



VNiVERSiDAD D SALAMANCA

E. U. de Enfermería y Fisioterapia

Grado en Enfermería

TRABAJO FIN DE GRADO

Proyecto de investigación

Aplicabilidad del test rápido y de las pruebas serológicas en el control del progreso de la oncocercosis y la filariasis linfática en la región continental de Guinea Ecuatorial.

M^a Belén García Fernández

Tutor: José Ignacio Recio Rodríguez

Co-tutora: Zaida Herrador Ortiz

Salamanca, 15 de enero de 2018

ÍNDICE

1. RESUMEN	5
2. INTRODUCCIÓN	6
3. OBJETIVOS	13
3.1 Objetivo general	13
3.2 Objetivos específicos	13
4. MATERIAL Y MÉTODO	13
4.1 Diseño del estudio	13
4.2 Área de estudio.....	13
4.3 Población de referencia	14
4.4 Cálculo de la muestra y estrategia muestral	14
4.6. Criterios de inclusión y exclusión	16
4.7. Recogida de información	16
4.7.1. Cuestionarios.....	16
4.7.2. Toma de muestras	17
4.8. Recopilación y digitalización de datos.....	19
4.9. Análisis de datos	19
4.10. Análisis de laboratorio	20
4.10.1. ELISA “in house”	20
4.10.2. Identificación de especies de filarias.....	21
4.11. Aspectos éticos.....	21
5. PLAN DE TRABAJO	22
5.1. Procedimiento Operativo Estándar (POE)	22
5.2. Preparación logística	22
5.3. Formación equipo encuestadores	23
5.4. Cronograma de trabajo.....	24
5.5. Aplicabilidad de los resultados	25
6. BIBLIOGRAFÍA	27
7. ANEXOS	30
7.1. Cuestionario sociodemográfico básico	30
7.2. Cuestionario RAPLOA	32
7.3. Toma de muestra para test SD BIOLINE.....	33

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Ciclo vital <i>O. volvulus</i> en el vector y en el humano. Fuente: CDC (2).....	6
Figura 2. Ciclo vital <i>W. bancrofti</i> en el vector y en el humano. Fuente: CDC (7).....	8
Figura 3 Mapa de Guinea Ecuatorial. Fuente: Wikimedia Commons (13)	11
Figura 4. Diagrama de toma de muestras. Elaboración propia.	17
Figura 5 Muestras de sangre en papel Whatman. Elaboración propia.....	18
Figura 6. Pellizco cutáneo (skin snip). Fuente: CDC 2016.	18

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Población del distrito de Niefang, Guinea Ecuatorial.	14
Tabla 2. Calculo muestral para el distrito de Niefang, Guinea Ecuatorial.	15

ABREVIATURAS

APOC: Programa Africano para el Control de Oncocercosis.

CNM: Centro Nacional de Microbiología.

CNMT: Centro Nacional de Medicina Tropical.

DEC: Citrato de Dietilcarbamacina.

ECO: Enfermedad Cutánea por Oncocercosis.

EDSGE: Encuesta Demográfica y Salud Guinea Ecuatorial.

ESPEN: Proyecto Especial Ampliado de Eliminación de Enfermedades Tropicales Desatendidas en África.

ELISA: Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay.

ETD: Enfermedades Tropicales Desatendidas.

FL: Filariasis linfática.

ID: Identificación.

ISCIH: Instituto de Salud Carlos III.

MINSABS: Ministerio de Salud y Bienestar Social.

MF: Microfilarias.

OMS: Organización Mundial de la Salud.

OCP: Programa de Control de Oncocercosis.

PCR: Reacción en Cadena de la Polimerasa.

POE: Procedimiento Operativo Estándar.

RAPLOA: Procedimiento de Evaluación Rápida para Loiasis.

RDT: Diagnóstico por Test Rápido.

TIDC: Tratamiento con ivermectina dirigido por la comunidad.

1. RESUMEN

La oncocercosis y la filariasis linfática están catalogadas por la Organización Mundial de la Salud (OMS) como Enfermedades Tropicales Desatendidas (ETD) puesto que están asociadas a entornos de pobreza y causan discapacidad y deficiencias para toda la vida.

Estas enfermedades son endémicas en Guinea Ecuatorial. En 1987 el Programa Nacional de Oncocercosis y otras Filarias del Ministerio de Sanidad inició las actividades de control. A lo largo de estos años se realizó tratamiento comunitario con ivermectina y actividades de control vectorial que dieron como resultado la eliminación del vector *Simulium yahenese* en 2005.

En 2014 se realizó un estudio preliminar en la isla de Bioko en mayores de 5 años donde no se encontró ningún examen parasitológico positivo para microfilarias; por ello, en 2016 se llevó a cabo otro estudio para verificar la interrupción de la transmisión de la oncocercosis en la isla. Siguiendo las recomendaciones de la OMS para la eliminación de esta enfermedad, se realizó test rápido, ELISA y PCR. Los resultados obtenidos han sido esperanzadores, pues cumplen los criterios exigidos por la OMS. Para poder avanzar hacia el control de estas dos enfermedades en el país, es necesario conocer la situación actual en la región continental, por ello se plantea el estudio de aplicabilidad del test rápido y de las pruebas serológicas en la medición del progreso en el control de la oncocercosis y la filariasis linfática para lograr la eliminación de estas enfermedades en la región continental de Guinea Ecuatorial.

2. INTRODUCCIÓN

La oncocercosis, conocida también como ceguera de los ríos, es una enfermedad parasitaria, perteneciente al grupo de las ETD y causada por el nematodo filariásico *Onchocerca volvulus*. La transmisión se produce por la picadura de la mosca negra del género *Simulium spp.*, cuyas larvas se depositan en ríos rápidos, cerca de las aldeas, siendo esta característica uno de los principales factores de riesgo para sufrir la enfermedad.

El ciclo vital de la *Onchocerca volvulus* comienza cuando el simúlido ingiere las microfilarias (MF) procedentes de la piel de un paciente con oncocercosis a través de su picadura para alimentarse (Fig. 1). Estas larvas se transforman en formas infectivas dentro del vector. Tras ser inoculadas en un huésped humano a través de una nueva picadura, las MF se desarrollarán en filarias adultas en aproximadamente un año, estableciéndose en oncocercomas, nódulos fibrosos subcutáneos que habitualmente se asientan sobre prominencias óseas (1).

