, E., Balanco, S., & Langley, I. (2017). Modeling the patient and health system impacts of alternative xpert® MTB/RIF algorithms for the diagnosis of pulmonary Tuberculosis in Addis Abeba, Ethiopia. *BMC Infectious Diseases*, 17(1), 318-318.

Thompson, R. C. A., & Monis, P. (2012). *Giardia--from genome to proteome*. (1st ed.) Elsevier Ltd.

Tiangtip, R., & Jongwutiwes, S. (2002). Molecular analysis of cryptosporidium species isolated from HIV-infected patients in Thailand. *Tropical Medicine & International Health: TM & IH*, 7(4), 357-364.

Travis, P., Bennett, S., Haines, A., Pang, T., Bhutta, Z., Hyder, A. A., et al. (2004). Overcoming health-systems constraints to achieve the millennium development goals. *The Lancet*, 364(9437), 900-906.

Turkeltaub, J. a., McCarty, T. R., & Hotez, P. J. (2015). The intestinal protozoa. *Current Opinion in Gastroenterology*, 31(1), 38-44.

Uneke, C. J., Ogbu, O., & Nwojiji, V. (2006). Potential risk of induced Malaria by blood transfusion in South-eastern Nigeria. *McGill Journal of Medicine: MJM*, 9(1),

United Nations, 2005. *The millenium development goals report 2005*. Consultado 9/7/2017. Disponible en: [www.un.org](http://www.un.org)

United Nations, 2017. *Ethiopia*. Consultado 07/05/2018. Disponible en:

<https://sustainabledevelopment.un.org/memberstates/ethiopia>

UNDP, 2017. *Programa de las naciones unidas para el desarrollo*. Consultado Ene 8, 2018. Disponible en: <http://www.undp.org/content/undp/es/home.html>

Van Hung, N., Sy, D. N., Anthony, R. M., Cobelens, F. G., & van Soolingen, D. (2007). Fluorescence microscopy for tuberculosis diagnosis. *The Lancet infectious diseases*, 7(4), 238-239.

Van Lieshout, L., & Roestenberg, M. (2015). Clinical consequences of new diagnostic tools for intestinal parasites. *Clinical Microbiology and Infection: The Official Publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, 21(6), 1-9.

Vega, J. (2013). Universal health coverage: The post-2015 development agenda. *The Lancet*, 381(9862), 179-80.

Verweij, J. J., Oostvogel, F., Brienen, E. A., Nang-Beifubah, A., Ziem, J., & Polderman, A. M. (2003). Prevalence of *Entamoeba histolytica* and *Entamoeba dispar* in northern Ghana. *Tropical Medicine & International Health*, 8(12), 1153-1156.

Wegayehu, T., Tsalla, T., Seifu, B., & Teklu, T. (2013). Prevalence of intestinal parasitic infections among highland and lowland dwellers in Gambo area, south Ethiopia. *BMC Public Health*, 13(1), 151.

Weitzel, T., Dittrich, S., Mhl, I., Adusu, E., & Jelinek, T. (2006). Evaluation of seven commercial antigen detection tests for giardia and cryptosporidium in stool samples. *Clinical Microbiology and Infection*, 12(7), 656-659.

WHO, 2010. *El programa de erradicación de la viruela*. Consultado el. 13/07/2018. Disponible en: [https:// http://www.who.int/features/2010/smallpox/es/](https://http://www.who.int/features/2010/smallpox/es/)

WHO, 2014. *Malaria rapid diagnostics test performance: Results of WHO product testing of Malaria RDTs: Round 5 (2013)*. World Health Organization, 1, 1-110. Consultado 7/07/2017. Disponible en: [http://www.finddiagnostics.org/export/sites/default/resourcecentre/reports\\_brochures/docs/Malaria\\_rdt\\_results\\_Round5](http://www.finddiagnostics.org/export/sites/default/resourcecentre/reports_brochures/docs/Malaria_rdt_results_Round5)

WHO, 2016. *Ethiopia: On the road to ending Tuberculosis*. Consultado el 24/05/2017. Disponible en: <http://www.who.int/features/2016/ethiopia-Tuberculosis/en/>

WHO, 2016. *Global health observatory (GHO) data*. Consultado Abr 3, 2017. Disponible en: <http://www.who.int/gho/>

