

UNIVERSIDAD MIGUEL HERNÁNDEZ

FACULTAD DE MEDICINA

TRABAJO FIN DE GRADO EN MEDICINA



**LEISHMANIASIS VISCERAL (KALA AZAR), UNA ENFERMEDAD DESATENDIDA EN TURKANA (KENIA).**

**AUTORA:** Jordá Martínez, Judith.

**TUTORA:** M<sup>a</sup> Francisca Colom Valiente

**COTUTORA:** Carmen Hernández Pérez (Univ. Complutense de Madrid)

Departamento de Producción Vegetal y Microbiología

Curso académico 2021 - 2022

Convocatoria de junio

## ÍNDICE

1. RESUMEN Y PALABRAS CLAVE .....	3
2.INTRODUCCIÓN, HIPÓTESIS Y OBJETIVOS.....	5
3.MATERIAL Y MÉTODOS .....	10
4.RESULTADOS.....	13
5.DISCUSIÓN.....	17
6.CONCLUSIONES.....	21
7.REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	22
8.AGRADECIMIENTOS .....	25
9. ANEXOS .....	26

## 1. RESUMEN

**Introducción:** La leishmaniasis visceral (LV), o enfermedad de Kala Azar, es la más grave de las cuatro formas que puede presentar la leishmaniasis, enfermedad transmitida por mosquitos del género *Phlebotomus* (mosca de la arena) que con la picadura inoculan un protozoo llamado *Leishmania* que va a parasitar diferentes células y tejidos humanos. El Kala Azar es la forma sistémica o visceral, y tiene una mortalidad del 95% si no es tratada. Kenia es uno de los 5 países de África oriental con mayor prevalencia. La carga global de esta enfermedad es desconocida puesto que la información acerca de la prevalencia y distribución de esta es insuficiente. Se trata de una de las seis Enfermedades Desatendidas declaradas por la OMS en 2015 para Turkana.

El **objetivo** es el mejor conocimiento de la epidemiología de la enfermedad y la mejora de la capacidad diagnóstica del equipo local del hospital de Lodwar (LCRH) mediante la introducción de la PCR para detección del protozoo.

**Material y métodos:** Durante la XVIII campaña de Cooperación Internacional de Cirugía en Turkana, a los pacientes con diagnóstico clínico y test rápido positivo de Kala-Azar se les tomó muestras de sangre y datos demográficos y clínicos. Posteriormente, se extrajo el ADN con distintos métodos para amplificación por PCR en tiempo real.

**Resultados:** Hubo 28 casos y recogimos el mismo número de muestras clínicas de pacientes entre 1 y 79 años (media de 27 años). La fiebre, como síntoma de sospecha, se presentó en el 75% de los pacientes. Las muestras 21, 23, 27 y 29 resultaron PCR positiva (4/28, 14,3%). El 71,4% de los pacientes había comenzado con tratamiento anti-*Leishmania* en el momento de obtener la muestra.

**Discusión:** La posibilidad de detección de *Leishmania* en muestras de sangre de individuos infectados, está muy condicionada por la instauración del tratamiento específico contra el protozoo. De este modo, la efectividad del método de PCR a tiempo real como sistema de confirmación para falsos positivos y pruebas rápidas dudosas, debe aplicarse antes de la instauración de tratamiento, y siempre lo más próximo posible al momento de diagnóstico de sospecha de la enfermedad.

**PALABRAS CLAVE:** *Leishmania*, Turkana, PCR, diagnóstico, tratamiento.

## ABSTRACT

**Introduction:** Visceral leishmaniasis (VL), or Kala Azar disease, is the most serious of the four forms that leishmaniasis can present, a disease transmitted by mosquitoes of the genus *Phlebotomus* (sand fly) that with the bite inoculate a protozoan called *Leishmania* that will parasitize different human cells and tissues. Kala Azar is the systemic or visceral form, and has a mortality of 95% if left untreated. Kenya is one of the 5 eastern African countries with the highest prevalence. The overall burden of this disease is unknown since information about the prevalence and distribution of this disease is insufficient. It is one of six Neglected Tropical Diseases (NTDs) declared by WHO in 2015 for Turkana. The **aim** of this study is to better understand the epidemiology of the disease and improve the diagnostic capacity of the local team of Lodwar Hospital (LCRH) by introducing PCR for protozoan detection.

**Material and methods:** During the 18th International Cooperation Campaign of *Cirugía en Turkana*, we took samples of blood and demographic and clinical data from patients with clinical diagnosis and positive rapid test for Kala-Azar. Afterwards, the DNA was extracted with different methods for real-time PCR amplification.

**Results:** There were 28 cases and we collected the same number of clinical samples from patients between 1 and 79 years (mean of 27 years). Fever, as a symptom of suspicion, occurred in 75% of patients. Samples number 21, 23, 27 and 29 were PCR positive (4/28, 14.3%). 71.4% of patients had started anti-*Leishmania* treatment in the moment of taking the sample.

**Discussion:** The possibility of detection of *Leishmania* in blood samples from infected individuals is highly conditioned by the establishment of specific treatment against the protozoan. Thus, the effectiveness of the real-time PCR method as a confirmation system for false positives and doubtful rapid tests should be applied before the establishment of the treatment, and always as close as possible to the moment of suspecting the disease.

**KEY WORDS:** *Leishmania*, Turkana, PCR, diagnosis, treatment.

## 2. INTRODUCCIÓN, HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

La leishmaniasis visceral (LV), o enfermedad de Kala Azar, es una enfermedad infecciosa crónica parasitaria y potencialmente mortal, transmitida por el mosquito del género *Phlebotomus* (mosca de la arena) que con la picadura inocular un protozoo llamado *Leishmania*. Se conocen unas 20 especies de *Leishmania* y unas 90 de moscas de la arena, siendo prevalentes en países en vías de desarrollo. *L. donovani* y *L. infantum*. [1,2]

*Leishmania* sigue el siguiente ciclo biológico [3]:

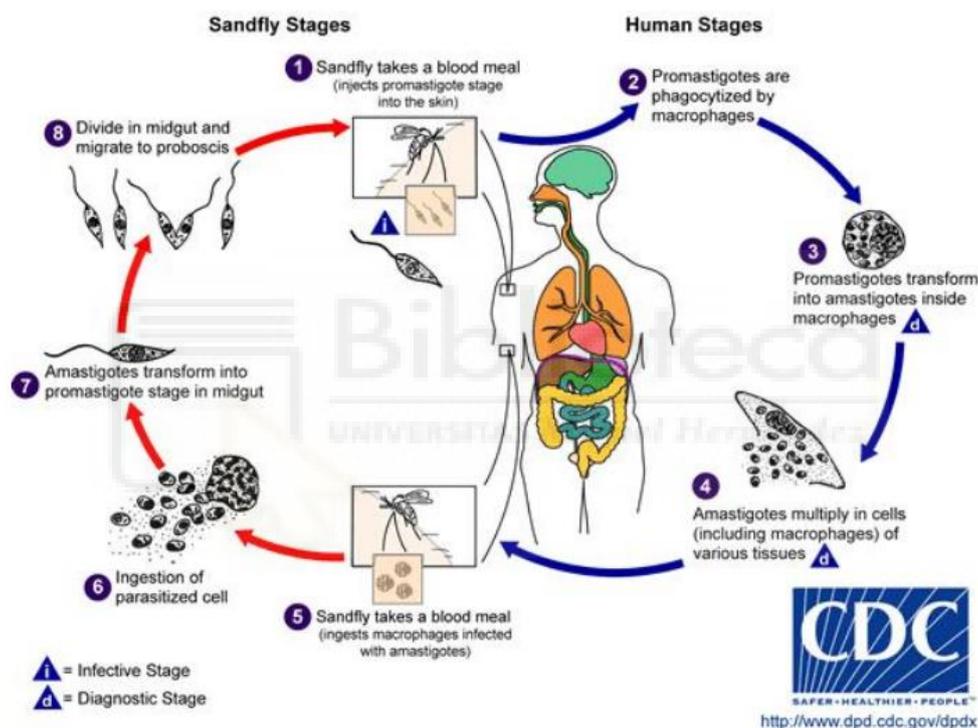


Figura 1. Ciclo biológico de *Leishmania*. Centers for Disease Control and Prevention Image Library.