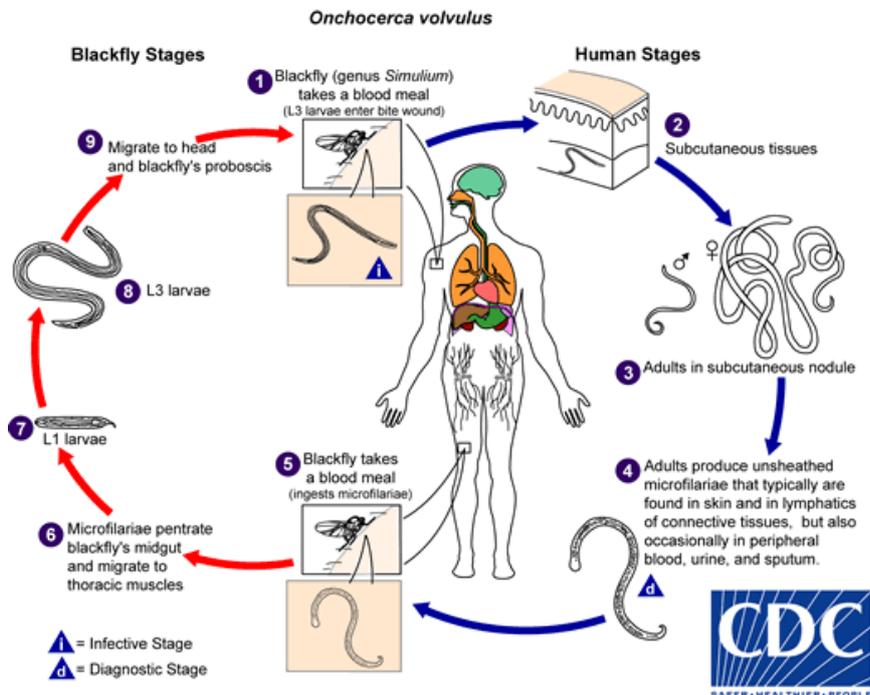


Figura 1. Ciclo vital *O. volvulus* en el vector y en el humano. Fuente: CDC (2)

La vida media del parásito adulto es de 9 a 14 años, siendo su vida reproductiva de entre 9-11 años. Cada gusano adulto es capaz de producir hasta 2000 MF por día, que migrarán a distintos órganos diana causando los síntomas típicos de esta enfermedad.

Las manifestaciones clínicas de la oncocercosis ocurren de 1 a 3 años después de la infección, cuando las filarias adultas comienzan a producir MF, las cuales tienen una vida media de entre 6 meses y 2 años. Las principales manifestaciones clínicas de la enfermedad incluyen la afectación ocular y ceguera, así como la enfermedad cutánea por oncocercosis (ECO) (3). Se considera que existen dos grandes formas bioclimáticas de oncocercosis: a) la oncocercosis de la sabana africana, con tasas de ceguera de hasta el 10-15%; b) la oncocercosis del bosque tropical, que genera un gran impacto en la salud pública de las poblaciones afectas por la aparición de la ECO, siendo causante de ceguera sólo en un 2% de la población (4).

Para el diagnóstico de oncocercosis, tradicionalmente se ha utilizado la palpación de nódulos junto con el método de detección de MF en biopsias de piel (“pellizco cutáneo” o “skin snip”). Debido a su escasa sensibilidad para detectar la enfermedad en fases precoces o en zonas de baja endemicidad, junto a su elevada invasividad, se está limitando su uso. Actualmente comienzan a ser más comunes otros métodos diagnósticos, como la detección serológica de anticuerpos mediante técnica ELISA, biología molecular por PCR y otras técnicas de detección rápida de antígeno, que presentan una mayor sensibilidad (5).

El tratamiento utilizado desde 1987 es la ivermectina (Mectizan®) que, aunque con efecto limitado al gusano adulto, reduce la carga de MF y tiene escasos efectos secundarios, al contrario que el citrato de dietilcarbamacina (DEC) que se usaba antiguamente (3). La dosis en adultos y niños mayores de cinco años es anual o semestral en dosis oral única de 150 µg/kg.

Se estima que 198 millones de personas viven en áreas a riesgo de padecer oncocercosis. La mayor carga de enfermedad se localiza en África subsahariana, donde residen más del 99% de las personas infectadas, concretamente en 31 países. Se pueden encontrar algunos focos en Latinoamérica y en Yemen (6).

Los programas de control en África se iniciaron en el año 1974 con el Programa de Lucha contra la Oncocercosis (OCP). En 1995 se creó el Programa Africano de Lucha contra la Oncocercosis (APOC), que reemplazó a OCP e incluyó otros países africanos no cubiertos por OCP. En el año 2015, el Proyecto Especial Ampliado de Eliminación de Enfermedades Tropicales Desatendidas en África (ESPEN), sustituye al programa APOC, con el objetivo de apoyar la lucha contra las ETD en varios

países prioritarios. Los tres programas dependen de la Oficina Regional de la OMS para África. Las actividades de control propuestas por los tres programas son básicamente las mismas: tratamiento comunitario con ivermectina y medidas de control vectorial (larvicidas aéreos y terrestres). En 2016, cerca de 133 millones de personas que viven en áreas con riesgo de oncocercosis recibieron tratamiento, en comparación con 46 millones en 2005 (6).

La Filariasis Linfática (FL), conocida también como elefantiasis, es una infección parasitaria producida por nematodos de la familia Filarioidea, distinguiéndose tres tipos: *Wuchereria bancrofti* (90% de los casos), *Brugia malayi* y *Brugia timor*. Los gusanos pueden dar lugar a una alteración del sistema linfático y a largo plazo desencadenar a linfedema crónico, crecimiento anormal de las partes del cuerpo, dolor, discapacidad grave, estigma y exclusión social.

La transmisión se produce a través de mosquitos de distintos géneros (*Culex*, *Anopheles* y *Aedes*). El gusano queda alojado en los vasos linfáticos (Fig. 2), puede llegar a vivir entre 6 a 8 años y durante su ciclo vital produce millones de MF, que circulan en sangre.