WHO, 2017. *Vigilancia de la resistencia a los antimicrobianos*. Consultado Nov 7, 2016. Disponible en: <http://www.who.int/drugresistance/surveillance/es/>

WHO, 2017. *Cobertura sanitaria universal*. Consultado Nov 7, 2016. Disponible en: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs395/es/>

WHO, 2017. *Erradicación mundial de la viruela: Informe final de la comisión mundial para la certificación de la erradicación de la viruela, ginebra, diciembre de 1979*. World Health Organization. (2015). Consultado el 07/07/2017. Disponible en: <https://apps.who.int/iris/bitstream/10665/39259/1/9243560654.pdf>

WHO, 2017. *Las 10 causas principales de defunción en el mundo*. Consultado Nov 4, 2016. Disponible en: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs310/es/index2.html>

WHO, 2017. WHO. *Salud mundial: Retos actuales*. Consultado Nov 4, 2016. Disponible en: <http://www.who.int/whr/2003/chapter1/es/index3.html>

WHO, 2017. *Ethiopia*. Consultado Abr 3, 2017. Disponible en: <http://www.who.int/countries/eth/en/>

WHO, 2017. *Ethiopia*. Consultado Oct 25, 2016. Disponible en: <http://www.who.int/countries/eth/en/>

WHO, 2017. *Global health observatory (GHO) data*. Consultado Abr 3, 2017. Disponible en: <http://www.who.int/gho/en/>

WHO, 2017. *Leprosy*. Consultado Jun 29, 2017. Disponible en: <http://www.who.int/lep/en/>

WHO, 2017. *Informe mundial sobre la Tuberculosis*. Consultado May 16, 2018. Disponible en: [http://www.who.int/tb/publications/global\\_report/es/](http://www.who.int/tb/publications/global_report/es/)

WHO, 2017. *Schistosomiasis*. Consultado Jul 17, 2017. Disponible en: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs115/en/>

WHO, 2018. *Ethiopia*. Consultado el 13/07/2018. Disponible en: <http://www.who.int/countries/eth/en/>

Willcocks, B., McAuliffe, G. N., & Baird, R. W. (2015). Dwarf tapeworm (*Hymenolepis nana*): Characteristics in the northern territory 2002–2013. *Journal of Paediatrics and Child Health*, 51(10), 982-987.

World Bank, 2015. *World Bank Group*. Consultado Sep 27, 2016. Disponible en: <http://www.worldbank.org>

World Bank, 2017. *Ethiopia*. Consultado 27/03/2017. Disponible en: <http://www.worldbank.org/en/country/ethiopia>

Woyessa, A., Deressa, W., Ali, A., & Lindtjørn, B. (2013). Evaluation of CareStart™ Malaria pf/pv combo test for *Plasmodium falciparum* and *Plasmodium vivax* Malaria diagnosis in Butajira area, south-central Ethiopia. *Malaria Journal*, 12, 218.

Yongkiettrakul, S., Jaroenram, W., Arunrut, N., Chareanchim, W., Pannengetch, S., Suebsing, R., et al. (2014). Application of loop-mediated isothermal amplification

assay combined with lateral flow dipstick for detection of *Plasmodium falciparum* and *Plasmodium vivax*. *Parasitology International*, 63(6), 777-784.

Zeiss, 2017. Primo Star Iled. Consultado, 27/03/2027. Disponible en: <https://www.zeiss.com/microscopy/int/products/light-microscopes/primo-star-iled.html>

Zimmerman, P. a., & Howes, R. E. (2015). Malaria diagnosis for Malaria elimination. *Current Opinion in Infectious Diseases*, 28(5), 446-454.

## **9. ANEXOS**

---

## **ANEXO 1**

### **Malaria LAMP form**

#### ***Patient's data***

Patient.....

.....

Birth's date:..... Sex:.....Lab N°: .....

Place of residence: ..... Date of arrival to hospital: .....

#### **Clinical data**

Date when symptoms started:

#### **Symptoms**

	<b>Yes</b>	<b>No</b>
Fever (>38° C)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Headache	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Nausea	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Other.....	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

Complications\*:    **No**   **Yes** (specify):

#### **Lab results**

Hgb                      Platelets                      Leukocytes                      Cr                      Other abnormal results

#### **Epidemiological data**

Area of residence:

Previous treatment:

What?