Las personas se infectan cuando son mordidas por una mosca de la arena hembra infectada. Las moscas de la arena inyectan una forma de los protozoos con flagelo (promastigotes). Los promastigotes son fagocitados por macrófagos y en estas células, se desarrollan como formas no flageladas o amastigotes. Se multiplican dentro de los macrófagos en varios tejidos, principalmente hígado, bazo, médula ósea y nódulos linfáticos. Cuando una mosca de la arena pica a una persona o a un animal infectado, se infecta al ingerir sangre que contiene macrófagos con amastigotes en su interior. Estos se convierten en promastigotes en la parte media del intestino de la mosca (intestino

medio), en el que se multiplican, maduran y migran a las partes bucales de la mosca. Se inyectan en un nuevo individuo cuando la mosca pica a otra persona, completando el ciclo.

En cuanto a la enfermedad, existen 4 formas de leishmaniasis [1,2]:

- La forma **cutánea**, la cual es la más frecuente. Suele manifestarse como una pápula que evoluciona a una costra que se desprende dejando una úlcera, lo que se conoce como "botón de Oriente".
- La **mucocutánea**. Esta forma de leishmaniasis causa una destrucción parcial o total de las membranas mucosas de la nariz, boca y garganta, llegando a necesitar, en ocasiones, cirugía reconstructiva.
- La forma **visceral (Kala Azar)**. El **Kala Azar** es la forma sistémica o visceral, y tiene una mortalidad del 95% si no es tratada. La carga global de esta enfermedad es desconocida puesto que la información acerca de la prevalencia y distribución de esta es insuficiente [1] ya que solo el 38% de los casos en África, son notificados. Sin embargo, se estima una incidencia anual de 202.000-389.100 casos y una pérdida de 3.3. millones de Años de Vida Ajustados por Discapacidad (AVAD).

Las **manifestaciones** típicas de la LV incluyen: brotes irregulares de fiebre de más de 2 semanas de duración, pérdida de peso, hepato y/o esplenomegalia, anemia y cambios en el color de la piel. El periodo de incubación va desde 10 días a 34 meses. Sin embargo, la mayoría de las personas infectadas desarrolla síntomas a las 2 semanas. El parásito puede sobrevivir por décadas en individuos asintomáticos, quienes son una fuente importante de transmisión.

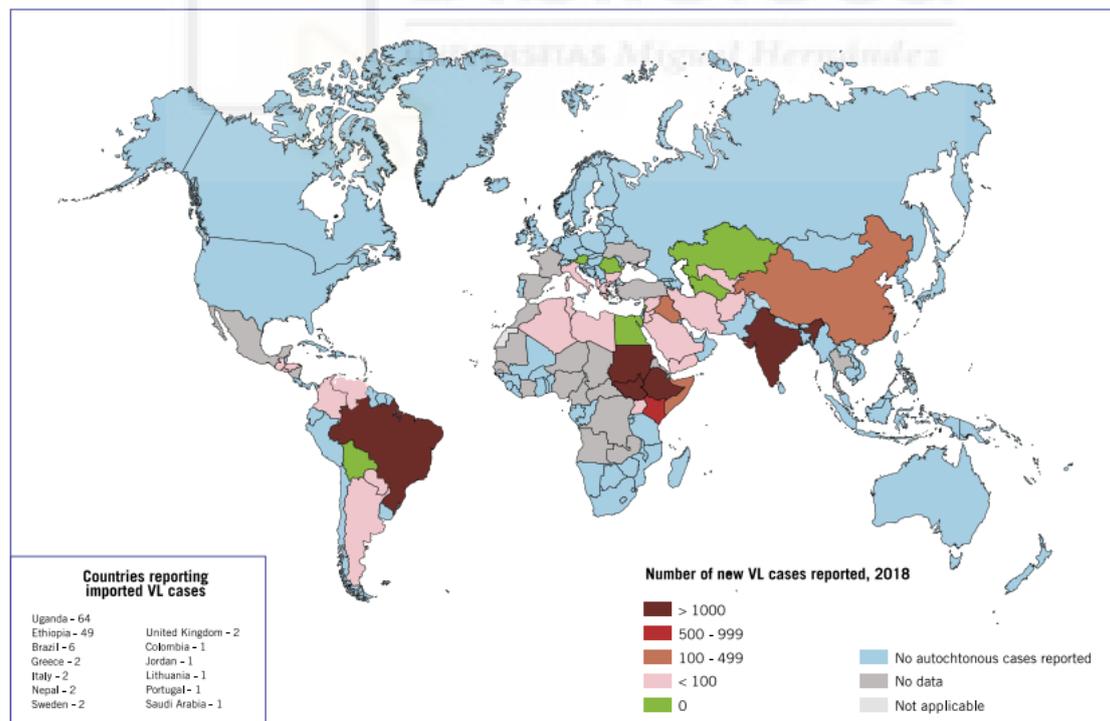
El diagnóstico definitivo tradicionalmente se ha hecho por cultivo o confirmación microscópica de los amastigotes en aspirados de bazo, médula ósea o ganglios linfáticos. Sin embargo, estos métodos resultan muy cruentos para el individuo y actualmente, está aprobado el test rápido rK39. Este test se basa en la detección de anticuerpos contra el

antígeno (rK39) de *L. chagasi* en una muestra de sangre del paciente. Tiene una sensibilidad del 93% y una especificidad del 90%. Esta prueba está financiada por la OMS [4].

- La **leishmaniasis dérmica post Kala Azar** (*Post Kala-azar Dermal Leishmaniasis*). Esta forma ocurre en un 5-20% de las ocasiones después de haber recibido tratamiento para la forma visceral. Se caracteriza por lesiones cutáneas de diferente severidad y carga parasitaria, que van desde máculas y pápulas (menos severas, menos carga parasitaria) a nódulos (más graves, más carga parasitaria).

En cuanto a la epidemiología de la LV en África oriental, esta enfermedad constituye un problema de salud pública en el Este de África pues ahí encontramos 5 de los 7 países que más contribuyen a la carga mundial de LV, según datos de la OMS de 2015 (en este año fue declarada Enfermedad Tropical Desatendida) [2]. Estos 5 países son Etiopía, Sudán, Sudán del Sur, Kenia y Somalia [1].

### Status of endemicity of visceral leishmaniasis worldwide, 2018



The boundaries and names shown and the designations used on this map do not imply the expression of any opinion whatsoever on the part of the World Health Organization concerning the legal status of any country, territory, city or area or of its authorities, or concerning the delimitations of its frontiers or boundaries. Dotted lines on maps represent approximate border lines for which there may not yet be full agreement. ©WHO 2019. All rights reserved.

Data Source: World Health Organization  
Map Production: Control of Neglected Tropical Diseases (NTD)  
World Health Organization



Figura 2. Mapamundi donde podemos observar la distribución de la LV (OMS 2018).

La enfermedad tiene un tratamiento basado en antimoniales pentavalentes. En Turkana se aplica el esquema terapéutico siguiente:

- De primera línea: Estibogluconato de sodio (SSG) IV (Dosis: 20 mg/kg/día) [5-10] + paramomicina IM (Dosis: 11 mg/kg/día). Duración: 17 días.

Actualmente, se usa esta combinación porque permite reducir la duración del tratamiento de 30 días (SSG monoterapia) a 17 [1,6,7]. Tasa de curación: 95% [5-10]

- Segunda línea: anfotericina B liposomal. Dos posibles pautas de tratamiento: 1) 3mg/kg/día durante 10 días o; 2) 5 mg/kg/día durante 6 días. Tasa curación: 90-100% [5,10]

El proyecto dentro del cual se engloba este trabajo está titulado: “MEJORA DE LA SALUD DEL PUEBLO TURKANA MEDIANTE LA PREVENCIÓN Y EL TRATAMIENTO DE LAS ENFERMEDADES TROPICALES DESATENDIDAS”, dirigido por la Dra. Colom y financiado por la UMH y la Generalitat Valenciana. El trabajo que se presenta corresponde al estudio de la Leishmaniasis visceral, y en concreto a su epidemiología y diagnóstico.

Este proyecto está diseñado para promover la salud de la población del condado de Turkana. Hasta Turkana se desplaza el equipo de medicina humanitaria “Cirugía en Turkana” [11] anualmente desde el año 2004 para llevar a cabo 2 semanas de campaña quirúrgica. Este equipo está formado por médicos de diferentes especialidades, mayoritariamente cirujanos generales, que operan altruistamente a los pacientes del hospital de referencia del condado, en Lodwar (Lodwar County & Referral Hospital- LCRH). El condado de Turkana se encuentra al norte de Kenia, a orillas del lago Turkana, en el Valle del Rift. Hace frontera con Uganda, Sudán del Sur y Etiopía.