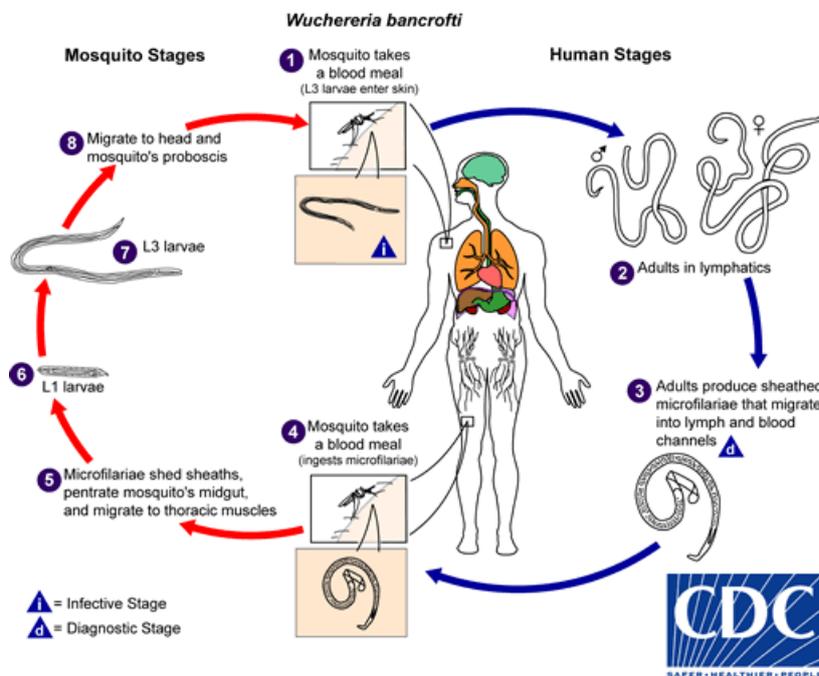


Figura 2. Ciclo vital *W. bancrofti* en el vector y en el humano. Fuente: CDC (7)

El diagnóstico recomendado por el Programa Global para Eliminar la FL es la detección de MF en frotis de sangre, recolectados a una hora específica según la

periodicidad de las MF. Para estudios de evaluación de mapeo, monitoreo y transmisión se recomienda una prueba de diagnóstico rápido Alere Filariasis Test Strip (FTS) para la detección del antígeno de *Wuchereria bancrofti* en muestras de sangre humana y por métodos de diagnóstico molecular de PCR. En la actualidad se está validando el uso de nuevas pruebas de diagnóstico rápido para la vigilancia posterior a la administración masiva de tratamiento (8).

El tratamiento recomendado por la OMS es la combinación de albendazol (400 mg) con ivermectina (150-200 mcg/kg) o con DEC (6 mg/kg) en dosis anual vía oral a la población a riesgo. La infección podría eliminarse repitiendo el tratamiento preventivo combinado durante cinco años (9).

Existen en la actualidad más de 856 millones de personas a riesgo de padecer filariasis linfática, repartidas en 52 países del mundo. Es una enfermedad debilitante con graves consecuencias económicas y sociales, pues afecta a muchos adultos jóvenes de ambos sexos en la fuerza de trabajo, y sus manifestaciones crónicas, originando graves minusvalías sociales a los enfermos (10).

Las actividades de control lideradas por la OMS se iniciaron en el año 2000 con el Programa Mundial para Eliminar la Filariasis Linfática (PMEFL), prolongando el plazo hasta 2020 para lograr su eliminación. La FL también está incluida en el proyecto ESPEN de lucha contra las ETD.

Una tercera Filariasis a tener en cuenta en aquellos países endémicos para oncocercosis y FL es la loasis. La loasis es una infección filariásica causada por el gusano *Loa loa* y transmitida al hombre por la picadura de tábanos del género *Chrysops*. Las MF maduran hasta gusano adulto y a través del tejido conjuntivo subdérmico del huésped, emigran provocando un prurito generalizado, edema y dolor. La infección tiene episodios donde la MF se localiza en la conjuntiva ocular y la reacción de hipersensibilidad al material antigénico da lugar a manifestaciones edematosas en miembros superiores e inferiores, conocidas como edema de Calabar.

En áreas que son potencialmente endémicas para *Loa loa*, es muy importante evaluar en la comunidad el nivel de endemidad de loiasis antes de iniciar tratamiento masivo con Ivermectina para la oncocercosis. DEC es el fármaco para el tratamiento de loiasis, que no se recomienda en zonas co-endémicas por el riesgo de reacción de

Mazzotti (muerte de las microfilarias). Cuando *O. volvulus* coexiste con *Loa loa* hay que ajustar las estrategias terapéuticas. Ocasionalmente, el tratamiento con ivermectina puede causar eventos adversos graves en personas con altos niveles de *Loa loa* en sangre. Para tratar dichos eventos en los países afectados es aconsejable seguir las recomendaciones del Comité de Expertos de Mectizan® /APOC.

LA ONCOCERCOSIS Y LA FILARIASIS LINFÁTICA EN GUINEA ECUATORIAL

La República de Guinea Ecuatorial es un país centroafricano situado en el golfo de Guinea, compuesto por un territorio continental y cinco islas habitadas. Su población, según el Instituto Nacional de Estadística, se estimaba en 1.222.442 habitantes en 2014. La parte continental del territorio es conocida como Río Muni o Mbini, y tiene un área de 26.000 km². Dentro de la parte insular, la isla más importante es la isla de Bioko, donde se sitúa la capital del país, Malabo. Administrativamente está dividido en siete provincias: Bioko Norte, Bioko Sur y Annobón en la región insular; Litoral, Centro Sur, Kie-Ntem y Wele-Nzas en la región continental (Fig. 3).

Guinea Ecuatorial fue colonia española hasta el 12 de octubre de 1968. El idioma oficial es el español, que se utiliza en las escuelas, institutos y universidades junto a otros dialectos: fang, bubí, pichi (inglés criollo). También tiene como idioma oficial el francés y desde 2010 incorporaron el portugués.

En cuanto al Índice de Desarrollo Humano (IDH), a pesar de ser un país en expansión económica por la explotación de petróleo, es un país de desarrollo medio, y ocupa la posición 138 de 188 países estudiados por el Programa de las Naciones Unidas para el Desarrollo (11). La esperanza de vida al nacer es de 57/60 años. Las principales causas de muerte en menores de 5 años son las infecciones respiratorias agudas, paludismo y prematuridad. El VIH, la tuberculosis y la malaria son las patologías con mayor mortalidad, siendo El VIH/SIDA el principal motivo de muerte en adultos, responsable del 14,8% de los fallecimientos (12).