When?

Mosquito net user?

Yes/No

#### **Treatment**

Drug/dosis:

Evolution:

Cured

Yes/no

#### **Parasitological data Gambo**

Day 0 (blood extraction): .....

## **Parasitological data**

	Neg.	Pos.	Species
LAMP			
qPCR			
Thin film			
Thick film			

Parasitemia (parasites/microlitre):

Parasitemia (% of red blood cells parasitized)

- Cerebral Malaria, severe anemia, respiratory distress, renal failure, DIC, hemorrhagic diatesis, icterus, hypoglycemia, others.

## **ANEXO 2**

### **DATA FORM to be filled in NEGATIVE LAMP TESTS**

<b>Clinical data</b>	No	Yes	<b>Occupation</b>	No	Yes
Headache			Farmer		
Letargy			Student		
Muscle pain			Shopkeeper		
Cough			Day labourer		
Chest pain					
Joint pain			<b>Animal exposure</b>		
Conjunctival suffusion			Own any animal		
Lymphadenopathy			Own dog		
Fever episodes lasting 1 to 6 days in previous weeks			Own cat		
Black scar			Rat exposure in 2 previous weeks		
Skin rash			<b>Lab results</b>		
Hepatomegaly			AST		
Splenomegaly			ALT		
<b>Severe syndrome</b>					
Meningoencephalitis					
Respiratory failure			Brief summary of the case:		
Renal failure					
Shock					
Hepatitis					
Petequia, mucosal haemorrhages					
Protracted fever (>2 weeks)					
Confusion					
Seizures					
Stiff neck					
Jaundice					
<b>Pregnancy</b>					
Abortion					
Stillbirth					
<b>Other data</b>					

\* Describe type and localization of the rash:

### **ANEXO 3**

#### **INTESTINAL PARASITOSIS DATA FORM**

**N°**                      **Ref. number hospital:**                      **Patient initials:**

<b>PATIENT DATA</b>	
Sex: <input type="checkbox"/> Male <input type="checkbox"/> Female                      Birth date: ____ / ____ / ____	
Place of birth:                      Place of residence:	
Immunosuppression: <input type="checkbox"/> Yes <input type="checkbox"/> No	Cause of immunosuppression: HIV <input type="checkbox"/> Tumor <input type="checkbox"/> Diabetes <input type="checkbox"/> Other <input type="checkbox"/> Specify:  ¿Has the patient any other disease? : <input type="checkbox"/> Yes <input type="checkbox"/> No If yes specify.....

<b>EPIDEMIOLOGICAL DATA</b>
More family members affected? <input type="checkbox"/> Yes <input type="checkbox"/> No    If yes, specify
Source of drinking water: Distance to drinking water source: Alternative sources of drinking water.
Type of family house:
Animals in the family compound:

<b>CLINICAL DATA</b>	
Date of diagnosis: ____ / ____ / ____	
Time of evolution (in days) of clinical symptoms:	
Signs and symptoms:  Fever <input type="checkbox"/> Yes <input type="checkbox"/> No Diarrhea <input type="checkbox"/> Yes <input type="checkbox"/> No Abdominal pain <input type="checkbox"/> Yes <input type="checkbox"/> No Blood in feces <input type="checkbox"/> Yes <input type="checkbox"/> No Malnutrition <input type="checkbox"/> Yes <input type="checkbox"/> No    If yes, measure    MUAC : Dehydration <input type="checkbox"/> Yes <input type="checkbox"/> No Lose of weight: <input type="checkbox"/> Yes <input type="checkbox"/> No    If yes, how much?    Kg: Eosinophilia                      ..... <input type="checkbox"/> Yes <input type="checkbox"/> No    If yes, how much? Respiratory symptoms <input type="checkbox"/> Yes <input type="checkbox"/> No    Describe: Other symptoms:	
Direct Microscopy: n° x 400 field                      Concentration method: n° x 400 field.....	
Treatment:	Evolution:    Ambulatory treatment <input type="checkbox"/> Admitted in hospital <input type="checkbox"/> No data <input type="checkbox"/>