Figura 3. Localización del condado de Turkana (imagen modificada de internet).

En cuanto a la **epidemiología** de la LV en el condado de Turkana, afecta mayoritariamente a niños con edades comprendidas entre los 4 y los 15 años. El principal factor de riesgo es un bajo nivel socioeconómico.

La incidencia de la enfermedad en Turkana se empezó a registrar en 2017, ya que no fue hasta el año 2016 cuando el Ministerio de Salud de Kenia sacó las guías de diagnóstico, tratamiento y prevención de la Leishmaniasis visceral o Kala Azar (*“Diagnosis, Treatment, and Prevention of Visceral Leishmaniasis (Kala-azar)”*) tras su declaración como enfermedad tropical desatendida por la OMS.

Tabla 1. Número de casos de LV recogidos desde el año 2017 hasta la actualidad en el condado de Turkana.

AÑO	Nº CASOS
2017	32
2018	178
2019	437
2020	407
2021	394
2022	20 (enero)

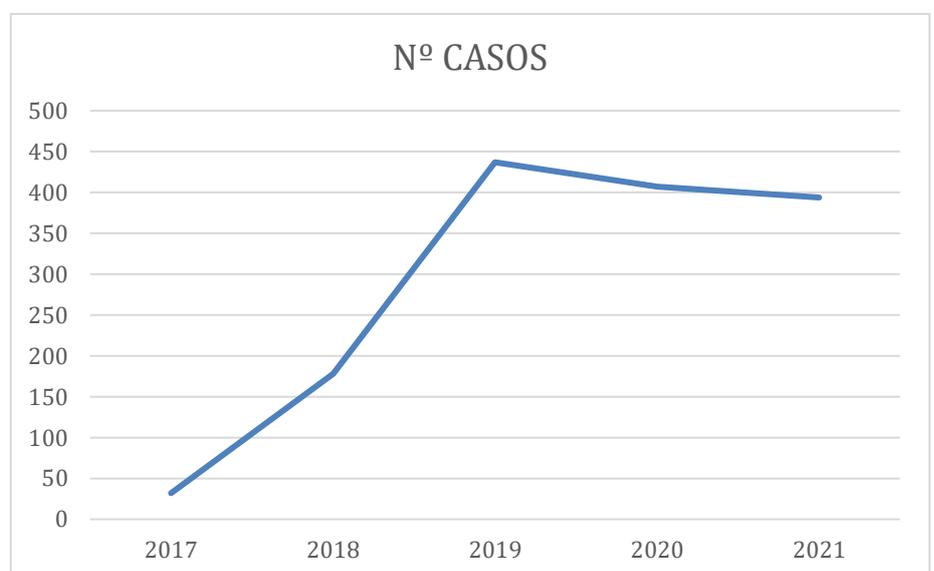


Figura 4. Representación del número de casos de LV desde el año 2017 hasta la actualidad en Turkana.

Fue entonces cuando se empezó a estudiar y tratar la enfermedad, marcándose como objetivo, para Kenia reducir la morbilidad por leishmaniasis un 60% y los brotes de esta enfermedad un 50% para el año 2025 [1]. Además, controlar los vectores responsables de transmitir la enfermedad [1,12,13].

La **hipótesis** de este trabajo es:

El diagnóstico de Leishmaniasis visceral basado en aspectos clínicos y test rápido diagnóstico (rk39), puede enmascarar falsos positivos, ya que el método es muy sensible pero no tan específico. Estos podrían ser detectados mediante la amplificación de ADN parasitario por PCR, que es un método menos sensible pero más específico. Aplicar esta prueba puede mejorar la capacidad de manejo de la enfermedad y el conocimiento más preciso de la epidemiología de la misma en Turkana.

Los **objetivos**, por tanto, son:

Objetivo primario: Mejorar el conocimiento sobre la epidemiología del Kala Azar en Turkana, por mejora de la capacidad diagnóstica del laboratorio local, mediante la introducción de la técnica de detección del protozoo por PCR.

Objetivos secundarios:

1. Comprobar la validez de la técnica PCR como método de descarte de falsos positivos en el diagnóstico de la Leishmaniasis visceral.
2. Estimar la frecuencia de falsos positivos y el perfil de paciente en el que es más probable.
3. Mejorar la formación de los profesionales sanitarios locales para el correcto diagnóstico de Leishmaniasis.
4. Contribuir al mejor conocimiento de la epidemiología de la Leishmaniasis.

### **3. MATERIAL y MÉTODOS**

**3.1. Diseño:** Se trata de un estudio descriptivo, experimental y prospectivo. Este estudio se llevó a cabo dentro del campo de actuación de la XVIII campaña quirúrgica de la organización Cirugía en Turkana (12-26 febrero 2022). Se trabajó en terreno, en el hospital de Lodwar y en el laboratorio de micología médica de la Universidad Miguel Hernández.

**3.2. Población a estudio y selección de pacientes:** La población a estudio es la correspondiente al condado de Turkana. Para valorar la efectividad del método diagnóstico de Leishmaniasis visceral, se seleccionaron los pacientes atendidos en el hospital de Lodwar (LCRH), que fueron diagnosticados de Leishmaniasis visceral por sospecha clínica y Test Rápido Diagnóstico (RDT) en el periodo de 15 días de duración de la campaña de cooperación al desarrollo.

Estos pacientes fueron seleccionados por el Coordinador de las Enfermedades Tropicales Desatendidas en Turkana (James Loree) aplicando los criterios de inclusión y exclusión establecidos en el proyecto.

**Criterios de inclusión:** pacientes con clínica de Leishmaniasis (fundamentalmente fiebre) y test rápido positivo que además firmaran el **Consentimiento Informado** (anexo 2). Para informar a los pacientes y obtener el consentimiento, fue fundamental la ayuda de los profesionales locales y traductores de lengua turkana o suajili al inglés. En aquellos pacientes que no pudieran firmar por ser menores de edad o estar incapacitados para ello, el consentimiento fue firmado por un adulto responsable.

Por otro lado, no incluimos aquellos pacientes que no quisieron firmar el consentimiento informado o que fueron menores no acompañados por un adulto (**criterios de exclusión**).

El **formulario de recogida de datos** (anexo 3) incluye variables demográficas, clínicas y de laboratorio. En cuanto a las variables demográficas, recogemos: la edad, el sexo, lugar de residencia y la profesión, entre otras. Las variables clínicas contemplan todas las posibles manifestaciones clínicas de la enfermedad y si ha recibido tratamiento y en su caso, cuál. Finalmente, las variables de laboratorio recogen cómo se ha obtenido la muestra, su procesamiento, el tipo de análisis realizado y los resultados obtenidos.

**3.3. Obtención de muestras de sangre.** Las muestras se recogieron por punción del pulpejo de un dedo cuando no había muestra obtenida por punción venosa periférica (normalmente indicada para analítica sanguínea más completa). En cualquier caso, se aplicó tubo capilar para separar un

pequeño volumen de sangre con la que se impregnaron unos discos de papel absorbente estéril de 6 mm de diámetro que se guardaron en seco en microtubos estériles.



*Figura 5. Trabajo de campo en el LCRH. a) Valoración clínica de una de las pacientes ingresadas con síntomas compatibles con LV. b) Recogida de sangre periférica por punción del pulpejo e impregnación de discos de papel. c) Muestras de sangre obtenidas por punción venosa y separación de alícuotas de las mismas mediante tubos capilares. Fotografías tomadas por Gisela Fernández-Pretel (a y b) y de Philip Marine y propias de la autora (c).*

**3.4. Preparación de las muestras.** Dividimos cada muestra de sangre en dos microtubos. Uno se conservó -20°C. El otro tubo fue la muestra de trabajo para extracción de ADN. Con este segundo tubo, procedimos en primer lugar a lisar los hematíes y eliminar la hemoglobina mediante lavado de los papeles con agua destilada estéril. Posteriormente se centrifugó para obtener el precipitado celular.