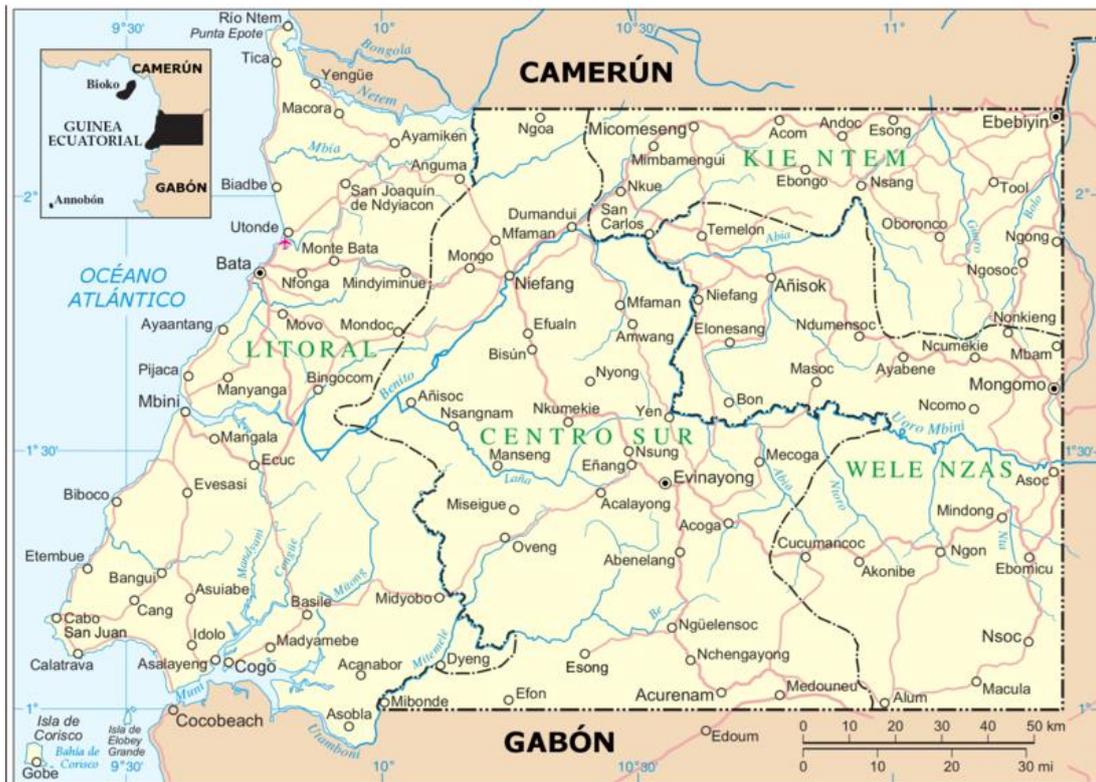


Figura 3 Mapa de Guinea Ecuatorial. Fuente: Wikimedia Commons (13)

El clima es ecuatorial con una temperatura que se mantiene alrededor de 25°C con escasa variación anual y una humedad relativa del 90% debido a las abundantes lluvias. En la región continental presenta dos estaciones secas (diciembre-febrero y julio-septiembre) y dos lluviosas (marzo-junio y septiembre-noviembre). Las precipitaciones más abundantes se producen de septiembre a diciembre, de 1.800 a 3.800 mm (14).

La oncocercosis y la FL son enfermedades endémicas en Guinea Ecuatorial. Las actividades de control en el país se iniciaron en 1987, obteniéndose grandes logros gracias al programa de tratamiento con ivermectina dirigido por la comunidad (TIDC), que fue implementado en 1995 por APOC. Las actividades de control vectorial que se llevaron a cabo entre el 2003 al 2005, dieron como resultado la eliminación del vector *Simulium yahense* en 2005 (15) (16) sin evidencia de reaparición de vector en los años siguientes.

En el año 2014, el Centro Nacional de Medicina Tropical (CNMT) del Instituto de Salud Carlos III (ISCIII), junto con el Ministerio de Sanidad y Bienestar Social de Guinea Ecuatorial (MINSABS) llevó a cabo un estudio preliminar en la isla de Bioko

en población mayor de 5 años. En este estudio, no se encontró ningún examen parasitológico positivo para MF en las 542 biopsias cutáneas analizadas. Dados los exitosos resultados, en el año 2016, el CNMT-ISCIH, en colaboración con el MINSABS y el patrocinio de la Task Force for Global Health, llevó a cabo un estudio para verificar la interrupción de la transmisión de la oncocercosis en la isla de Bioko. Siguiendo las recomendaciones de la OMS en la guía actualizada para la eliminación de esta enfermedad (OMS, 2016), se realizó test rápido, ELISA y PCR en una muestra representativa de población infantil. En este estudio se realizó también test rápido, ELISA y PCR para FL en los dos distritos insulares considerados co-endémicos (Riaba y Baney). Este estudio en humanos, se acompañó de un estudio entomológico, efectuando una campaña de búsqueda del vector en ríos centinela, dando como resultado la ausencia del vector, huevos y larvas. Los resultados obtenidos fueron esperanzadores, ya que cumplían los criterios exigidos por la OMS para detener TIDC y comenzar a hablar de eliminación de la oncocercosis en la isla de Bioko.

Estos últimos estudios están permitiendo avanzar rápidamente hacia la certificación de la eliminación en la isla de Bioko, mientras que sigue existiendo un importante déficit de información en la región continental de Guinea Ecuatorial. Para poder avanzar de forma global hacia el control de la oncocercosis y la FL en el país, es necesario conocer la situación actual en la región continental. En esta zona del país, el seguimiento de las actividades TIDC ha sido irregular, y la información epidemiológica existente se limita a zonas tradicionalmente consideradas como comunidades centinelas. Así mismo, se desconoce si existen simúlidos en esta región del país. Según el trazado integrado de ETD realizado por APOC en 2008, existen comunidades meso-hiperendémicas a oncocercosis en al menos tres de las cuatro provincias de la región continental, concretamente en las provincias de Centro Sur, Kié-Ntem y Wele-Nzas. Respecto a FL, se encontró una gran heterogeneidad en las prevalencias detectadas en los distintos distritos (17). Respecto a *Loa loa*, mientras que la zona insular se considera libre de esta enfermedad, la situación en el continente es variable según el distrito y el método diagnóstico empleado (18).

Aprovechando la existencia de nuevas herramientas diagnósticas con una alta sensibilidad, como son la aplicación conjunta del test rápido con las técnicas serológicas y moleculares, y la experiencia reciente del CNMT-ISCIH en la región

insular del país, nos proponemos extender de manera innovadora la experiencia a la región continental, comenzando por el distrito de Niefang, localizado en la provincia Centro Sur, donde se han identificado en el pasado varias comunidades hiperendémicas (17).

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo general

Conocer la situación actual de la oncocercosis y la filariasis linfática en la región continental de Guinea Ecuatorial, para seguir progresando hacia la eliminación de ambas enfermedades.