**3.5. Extracción de ácidos nucleicos.** El precipitado celular obtenido de las muestras fue sometido a extracción de ácidos nucleicos mediante diferentes sistemas comerciales. Se eligió Instagene Matrix (Biorad®), Plant/Fungi g DNA isolation kit (Nzytech®) y DNeasy Plant MiniKit (QIAGEN®). Se trata de diferentes métodos para conseguir DNA válido y limpio. Se comenzó con el más rápido-barato (Instagene) y después se continuó trabajando con el resto.

**3.6. Amplificación de dianas moleculares por PCR.** Para la detección del genoma de Leishmania se utilizó un sistema comercial de PCR cualitativa LshSpp dtec-qPCR del laboratorio (Genetic Analysis Strategies S.L. Elche, Alicante) que tiene como diana el DNA mitocondrial del parásito. Este método tiene una sensibilidad del 90% y 100% de especificidad [14-17]. La amplificación y lectura se realizó con un equipo de PCR en tiempo real (modelo *CFX Connect* de Biorad ©) con el siguiente protocolo de amplificación:

1. Activación (95°C): 2 minutos.
2. Desnaturalización (95°C): 5 segundos. Se programó 40 ciclos a partir de este paso.
3. Hibridación (60°C): 20 segundos.

#### **4. RESULTADOS**

En el periodo acotado para el estudio, entre el 14 y el 26 de febrero de 2022, se recogieron 28 casos de LV y el mismo número de muestras clínicas. 19 de ellas fueron obtenidas por punción venosa periférica y 9 mediante la punción del pulpejo de un dedo.

**4.1. Variables demográficas:** La distribución por sexos de los pacientes estudiados fue 19 varones frente a 9 mujeres (relación 2:1). Con edades comprendidas entre los 1 y los 79 años, con una media de edad de 27 años y una mediana de 21 años.

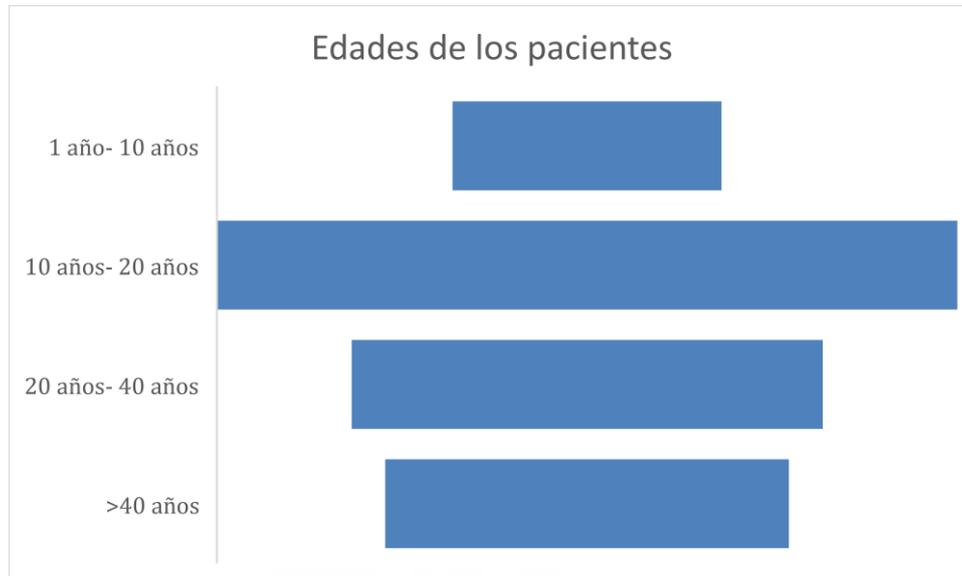


Figura 6. Gráfica de distribución por edades de los pacientes estudiados.

La principal ocupación de los mismos es ser pastor (46%), también se incluyeron niños pequeños (17,8%), estudiantes (14%) y amas de casa (10%).

Un 85,7% no ha viajado nunca fuera del condado de Turkana, frente a 4 pacientes de 28 que sí lo ha hecho. Todos son residentes del condado de Turkana, de zonas rurales (96,4%).

En lo referente al uso de métodos de protección contra la enfermedad, 14 pacientes nunca han usado mosquitera y 21 no han usado repelentes.

Tabla 2. Número de pacientes que hacen uso de mosquitera y repelentes de insectos en su vida diaria.

USO MOSQUITERA		USO REPELENTES	
Sí, siempre	6 (21,4%)	Sí, siempre	0 (0%)
Sí, a veces	8 (28,6%)	Sí, a veces	7 (0,25%)
NO	14 (50%)	NO	21 (75%)

**4.2.** En cuanto a las **variables clínicas** de los pacientes que estudiamos (figura 7), la mayoría presentaba fiebre (21 casos, 75%), seguido de cefalea, esplenomegalia y pérdida de apetito (16 casos, 57%), debilidad y anorexia (14 casos, 50%), pérdida de peso (13 casos, 46%), dolor

abdominal (10 casos, 35'7%), hepatomegalia (9 casos, 32%), ictericia (7 casos, 25%), epistaxis (6 casos, 21%), siendo los vómitos y el sangrado las manifestaciones que se dieron en menor medida (2 casos, 7%).



Figura 7. Porcentajes de presentación de las diferentes manifestaciones clínicas.



Figura 8. Distensión abdominal característica de la LV debido a la hepatoesplenomegalia en a) paciente joven y b) de niño de 3 años de edad. Las marcas en la piel son cicatrices resultantes de la aplicación del método tradicional de tratamiento por el que hacen cortes puesto que tienen la creencia que "drenan" la impureza y curan la enfermedad. Fotografías realizadas por la autora.

Se siguieron las 2 pautas de tratamiento explicadas en la introducción. En concreto, 22 pacientes (22/28, 78,6%) recibieron la pauta combinada de SSG+ Paramomicina (17 días) y, 6 pacientes (6/28, 21,4%) recibieron Anfotericina B liposomal (6 días).

8 pacientes (8/28, 28,6%) NO habían comenzado el tratamiento en el momento de la toma de muestras, a 14 pacientes (14/28, 50%) recogimos la muestra de sangre durante el mismo, y 6 pacientes (6/28, 21,4%) habían finalizado el tratamiento.

Los días desde el inicio del tratamiento hasta la obtención de la muestra para PCR variaron desde 0 días (la muestra se recogió el mismo día que se comenzó con el tratamiento anti-Leishmania) y 33 días en el caso de la pauta combinada y, entre 5 y 15 días en el caso de la pauta con anfotericina B liposomal. Con una media de 11 días de tratamiento en la pauta combinada y 9 días con anfotericina B liposomal.

**4.3. Resultados de laboratorio:** Todos los pacientes incluidos en el estudio dieron un resultado positivo en la prueba de diagnóstico rápido (criterio de inclusión). De todos ellos se obtuvieron muestras de sangre en diferentes momentos tras el diagnóstico e instauración del tratamiento, como se ha explicado anteriormente.

**4.3.1. Extracción de ácidos nucleicos.** La primera extracción ensayada con el sistema Instagene Matrix que se aplicó a las 11 primeras muestras, consiguió entre 1,7 y 7,7 ng/μL de ADN de las muestras. Una nueva alícuota de estas muestras se sometió a extracción mediante el sistema Plant/Fungi de Nzytech para sumar ambas cantidades. Se consiguió entre 1,7 y 4,4 ng/μL. Finalmente, se extrajo con el método de Qiagen (Plant Mini Kit) de las muestras 12 a la 29 y se consiguieron concentraciones de ADN entre 2,9 y 162 ng/μL.

**4.3.2. Amplificación de secuencias específicas mediante PCR a tiempo real.** Todas las muestras fueron sometidas a amplificación, resultando positivas 4 de ellas (4/28; 14,3%). Las muestras positivas corresponden con los pacientes 21, 23, 27 y 29 de los

que se extrajo sangre por punción venosa. El ADN de estas muestras fue extraído con el método de Qiagen.

Hubo 20 pacientes (20/28, 71,4%) que estaban siendo tratados o que ya habían finalizado el tratamiento en el momento de recoger la muestra. De estos, 19 pacientes (19/20, 95%) resultaron negativo en la PCR.