3.2 Objetivos específicos

- Estimar las prevalencias de oncocercosis y filariasis linfática en población mayor de 15 años a través de nuevas herramientas diagnósticas en el distrito de Niefang.
- Valorar la situación de co-endemicidad de oncocercosis, filariasis linfática y loa-loa en el distrito de Niefang.

4. MATERIAL Y MÉTODO

4.1 Diseño del estudio

El estudio que se propone con este trabajo es de carácter descriptivo y transversal.

4.2 Área de estudio

El área de estudio se sitúa en la región continental del país. Por motivos de operatividad y logística, este estudio se va a realizar por provincias, que a su vez están divididas en distritos. La provincia Centro Sur limita al norte con Camerún, al oeste con la provincia de Litoral, al noreste con la provincia de Kié-Ntem, al sureste con la provincia de Wele Nzás, y al sur con Gabón (Fig. 3). Esta provincia se divide a su vez en tres distritos, el distrito de Evinayong, el distrito de Akurenam y el distrito de Niefang. El presente estudio se llevará a cabo en un área hiperendémica, el distrito de Niefang, para en fases posteriores realizar el estudio en el resto de los distritos y provincias del país.

El distrito de Niefang está situado a 70 km de Bata (provincia Litoral y capital económica del país), y se encuentra atravesado por el río Benito. La capital del distrito, Sevilla de Niefang, es la segunda ciudad más importante de la provincia de Centro Sur (13).

4.3 Población de referencia

La población de Guinea Ecuatorial continúa presentando características de una estructura joven, cuya pirámide de edades tiene una base ensanchada y una cúspide fina, lo que confirma su elevada fecundidad y natalidad, así como una mortalidad bastante importante en edades tempranas (19).

La etnia principal de Guinea Ecuatorial son los Fangs, son los más numerosos, predominan en la región continental y se estructuran en familias, clanes y tribus. Otra etnia son los Bubis, que se encuentran en la isla de Bioko.

Según los datos del censo de 2015, la población de la región continental de Guinea Ecuatorial es de 749.529 habitantes, lo que representa el 74% de la población total del país. La población urbana representa el 31,8%, y la mayor parte se concentra en la provincia Litoral que alberga el 29,4% (19).

El distrito de Niefang tiene una población de 37.273 habitantes, según la encuesta de salud de 2011 (Tabla 1). El 88,5% de la población de este distrito vive en zonas rurales, repartida en 66 Consejos de Poblados (19).

TOTAL DISTRITO			URBANA			RURAL		
total	hombres	mujeres	total	hombres	mujeres	total	hombres	mujeres
37.273	18.251	19.022	4.292	2.079	2.213	32.981	16.172	16.809

Tabla 1. Población del distrito de Niefang, Guinea Ecuatorial.

4.4 Cálculo de la muestra y estrategia muestral

Para realizar el cálculo muestral, asumimos una prevalencia del 50%, ya que la prevalencia real de oncocercosis y FL en la región continental se desconoce. Se realiza un cálculo estratificado por zona de residencia (rural/urbana) por la importancia que puede tener el tipo de hábitat en el riesgo de padecer la enfermedad.

Asumiendo un nivel de confianza del 95%, una precisión absoluta del 5% y sumando un 20% de posibles pérdidas obtenemos cifras de 456 y 424 en zona rural y urbana, respectivamente, por lo que se incluirán en este estudio un total de 880 individuos (Tabla 2). La ecuación utilizada es la siguiente:

$$\text{Tamaño de la muestra } n = \frac{[EDFF * Np(1-p)]}{[(d2/Z21-\alpha/2*(N-1)+p*(1-p)]}$$

El cálculo se ha realizado utilizando el software gratuito online OpenEpi versión 3.1. (link: <http://www.openepi.com/SampleSize/SSPropor.htm>) (Tabla 2).

Zona	Tamaño población	Prevalencia esperada (%)	Nivel de confianza (%)	Precisión absoluta %	Tamaño de la muestra	Muestra +20% pérdidas
Rural	32.981	50	95	5	380	456
Urbana	4.292				353	424
Total	37.273				733	880

Tabla 2. Calculo muestral para el distrito de Niefang, Guinea Ecuatorial.

4.5. Estrategia de muestreo

Muestreo por conglomerados polietápico. Antes de iniciar el trabajo de campo, se contactará con los presidentes de los consejos de poblado para solicitarles listas actualizadas de la población de cada consejo.

1ª etapa: Se seleccionaran aleatoriamente 30 consejos de poblado (conglomerados) dentro del Distrito de Niefang. Esta selección aleatoria se hará ponderada por cercanía a ríos.

2ª etapa: Una vez tengamos las listas, se procederá a realizar una nueva selección mediante técnicas de muestreo aleatorio simple de individuos/hogares dentro de los consejos y comunidades. Se informara al presidente de cada comunidad de los resultados de la selección aleatoria para que informe a los cabezas de familia de las viviendas de las visitas/individuos seleccionados y/o su representante legal. Dentro de cada conglomerado o consejo se encuestarán 30 individuos. Se decidirá previamente si se realiza selección de hogares o de individuos (según la disponibilidad de listas).

4.6. Criterios de inclusión y exclusión

Criterios de inclusión

- Población mayor de 15 años.
- Cualquier grupo étnico.
- Residencia en la región continental de forma continuada durante al menos 3 años.

Criterios de exclusión

- Haber recibido tratamiento antiparasitario en el último año de acuerdo con el protocolo más reciente.
- Haber estado ausentes en periodos seguidos de más de 6 meses.

Dado que para la estimación de *Loa loa* se va a aplicar un método muy sencillo (RAPLOA, se describe en la siguiente sección), en esta sección no se desarrolla la metodología expresa para la detección de este parásito.

4.7. Recogida de información

4.7.1. Cuestionarios

La información sociodemográfica básica y antecedentes de interés (residencia habitual y toma de ivermectina) se recogerán mediante encuesta estandarizada y pilotada previamente para comprobar la validez y la aceptabilidad cultural (Anexo 1). Cuando sea necesario, los participantes serán entrevistados en sus idiomas locales por los encuestadores. Además se realizará el Procedimiento de Evaluación Rápida para Loiasis (RAPLOA), por medio de una encuesta; para identificar y calcular la prevalencia de *Loa loa* en los consejos de poblado. El método RAPLOA, desarrollado por OMS, se compone de tres estadios (20):

- Identificación de nombres locales para el gusano de *Loa loa* con un cuestionario a nivel comunitario;
- Recogida de información utilizando un cuestionario individual que tiene tres preguntas clave (Anexo 2);
- Cálculo del porcentaje de adultos que tienen antecedentes de gusano ocular y, a partir de este porcentaje, predicción del nivel de endemicidad de *Loa loa*.

Se recogerán las coordenadas geográficas de cada hogar (latitud y longitud) usando un sistema de posicionamiento (GPS) y procesando la información con el Google Earth y el software libre QGIS. Se utilizará la red hidrográfica nacional para analizar las condiciones ambientales en el área de estudio.

4.7.2. Toma de muestras

A) Test rápido: Se aplicará el diagnóstico por test rápido (RDT) SD BIOLINE® Biplex para oncocercosis y FL (Wb123/OV16 Biplex). Las muestras de sangre periférica para los test rápidos se obtendrán mediante punción digital previa desinfección de la zona. Se masajea el dedo medio, con la mano hacía abajo, se presiona en la base de la yema del dedo y se pincha con la lanceta. Se presiona hasta obtener una gota de sangre y depositar en el lugar indicado del test (Anexo 3).

B) Papel de filtro: Seguidamente, a los test que resulten positivos para oncocercosis y/o FL y al 10% de los negativos, se realizará una nueva punción digital (en una zona distinta a la original) con el fin de depositar 3 gotas en el papel de filtro (Whatman®) para la determinación de anticuerpos Ov16 mediante técnica ELISA y realización de estudio molecular.

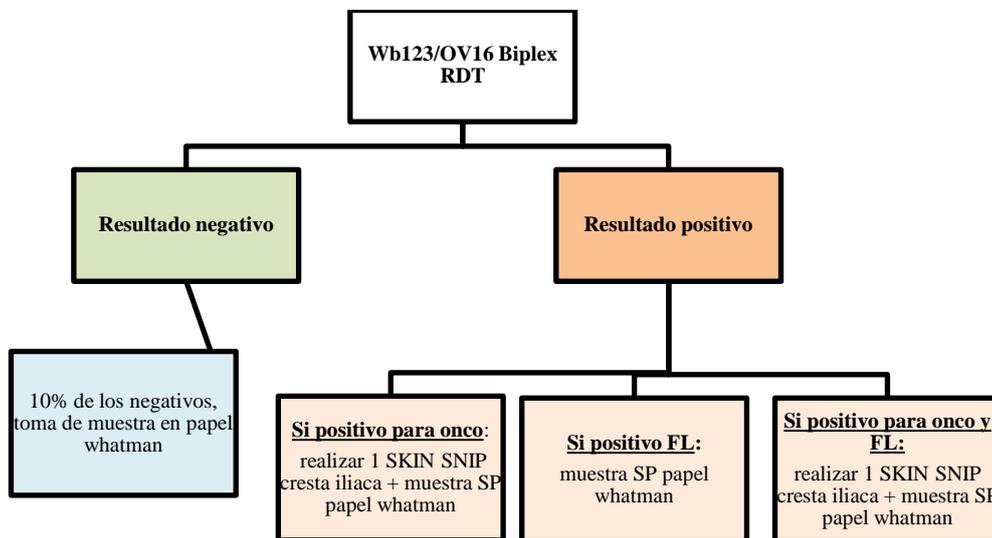


Figura 4. Diagrama de toma de muestras. Elaboración propia.

Se colocará el papel de filtro sobre el dedo que se ha pinchado y se tomarán 3 gotas (Fig. 5). En el papel, deberá verse la sangre por el lado contrario a donde se está

poniendo la sangre. Se anotará la fecha, y pondrá la pegatina con el código del paciente. Una vez seca la sangre se meterá en una bolsa de auto cierre con silicagel (gel de sílice) para evitar que, con la humedad, le salgan hongos a la muestra. Es importante que las muestras se mantengan a -20°C , si no fuera posible, se colocaran a 4°C hasta su traslado al Centro Nacional de Microbiología (CNM) en España.

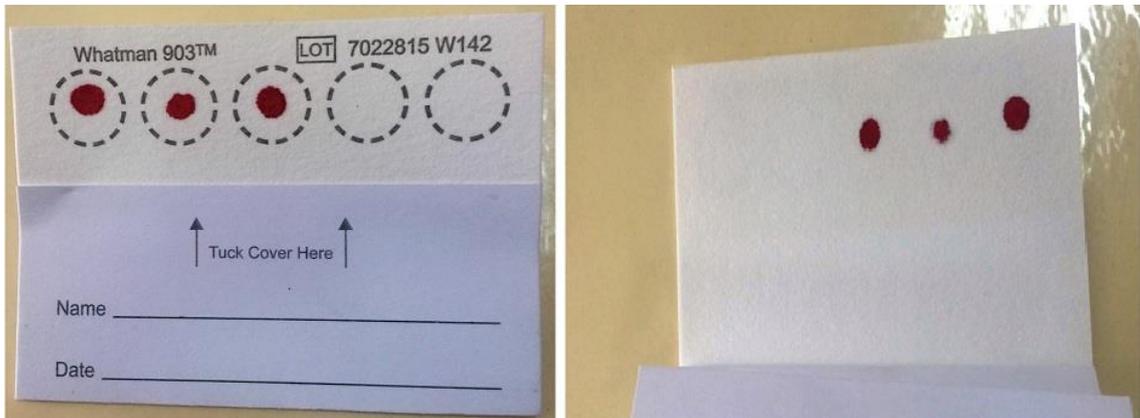


Figura 5 Muestras de sangre en papel Whatman. Elaboración propia.

En aquellos casos que el test rápido sea positivo para oncocercosis, se obtendrá además una muestra de piel a través de biopsia cutánea (*skin snip*) con pinzas Walser o con bisturí de una de las crestas iliacas del individuo (Fig. 6). La muestra de cada paciente será conservada en tubos de PCR con suero fisiológico, codificada con la pegatina correspondiente, cerrada con parafilm y conservada a una temperatura máxima de 4°C . Posteriormente serán enviadas al CNM para su análisis molecular.



Figura 6. Pellizco cutáneo (*skin snip*). Fuente: CDC 2016.

4.8. Recopilación y digitalización de datos

Los datos recogidos mediante el cuestionario individual y el resultado de laboratorio se asociarán utilizando una variable de código único (ID). A cada persona encuestada le corresponderá un código único compuesto por:

Cod.consejo (2 números) + cod.individuo (2 números)

Al día siguiente a la visita y toma de muestras, se procurará realizar la digitalización de los datos. Estos se introducirán en una base de datos a través de una máscara de entrada de datos creada específicamente para este fin. Para evitar errores se realizará doble digitación, se comprobará la información introducida en las bases de datos a través de la comparación de los ficheros al finalizar el día para garantizar la calidad de dichos datos.