*Tabla 3. Número de pacientes que han recibido tratamiento antes de la obtención de la muestra para PCR y resultados de la misma.*

		PCR		
		POSITIVA	NEGATIVA	
<b>Tratamiento</b>	<b>sí</b>	1	19	20
	<b>antes de PCR</b>	3	5	8
		4	24	28

## 5. DISCUSIÓN

Los pacientes atendidos fueron mayoritariamente varones, en una relación 2:1 con respecto a las mujeres, lo cual está descrito en la mayoría de las publicaciones científicas [1,2,4,5]

La mayoría de ellos vivían en zonas rurales y pertenecían a un contexto socioeconómico bajo, siendo el pastoreo la principal ocupación de los mismos. Los turkana son una etnia de pastores nómadas, que viven en un contexto rural muy precario, lo que explica que no tengan acceso a barreras, ni físicas ni químicas, de protección contra los vectores. De ahí que el 50% de los pacientes infectados no usara mosquitera y sólo un 0,25% hiciera uso de los repelentes de insectos.

La distribución de casos, aunque la “n” es pequeña, en el territorio de Turkana muestra una mayor prevalencia en la zona de Namoruputh (figura 9), donde se localizaron 11 de los 28 pacientes estudiados (39’2%). En la figura 9 se ve que las zonas más próximas a lagos y ríos es donde se dan más casos de LV (es de esperar pues la mosca de la arena necesita de ambientes húmedos para reproducirse) [1,12,13]

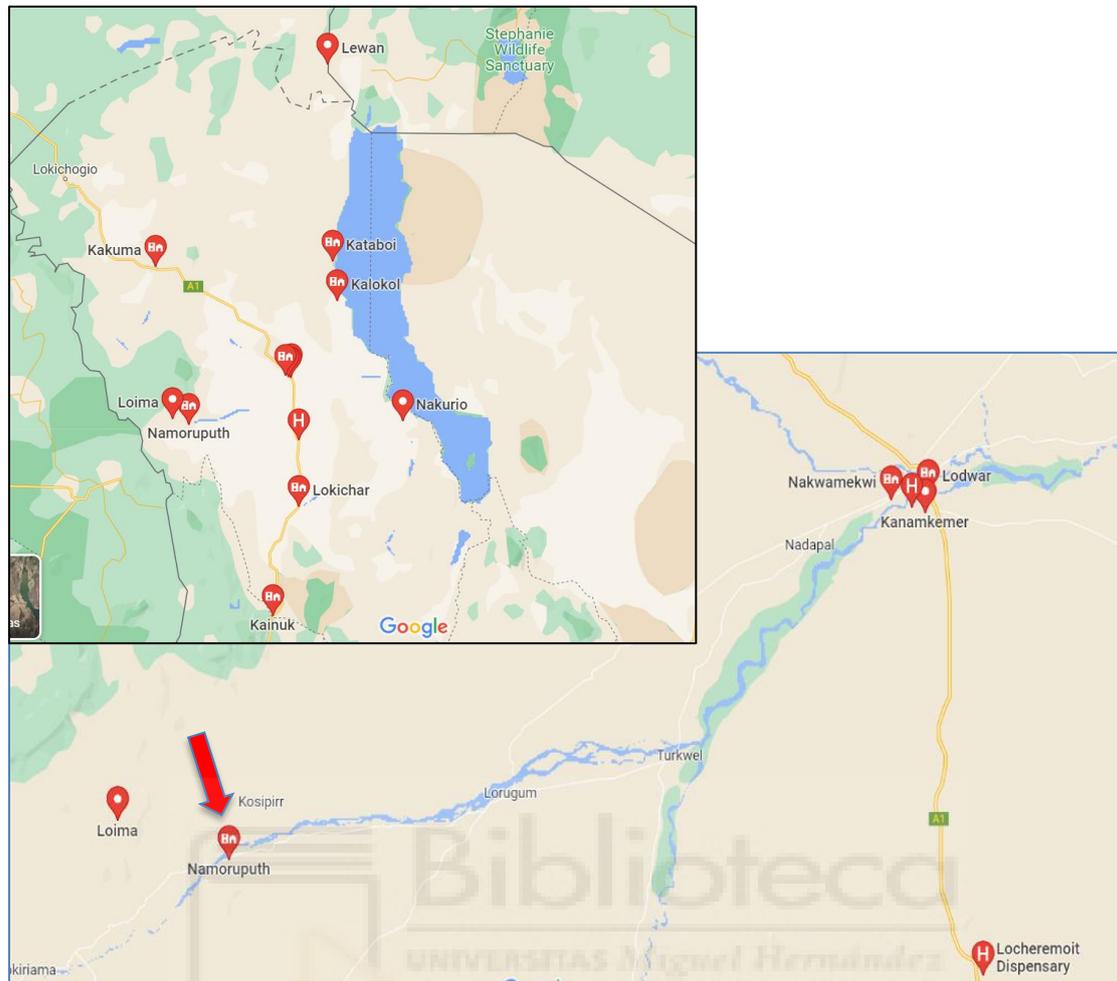


Figura 9. Mapa parcial del condado de Turkana. La flecha roja indica la localización de Namoruputh en la ribera del río Turkwel (captura de pantalla de <https://www.google.com/maps/search/Namoruputh.+Kenya/@3.1363296,35.5067228,10z?hl=es>)

La mayoría de los pacientes presentaba la sintomatología clínica más típica de esta enfermedad, siendo la fiebre el síntoma más característico y presente en el 75% de los enfermos. La esplenomegalia, que también se considera un signo característico de la LV, estaba presente solo en el 57% de los pacientes. De hecho, algunos autores defienden que el tamaño del bazo no se corresponde con el nivel de parasitemia en sangre [18].

El alto porcentaje de muestras que dieron un resultado negativo (85,7%) al aplicar la técnica de PCR a tiempo real, fue totalmente inesperado, ya que todos ellos habían dado un resultado positivo en la técnica rápida de detección de antígeno (RDT), aunque esta tiene una sensibilidad ligeramente mayor que la PCR (93% frente a 90%). Consideramos que en esta situación fue determinante el estatus

terapéutico de los pacientes, ya que el RDT se realizó en el momento del diagnóstico, cuando el paciente presenta el cuadro clínico más florido y supuestamente la carga parasitaria en sangre es más alta. Sin embargo, las muestras de sangre trabajadas en este estudio se obtuvieron tras un tiempo de evolución de la enfermedad de 25 días de media (rango entre 9 y 90 días), durante los cuales los pacientes recibieron antiparasitarios y posiblemente aclararon la carga de ADN de *Leishmania* en sangre.

Esto se ha descrito en otros trabajos publicados [14]. Por tanto, el estudio realizado en este periodo, no nos resulta válido para comprobar la eficacia de la técnica PCR como método de descarte de falsos positivos en el diagnóstico de esta enfermedad.

Además del efecto negativo del tratamiento, tenemos que considerar una disminución en la sensibilidad del procedimiento por el deterioro que puede sufrir el DNA extraído de las muestras por las condiciones de conservación en el laboratorio de Turkana, en el que se producen frecuentes cortes de suministro eléctrico, y el transporte hasta Alicante en el que no podemos garantizar la cadena de frío en todo el recorrido.

También hay que añadir respecto a la posible influencia en el resultado de la PCR de la carga parasitaria y del estado de inmunidad del paciente, pues la respuesta al tratamiento depende del número de linfocitos CD4/ CD8+, de la acción de citocinas tipo 1 y 2 (IL-2, IL-4, IL-12, IFN- $\gamma$  y TNF) y de la activación de especies reactivas de oxígeno (ROS) y óxido nítrico (NO) en los macrófagos [14, 18-20]. Con respecto a la carga parasitaria, no tenemos estimación de esta ya que no hay pruebas de visualización directa ni se realizó PCR cuantitativa previa al tratamiento.

Otro aspecto de importancia es la cantidad y calidad del ADN que conseguimos traer hasta Alicante desde Lodwar. El método de impregnación de papeles absorbentes es muy útil, sencillo y práctico, sobre todo si queremos trabajar con muestras mínimamente invasivas, como la punción del pulpejo del dedo. La contrapartida es que la cantidad de muestra que se obtiene es escasa. En cada tubo se impregnaron mínimo 2 papeles absorbentes, cada uno con una capacidad de absorber entre 5 y 10 microlitros de sangre, por tanto, cada muestra contenía entre 10 y 20 microlitros de sangre. Debemos

tener en cuenta que las muestras que salieron positivas fueron todas de punción venosa, que consigue más cantidad de sangre que por punción de pulpejo de dedo.

Como aspectos positivos en la realización del estudio, es importante comentar el entrenamiento del personal local en diversos métodos de procesamiento de muestras para extracción de ácidos nucleicos y diseño experimental para la aplicación de herramientas alternativas al diagnóstico con RDTs.

Las **limitaciones** de este trabajo son principalmente derivadas del modelo de desarrollo del estudio, en el que el muestreo y la toma de datos se realizó en el transcurso de una campaña de cooperación internacional. En este sentido, tanto la disposición de medios, como la restricción de tiempo, condicionaron el tamaño muestral y los procedimientos de laboratorio. Además, a pesar de que se utiliza el inglés (lengua oficial en Kenia) en consulta y en documentos, muchos pacientes sólo hablan turkana o suajili y es imprescindible la intervención de intérpretes locales, con el sesgo y el enlentecimiento que eso genera. Por otra parte, para revisar la pauta de tratamiento de los pacientes, hay que consultar la historia en papel manuscrito, pues no tienen registro informático. Y el acceso a esas carpetas necesariamente pasa por la administración del centro.

Teniendo en cuenta estos resultados, pensamos que la prevención de la enfermedad es tan importante como la detección precoz y el tratamiento de esta. Es uno de los objetivos de la guía *The Strategic Plan for Control of Leishmaniasis 2021- 2025* [1]. A pesar de los medios disponibles en Turkana, seguir formando al personal local y dotar de medios para el diagnóstico y correcto manejo de los casos es crucial para poder llevar a cabo las pruebas diagnósticas desde la aparición de los primeros síntomas, utilizando la PCR para los casos dudosos o con síntomas compatibles con otras enfermedades que debuten con clínica similar (como la malaria) que den RDTs negativos o dudosos.

## 6. CONCLUSIONES

La Leishmaniasis visceral constituye un problema importante en Turkana, que se ha puesto en evidencia tras la declaración por la OMS como enfermedad Tropical Desatendida.

La enfermedad afecta en mayor medida a los hombres con un nivel socioeconómico bajo, que viven en entornos rurales próximos a ríos o lagos, y que no utilizan medidas de protección contra insectos.

La fiebre de más de 2 semanas de duración es el síntoma principal de sospecha, y solo se acompaña de esplenomegalia en el 57% de los casos.

El uso de la técnica de PCR para confirmación del diagnóstico establecido por RDT, debe aplicarse siempre antes de la instauración del tratamiento de la enfermedad.

Necesitamos ampliar el estudio tomando las muestras en el momento del diagnóstico, simultáneamente a la realización de la RDT para tener una valoración más firme de la validez o no de la técnica propuesta.

El método de extracción de ADN con el que hemos conseguido mayores concentraciones de material genético es Qiagen, por lo que en sucesivas muestras se comenzará a trabajar con este método directamente.

## 7. BIBLIOGRAFÍA

1. Ministry of Health. Republic of Kenia. The Strategic Plan for Control of Leishmaniasis 2021-2025. Disponible en: <https://www.health.go.ke/wp-content/uploads/2021/07/KSPC-OF-LEISHMANIASIS-STRATEGY-2021-2025.pdf>
2. Kaiming Bi, Yuyang Chen, Songnian Zhao, Yan Kuang, and Chih-Hang John Wu. Current Visceral Leishmaniasis Research: A Research Review to Inspire Future Study. 2018. <https://doi.org/10.1155/2018/9872095>
3. Manual MSD versión para público general. 2022. *Imagen: Ciclo de vida de Leishmania - Manual MSD versión para público general.* [online] Disponible en: <[https://www.msdmanuals.com/es/hogar/multimedia/image/v14456928\\_es](https://www.msdmanuals.com/es/hogar/multimedia/image/v14456928_es)> [Visitado 13 mayo 2022].
4. WHO. The use of Visceral Leishmaniasis Rapid Diagnostic Tests (2008). Disponible en: The use of visceral leishmaniasis rapid diagnostic tests (who.int)
5. Aruleba RT, Carter KC, Brombacher F, Hurdalay R. Can We Harness Immune Responses to Improve Drug Treatment in Leishmaniasis? *Microorganisms*. 2020 Jul 17;8(7):1069. doi: 10.3390/microorganisms8071069. PMID: 32709117; PMCID: PMC7409143.
6. Tamiru A, Mohammed R, Atnafu S, Medhin G, Hailu A. Efficacy and safety of a combined treatment of sodium stibogluconate at 20mg/kg/day with upper maximum daily dose limit of 850mg and Paromomycin 15mg/kg/day in HIV negative visceral leishmaniasis patients. A retrospective study, northwest Ethiopia. *PLoS Negl Trop Dis*. 2021 Aug 31;15(8):e0009713. doi: 10.1371/journal.pntd.0009713. PMID: 34464401; PMCID: PMC8437273.
7. Musa A, Khalil E, Hailu A, Olobo J, Balasegaram M, Omollo R, Edwards T, Rashid J, Mbui J, Musa B, Abuzaid AA, Ahmed O, Fadlalla A, El-Hassan A, Mueller M, Mucee G, Njoroge S, Manduku V, Mutuma G, Apadet L, Lodenyo H, Mutea D, Kirigi G, Yifru S, Mengistu G, Hurissa Z, Hailu W, Weldegebreal T, Tafes H, Mekonnen Y, Makonnen E, Ndegwa S, Sagaki P, Kimutai R, Kesusu J, Owiti R, Ellis S, Wasunna M. Sodium stibogluconate (SSG) & paromomycin combination

- compared to SSG for visceral leishmaniasis in East Africa: a randomised controlled trial. *PLoS Negl Trop Dis.* 2012;6(6):e1674. doi: 10.1371/journal.pntd.0001674. Epub 2012 Jun 19. PMID: 22724029; PMCID: PMC3378617.
8. Hailu A, et al. Leishmaniasis East Africa Platform (LEAP) group. Geographical variation in the response of visceral leishmaniasis to paromomycin in East Africa: a multicentre, open-label, randomized trial. *PLoS Negl Trop Dis.* 2010 Oct 26;4(10):e709. doi: 10.1371/journal.pntd.0000709. PMID: 21049059; PMCID: PMC2964287.
  9. Verrest L, Wasunna M, Kokwaro G, Aman R, Musa AM, Khalil EAG, Mudawi M, Younis BM, Hailu A, Hurissa Z, Hailu W, Tesfaye S, Makonnen E, Mekonnen Y, Huitema ADR, Beijnen JH, Kshirsagar SA, Chakravarty J, Rai M, Sundar S, Alves F, Dorlo TPC. Geographical Variability in Paromomycin Pharmacokinetics Does Not Explain Efficacy Differences between Eastern African and Indian Visceral Leishmaniasis Patients. *Clin Pharmacokinet.* 2021 Nov;60(11):1463-1473. doi: 10.1007/s40262-021-01036-8. Epub 2021 Jun 9. PMID: 34105063; PMCID: PMC8585822.
  10. van Griensven J, Diro E. Visceral Leishmaniasis: Recent Advances in Diagnostics and Treatment Regimens. *Infect Dis Clin North Am.* 2019 Mar;33(1):79-99. doi: 10.1016/j.idc.2018.10.005. PMID: 30712769.
  11. Inicio - Cirugía en Turkana. (2022). Visitado 13 Mayo 2022, disponible en: <https://www.cirugiaenturkana.com/>
  12. WHO. Global vector control response 2017-2030. Disponible en: [Global vector control response 2017–2030 \(who.int\)](https://www.who.int/publications/m/item/global-vector-control-response-2017-2030)
  13. World Health Organization. Control of the leishmaniasis. *World Health Organ Tech Rep Ser.* 2010; (949):22-26. doi:10.1038/nrmicro1766.
  14. Nuzum, E., White, F., Thakur, C., Dietze, R., Wages, J., Grogl, M., & Berman, J. (1995). Diagnosis of Symptomatic Visceral Leishmaniasis by Use of the Polymerase Chain Reaction on Patient

Blood. The Journal of Infectious Diseases, 171(3), 751–754.