Si no fuera posible hacer la digitación en terreno, se realizará en el CNMT-ISCIII una vez se envíen las encuestas desde Guinea Ecuatorial. En este caso, se irán previamente anotando los positivos en un formulario para poder dar un feed back rápido desde terreno.

4.9. Análisis de datos

Para el análisis descriptivo, se calcularán las frecuencias totales y las frecuencias de las variables dependientes según el resto de factores independientes. El resultado de la prevalencia se expresará en porcentaje (+/- IC95%). Las proporciones se compararán con la prueba estadística del chi cuadrado o del t-test y se establecerá un nivel significativo al 95% del nivel de confianza.

Si se considera necesario una vez realizado el análisis descriptivo, para controlar los factores de confusión y valorar posibles interacciones, se realizará análisis de regresión uni y multivariante, utilizando el software Stata 12® (Stata Corporation, College Station, Texas). Los resultados de este análisis se expresarán dando un valor de OR (odds de prevalencia), sus IC95% y el valor-p. Se incluirán en el modelo multivariante final todas aquellas variables que presenten $p \leq 0,100$ en el análisis univariante.

Según los resultados obtenidos, se valorará la realización de análisis espacial, introduciendo variables geográficas y climatológicas de interés.

4.10. Análisis de laboratorio

El análisis de las muestras se llevará a cabo en España, en el laboratorio del CNM del ISCIII por un equipo especializado en nematodos y utilizando técnicas moleculares. El CNM está designado como laboratorio de referencia, presta apoyo científico-técnico para la Administración General del Estado, Comunidades Autónomas y Sistema Nacional de Salud.

4.10.1. ELISA “in house”

En el laboratorio del CNM, las muestras de sangre serán eluidas del papel de filtro del siguiente modo. Cuatro “punchs” de 3 mm de diámetro con sangre saturada se colocaran en 200 μ L de tampón de dilución (solución salina tamponada con fosfato (PBS)-Tween 20 0,05%- leche 3% leche) y se dejarán durante toda la noche a 4° C en agitación. La sangre eluida será probada por duplicado en un ELISA estándar para detectar anticuerpos IgG4 contra el antígeno recombinante Ov16 (21). Las placas de poliestireno de 96 pocillos (Nunc MaxiSorp®, Dinamarca) se sensibilizarán con la proteína recombinante purificada Ov16 (0,5 μ g/ml; 100 μ L/pocillo) en tampón carbonato pH 9,6, durante toda la noche a 4° C. Al día siguiente, se lavarán las placas tres veces con PBS pH 7.4 Tween 20 0.05% (PBS-T) durante 1 hora a 37° C. Después, se agregarán las muestras de sangre diluida (100 μ L) por duplicado en los pocillos correspondientes.

Como control positivo utilizaremos “ELISA-positive Immunoglobulin ref. CAB11558 - IMMUNOGLOBULIN 250 UG y el anticuerpo recOVA16-GST, ref. AbD19432_hIgG4 suministrado por Bio-Rad AbD Serotec GmbH en acuerdo firmado entre Bio-Rad y PATH.

Se utilizará una curva estándar en cada placa para identificar muestras positivas y permitir comparaciones entre placas y días (21) (22). La curva estándar se preparará a partir de la sangre de un paciente de oncocercosis confirmado por manifestaciones clínicas y diagnóstico parasitológico. Las diluciones de la curva estándar (1/8 1/16 1/32, 1/64; 1/128) se prepararán a partir de la elución de la muestra de sangre colocada sobre un papel de filtro Whatman®. A cada una de estas diluciones se le

asignará un número de unidades arbitrarias. El punto de corte se fija en 40 unidades arbitrarias, correspondiente a la dilución 1/64.

4.10.2. Identificación de especies de filarias

La extracción de ADN de las biopsias de piel y de las muestras de sangre entera (200 µL) se realizará con el QIAamp® DNA mini kit (QIAGEN®, IZASA, Madrid), siguiendo las instrucciones del fabricante. La detección de filarias se realizará mediante una PCR a tiempo real, modificada de Tang y col. (2010) (23), mediante la temperatura de desnaturalización del fragmento amplificado.

La identificación de la especie de filaria infectante se determinará por el tamaño del fragmento amplificado en un sistema de electroforesis automática (QIAxcel, QIAGEN®, IZASA, Madrid) o de electroforesis convencional en geles de agarosa al 2% teñidos con safered (Pronadisa, Madrid). Este método permite diferenciar las especies más comunes de filarias (*O. volvulus*, *Loa loa*, *Mansonella spp.* y *W. bancrofti*) por el tamaño del fragmento de amplificación (23).

La confirmación de la especie de filaria se realizará secuenciando el fragmento amplificado usando el kit de secuenciación cíclica Big Dye Terminator v3.1 kit (Applied Biosystems, Massachusetts, EEUU) en un analizador de ADN ABI PRISM® 3700 (Applied Biosystems, Massachusetts, EEUU), previa purificación del producto utilizando el Illustra ADN y Gel Band Purification Kit (General Electric Healthcare, Little Chalfont, Reino Unido). Todos los productos amplificados serán secuenciados en ambas direcciones, dos veces.

4.11. Aspectos éticos

El estudio se presentará para su aprobación al MINSABS de Guinea Ecuatorial y al Comité de Bioética y Bienestar Animal del ISCIII en España.

Beneficios y riesgos de los participantes: aquellos participantes con test rápido positivo para oncocercosis y/o FL serán informados del resultado y se les administrará el tratamiento adecuado de acuerdo con las políticas nacionales, sin coste adicional, durante la visita a las comunidades.

Durante el estudio se asegurarán las condiciones de bioseguridad necesarias tanto para el personal como para las personas implicadas en el estudio. Las extracciones de

sangre conllevan los riesgos propios de una punción. Estos riesgos serán minimizados al ser realizados por profesionales sanitarios con experiencia en el entorno clínico apropiado.

Consentimiento informado y hoja de información al paciente: de acuerdo con la Ley 14/2007 se respetará la libre autonomía de las personas que participen en esta investigación biomédica y que puedan aportar sus muestras biológicas, para lo que se dará a cada participante en el estudio la información adecuada y se obtendrá consentimiento informado firmado por parte de los representantes legales (padres, madres o tutores) para así asegurar la protección de los derechos y el bienestar de los sujetos de la investigación. Este proceso ha de reunir tres características básicas: la información suficiente, su comprensión y la voluntariedad. Así mismo los participantes podrán retirarse del estudio en cualquier momento sin perjuicio alguno.