<http://www.jstor.org/stable/30134860>

15. Conter, C.C., Lonardoni, M.V.C., Aristides, S.M.A. et al. New primers for the detection Leishmania species by multiplex polymerase chain reaction. *Parasitol Res* 117, 501–511 (2018). <https://doi.org/10.1007/s00436-017-5726-1>
16. Spanakos G, Piperaki ET, Menounos PG, Tegos N, Flemetakis A, Vakalis NC. Detection and species identification of Old World Leishmania in clinical samples using a PCR-based method. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 2008 Jan;102(1):46-53. doi: 10.1016/j.trstmh.2007.05.019. Epub 2007 Jul 31. PMID: 17669452.
17. Odiwuor SO, Saad AA, De Doncker S, Maes I, Laurent T, El Safi S, Mbuchi M, Büscher P, Dujardin JC, Van der Auwera G. Universal PCR assays for the differential detection of all Old World Leishmania species. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2011 Feb;30(2):209-18. doi: 10.1007/s10096-010-1071-3. Epub 2010 Oct 9. PMID: 20936316.
18. Verrest L, Kip AE, Musa AM, et al. Blood Parasite Load as an Early Marker to Predict Treatment Response in Visceral Leishmaniasis in Eastern Africa. *Clin Infect Dis.* 2021;73(5):775-782. doi:10.1093/cid/ciab124
19. Bel Hadj Ali I, Chouaieb H, Saadi Ben Aoun Y, Harigua-Souiai E, Souguir H, Yaacoub A, et al. (2021) Dipeptidyl peptidase III as a DNA marker to investigate epidemiology and taxonomy of Old World Leishmania species. *PLoS Negl Trop Dis* 15(7): e0009530. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0009530>
20. Kip AE, Wasunna M, Alves F, Schellens JHM, Beijnen JH, Musa AM, Khalil EAG, Dorlo TPC. Macrophage Activation Marker Neopterin: A Candidate Biomarker for Treatment Response and Relapse in Visceral Leishmaniasis. *Front Cell Infect Microbiol.* 2018 Jun 1;8:181. doi: 10.3389/fcimb.2018.00181. PMID: 29911074; PMCID: PMC5992270.

## 8. AGRADECIMIENTOS

En primer lugar, a María Francisca Colom, por ser de las profesoras que marcan tu paso por la Universidad, por haber llevado a cabo tantas actividades juntas. Gracias también a mis compañeros del laboratorio de Micología de la UMH, con los que he podido compartir horas de trabajo, pero también buenos momentos fuera de la Universidad.

En segundo lugar, este trabajo ha sido posible gracias a la financiación del proyecto de Cooperación para el Desarrollo Sostenible de la UMH y la Generalitat Valenciana: MEJORA DE LA SALUD DEL PUEBLO TURKANA MEDIANTE LA PREVENCIÓN Y EL TRATAMIENTO DE LAS ENFERMEDADES TROPICALES DESATENDIDAS.

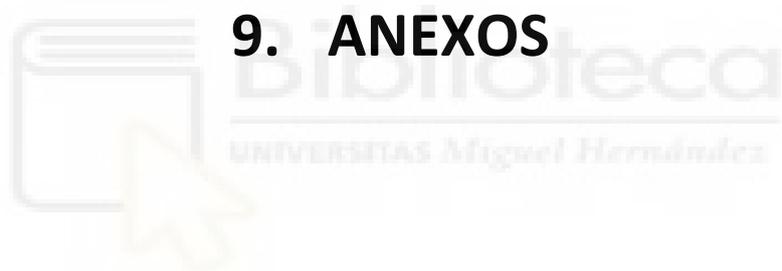
Además, se me concedió una Beca de Colaboración para la iniciación a la investigación del Ministerio de Educación (becas PAFI), con la que empecé a trabajar en el curso 2020-2021.

En tercer lugar, agradecer a Carmen Hernández y a todos los profesionales de Cirugía en Turkana, por apostar por la Cooperación entre los más jóvenes y por darme la oportunidad de asistir a la XVIII campaña (12-26 febrero 2022). Por darme la oportunidad de vivir una experiencia de Cooperación tan enriquecedora, algo que llevaba deseando hacer desde antes de empezar la carrera.

Agradecer a John Ekai, técnico de laboratorio del hospital de Lodwar, quien lleva años colaborando con Kika y sus proyectos. Fue fundamental para recoger las muestras no solo de este hospital, sino también de otras regiones del condado. Y no solo de este proyecto, sino también de cualquier cosa que necesitáramos en el laboratorio. Agradecer también a Jimmy, Mary Ugutu- responsable de Salud Pública- y al resto de técnicos del laboratorio por permitirnos trabajar con ellos. Gracias a los pacientes, familiares de pacientes y, cualquier persona que se prestó a ayudarme para traducirme al turkana.

Gracias a Gisela Fernández-Pretel, por capturar algunos de los momentos de la campaña y compartirlos con nosotros.

Finalmente, gracias a mis padres, por el apoyo no solo durante esta experiencia, sino siempre.



## **9. ANEXOS**

## Anexo 1. Validación del comité de ética.



Dra. Dña. M<sup>a</sup> Francisca Colom Valiente  
Dpto. de Producción Vegetal y Microbiología

Investigador/a	M <sup>a</sup> Francisca Colom Valiente	
Tipo de actividad	Otros	Proyecto de colaboración para el desarrollo sostenible
Título del proyecto	ENFERMEDADES TROPICALES DESATENDIDAS EN TURKANA: Estudio de la situación epidemiológica. Formación y capacitación para la prevención el diagnóstico y el tratamiento de las mismas.	
Códigos GIS estancias donde se desarrolla la actividad	S02P1072, S02P1073. La mayor parte se realiza en el Condado de Turkana (Kenia), en el Hospital de referencia del condado en Lodwar y en los puestos de salud de los subcondados	
Evaluación riesgos laborales	Conforme condicionado	
Evaluación ética uso muestras biológicas humanas	No solicitado	
Evaluación ética humanos	Favorable (Aprobado por el CEIm del Departamento de Salud de Alicante- Hospital General)	
Evaluación ética animales	No solicitado	
Registro	Expte. 2020/32348	
Referencia	DPV.MCV.01.20	
Caducidad	5 años	

Se considera que el presente proyecto carece de riesgos laborales significativos para las personas que participan en el mismo, ya sean de la UMH o de otras organizaciones.

No se ha evaluado el uso de muestras biológicas humanas porque no se ha solicitado, ni se ha considerado necesario en base a la información aportada.

No se ha evaluado el uso de animales en un proyecto de investigación porque no se ha solicitado, ni se ha considerado necesario en base a la información aportada.

La evaluación de la participación de voluntarios humanos en un proyecto de investigación, desde el punto de vista ético, ha sido evaluado por el CEIm del Departamento de Salud de Alicante- Hospital General), siendo este favorable.

Por todo lo anterior, el dictamen del OEP es **favorable**.

Atentamente,

ALBERTO|  
PASTOR|  
CAMPOS

Alberto Pastor Campos  
Secretario del Órgano Evaluador de Proyectos  
Vicerrectorado de Investigación

DOMINGO  
LUIS|OROZCO|  
BELTRAN

Domingo L. Orozco Beltrán  
Presidente del Órgano Evaluador de Proyectos  
Vicerrectorado de Investigación

Página 1 de 2

Órgano Evaluador de Proyectos  
VICERECTORADO DE INVESTIGACIÓN  
UNIVERSIDAD MIGUEL HERNÁNDEZ DE ELCHE



Código Seguro de Verificación(CSV): UMHF5T2t7m09rL21z2zwpvjK  
Copia auténtica de documento firmado digitalmente. Puede verificar su integridad en <https://sede.umh.es/csv>  
Firmado por ALBERTO PASTOR CAMPOS el día 2020-09-10  
Firmado por DOMINGO LUIS OROZCO BELTRAN el día 2020-09-10

## Anexo 2. Consentimiento Informado



**RESEARCH PROJECT NTDs IN TURKANA**  
Universidad Miguel Hernández – Lodwar County and Referral Hospital  
Cirugía en Turkana  
MF. Colom – UMH-ISABIAL (Principal Investigator)  
J. Loree (LCRH) – C. Hernández (UCM – Cirugía en Turkana)

### INFORMED CONSENT

for the participation in the research project NTDs in Turkana

I, ..... a ..... year-old  
patient with address at .....  
and identification card number (if any) .....

#### DECLARE:

That the doctor ....., have explained to me  
about:

#### 1.- Procedure identification, description and objectives.

The medical team of Lodwar Hospital together with experts from the University Miguel Hernández and the surgical team of *Cirugía en Turkana* (both Spanish), are conducting a research study on three of the Neglected Tropical Diseases (NTDs) more prevalent in Turkana: Mycetoma, which consists of a skin infection that progresses slowly until generating disability; Kala azar, which is an infection transmitted by the bite of mosquitoes that inoculate a protozoan called Leishmania that generates fever and serious deterioration and that without treatment has a very high mortality; and snakebites that also cause death and disability in Turkana County. In order to detect and identify the microorganisms involved in the infection, some samples and images of the lesions should be taken. The analysis of these samples will lead to establish measures for adequate treatment and prevention of the disease. Apart from the samples and images, it would also be necessary to collect personal and clinical data.

#### 2.- Benefits expected to be achieved

I will not receive any financial compensation but may be treated and cared to prevent recurrence. Also, if the research is successful, my contribution will help other Turkana people to avoid this disease or get adequate treatment for it.

#### 3.- Reasonable alternatives

The decision to allow the analysis of my data is totally voluntary, can deny me and even can revoke my consent at any time, without having to give any explanation.

#### 4.-foreseeable consequences of its realization and the non-realization

If I decide freely and voluntarily allow the evaluation of my data, I shall be entitled to be informed of the results of the investigation.

#### 5.- Frequent and uncommon risks

Assessing my clinical, demographic and background data will never pose an additional risk to my health.

#### 6.-Risks and consequences depending on the personal clinical situation of the patient and his personal or professional circumstances

To obtain valid samples for the study, sometimes an aggressive procedure has to be performed removing a small part of skin and subcutaneous tissue. In other cases, a vein puncture is necessary to obtain blood. Worsening the situation of the lesions as well as pain will be avoided at all time.

#### 7.-Protection of personal data and confidentiality.

Information about my personal data and health as well as the images of my lesions, will be incorporated and treated in a computerized database in compliance with the guarantees established by the law on the protection of personal data and the health legislation of Spain and

NTDsICV1-04052020



**RESEARCH PROJECT NTDs IN TURKANA**

Universidad Miguel Hernández – Lodwar County and Referral Hospital  
Cirugía en Turkana

MF. Colom – UMH-ISABIAL (Principal Investigator)  
J. Loree (LCRH) – C. Hernández (UCM – Cirugía en Turkana)

the European Union (law Organic 3/2018, of 5 December). The transfer to other research centers of the information contained in the databases and concerning my state of health will be made by means of an identification code that prevents that I can be identified directly or indirectly. If I decide to revoke the consent I now make, my data will not be used in any investigation after the date I have withdrawn my consent, although the data obtained up to that time will continue to be part of the investigation.

**I understand that:**

My choice is voluntary, and I can revoke my consent at any time, without having to give explanations and without this impact in my medical care.

I give my consent to the research team of the NTDs project in Turkana, to use my data for medical research, always keeping my anonymity and the confidentiality of my data.

The information and this document have been provided to me sufficiently in advance to reflect calmly and make my decision freely and responsibly.

I have understood the explanations that I have been given in a clear and simple language and the health professional who has attended me has allowed me to make all the comments and clarified all the doubts I have raised.

Comments: .....

Therefore, I am satisfied with the information received and, in such condition, I agree, and I **allow the use of my clinical and demographic data for research.**

Turkana, ....., 20.. ,

Signature of the patient  
(or fingerprint)

Signature of the translator

Signature of the doctor

Signed: .....  
(Complete name)

Signed: .....  
(complete name)

Signed: .....  
(complete name)

Project carried out by the Miguel Hernández University, in collaboration with the Turkana County Reference Hospital in Lodwar and by the humanitarian medicine team Surgery in Turkana, under the direction of Dr. María Francisca Colom Valiente, Professor of Microbiology and director of the research group in Applied Biomedicine of the Alicante Institute of Health and Biomedical Research (UMH-ISABIAL). Responsible of Turkana Team: J. Loree (Turkana Neglected Tropical Diseases); Responsible of *Cirugía en Turkana* Surgery Team: Carmen Hernández (Professor at Universidad Complutense de Madrid).

NTDsICV1-04052020



**RESEARCH PROJECT NTDs IN TURKANA**

Universidad Miguel Hernández – Lodwar County and Referral Hospital  
Cirugía en Turkana  
MF. Colom – UMH-ISABIAL (Principal Investigator)  
J. Loree (LCRH) – C. Hernández (UCM – Cirugía en Turkana)

**WITHDRAWAL OF CONSENT FOR RESEARCH**

I, ..... as patient (or representing the patient: .....) of ..... years of age, domiciled in ..... ID N°..... I revoke the consent provided on a date..... that I give with this date ended, without having to give explanations and without this impact in my medical care.

Turkana, ....., ....., 202... ,

Signature of the patient (or fingerprint)      Signature of the translator      Signature of the doctor

Signed: ..... (Complete name)      Signed: ..... (complete name)      Signed: ..... (complete name)

Project carried out by the Miguel Hernández University, in collaboration with the Turkana County Referral Hospital in Lodwar and by the humanitarian medicine team Surgery in Turkana, under the direction of Dr. María Francisca Colom Valiente, Professor of Microbiology and director of the research group in Applied Biomedicine of the Alicante Institute of Health and Biomedical Research (UMH-ISABIAL). Responsible of Turkana Team: J. Loree (Turkana Neglected Tropical Diseases); Responsible of *Cirugía en Turkana* Surgery Team: Carmen Hernández (Professor at Universidad Complutense de Madrid).

NTDsICV1-04052020

### Anexo 3. Formulario de recogida de datos



**RESEARCH PROJECT NTDs IN TURKANA**  
*Mycetoma, Kala azar and Snakebites*  
 University Miguel Hernández + Lodwar County & Referral Hospital  
*Cirugía in Turkana*

**PATIENT DATA SHEET**

**INSTRUCCIONES**

Once the informed consent is signed, the patient will be assigned a number that will be the result of adding to the campaign code (T2020), three digits correlatively and ascending, starting with 001. Thus, for example, the first patient included in the study in the 2021 campaign is K2021/001. The microbiology team will keep the list with the identification of each patient, but only the patient code will be shown on the data collection sheet as the only identifier.

PATIENT NUMBER

SEX: Male Female

K	2	0	2	-			
---	---	---	---	---	--	--	--

AGE (years)

DATE OF THE SAMPLE TAKING (dd/mm/yyyy)

				-		-				
--	--	--	--	---	--	---	--	--	--	--

PLACE OF RESIDENCE (locality / province / country):

FROM YEAR:

LOCATION OF THE HOUSE:  URBAN (City)  RURAL (Village)  RURAL (apart)

WATER IN THE PROXIMITY:  NO  YES River..... Lake..... Other:

USE OF MOSQUITO REPELENTS:  NO  OCCASIONALLY  FREQUENTLY  ALWAYS (DAILY)

USE OF MOSQUITO NET FOR BED:  NO  YES  ONLY OCCASIONALLY

PROFESSION/ SPECIAL RISK ACTIVITIES (Agricultural activity, shepherd, construction, firewood management, wood industry...):

TRAVELS OUTSIDE TURKANA COUNTY?  YES

NO

If yes, PLACE:

YEAR:

NTDKv1 03/05/2020



**RESEARCH PROJECT NTDs IN TURKANA**  
*Mycetoma, Kala azar and Snakebites*  
 University Miguel Hernández + Lodwar County & Referral Hospital  
*Cirugía in Turkana*

VL DIAGNOSIS (check all that apply):

1. Symptoms (tick all that apply):

Fever	Number of days	Temperature:
Headache	Epistaxis	Jaundice
vomiting	Anorexia	Poor appetite
Abdominal pain	Splenomegaly	Hepatomegaly
weight loss	Specify:	Kilograms/pounds
weakness	Bleeding	

2. Estimated time of evolution of the situation:

3. Any other previous disease:

Diagnosed as:

Described as:

When:                      For how long:

Treatment: specify drug, dose, and duration:

.....

If surgical treatment, specify the area:

.....

4. Any other family/group member with the same problem?  YES  NO

If YES, how many? ..... Do they live together in a daily basis?  YES  NO

SAMPLE FOR DIAGNOSIS (Check all that apply):

1. Kind of sample:

Blood     Surgical sample     other (specify).....

2. Collected by:

Vein puncture     Aspirate     Biopsy

other (specify).....

DATA COLLECTED BY: .....

Signature

NTDKv1 03/05/2020