Confidencialidad de los datos: se asegurará la confidencialidad de los sujetos y la protección de los datos de acuerdo con las Leyes de protección de datos de España (Ley Orgánica 15/1999) y los acuerdos pertinentes con las autoridades sanitarias de Guinea Ecuatorial para garantizar el menor riesgo físico, psíquico y social de los participantes. Para asegurar la confidencialidad de los sujetos, los cuestionarios y las muestras biológicas se codificarán con un ID único que permita relacionar las mismas asegurando el anonimato de los pacientes.

5. PLAN DE TRABAJO

5.1. Procedimiento Operativo Estándar (POE)

Se elaborarán los POEs para la encuesta epidemiológica que versarán sobre el funcionamiento de los equipos de trabajo en el terreno. Se elaborarán cuatro POEs: 1) Estrategia muestral; 2) Trabajo de campo encuesta epidemiológica; 3) Toma de muestras y 4) Registro de coordenadas.

5.2. Preparación logística

Para la implementación del estudio se desplazará, un mes antes, un asistente técnico del CNMT-ISCIH para realizar la preparación logística en terreno.

- Se realizará el alquiler de una casa en Niefang para los asistentes técnicos de España y se acondicionará con el menaje mínimo y suficiente para la estancia.
- Retirada del material en el aeropuerto internacional de Malabo, revisión de los albaranes del transporte del material, a fin de comprobar que está todo completo. El material se trasladará a la región continental vía marítima, en ferry hasta el puerto de Bata y de ahí hasta el Hospital Distrital de Niefang, que será el lugar designado como punto técnico y logístico del estudio. Este hospital será el lugar de salida y regreso de los equipos de trabajo.
- Cadena de frío. Se contará con dos neveras portátiles para muestras biológicas, preparadas para su uso en vehículos. Al finalizar la jornada diaria, las neveras quedarán enchufadas a la red eléctrica del hospital de Niefang. Una vez finalizado el estudio, las muestras se enviarán al CNM-ISCIH por medio del servicio de paquetería internacional DHL, siguiendo el protocolo establecido para envío de muestras biológicas.
- Para el transporte diario de los equipos de trabajo, se utilizarán dos vehículos 4x4, uno del Programa Nacional de Lucha contra la Oncocercosis del MINSABS y otro del propio proyecto del CNMT-ISCIH.
- Obtención de credenciales, necesarias para poder realizar el trabajo de campo. Es la autorización por escrito del Ministro de Sanidad para realizar la actividad, se presentará en cada comunidad y siempre que sea requerida por los cuerpos de seguridad del país. También se procederá a la obtención de las listas de poblados del distrito de Niefang.

5.3. Formación equipo encuestadores

Se reclutarán y formarán equipos de encuestadores para la encuesta epidemiológica.

Se crearán dos equipos formados por un total de 8 miembros: 1 coordinador, 4 técnicos del Programa Nacional de Oncocercosis, 2 asistentes técnicos cooperantes, 1 chófer. Habrá un coordinador general del estudio que será el Director Nacional del Programa de Oncocercosis en el MINSABS de Guinea Ecuatorial.

Los técnicos estarán capacitados para realizar toma de muestras biológicas y cumplimentar diferentes cuestionarios. Se realizará un taller de formación de dos días para la capacitación y pilotaje de la encuesta. En el taller participarán todos los

miembros de los equipos, para garantizar que todos utilizan conceptos y procedimientos comunes.

5.4. Cronograma de trabajo

FECHA	ACTIVIDAD	REALIZACIÓN
Julio 2018	<ul style="list-style-type: none"> • Elaboración de POEs. • Movilización para reclutar al personal local. • Obtención y envío de material para el trabajo de campo. • Organización del curso de formación de técnicos locales. • Alojamiento preparado. • Comité ético. 	<p>GUINEA:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Planificación del trabajo compartida. • Autoridades locales informadas. • Personal técnico para la capacitación identificado y correctamente informado. • Listas de consejos de poblado. • Contrato alquiler vivienda. • Pasar comité ético. <p>MADRID</p> <ul style="list-style-type: none"> • Cronograma y planificación clarificada para iniciar capacitación y trabajo de campo en Septiembre/Octubre. • Elaborado checklist. • Material para capacitación de técnicos para trabajo de campo en desarrollo finalizado y facilitado. • POE elaborados. • Encuesta preparada. • Material comprado y enviado.
Agosto 2018	Recepción del material y organización de recursos en Guinea Ecuatorial.	GUINEA: Plan de trabajo en terreno y organización de recursos preparado para comenzar.
Sept. 2018	<ul style="list-style-type: none"> • Curso de formación de técnicos locales. • Obtención de censo de viviendas. • Solicitar credencial de trabajo de campo al MINSABS. • Comunicación con jefes de poblado, directores de escuelas y autoridades locales. • Pilotaje del proyecto. 	<p>GUINEA:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Curso de capacitación realizado. • Procedimientos estandarizados compartidos. • Listas de población y aleatorización. • Planificación y cronograma para trabajo de campo clarificado. • Credencial obtenida.
Oct. 2018 a Feb. 2019	Realización de la encuesta epidemiológica.	<p>GUINEA:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Toma de muestras biológicas realizada. • Georreferenciación realizada. • Envío de muestras a España

		realizada. MADRID: <ul style="list-style-type: none"> Supervisión de todo el proceso de recogida de información y derivación de muestras.
Feb./mar. 2019	Finalización recogida y cierre del trabajo de campo.	GUINEA: <ul style="list-style-type: none"> Cierre de proyecto en terreno. MADRID: <ul style="list-style-type: none"> Recepción de datos.
Abr./jun. 2019	<ul style="list-style-type: none"> Creación de la base de datos. Envío y análisis de las muestras al CNM. Digitalización y análisis de datos. 	MADRID: <ul style="list-style-type: none"> Base de datos generada. Encuestas grabadas. Bases depuradas. Análisis estadístico realizado. Resultados disponibles. Informe preliminar elaborado.
Jul. 2019	Elaboración de informe de resultados del estudio y conclusiones.	GUINEA/MADRID: Informe final elaborado.

5.5. Aplicabilidad de los resultados

A) Aplicabilidad clínica:

Los resultados obtenidos en el estudio servirán para conocer la aplicabilidad del test rápido y de las pruebas serológicas en la medición del progreso en el control de la oncocercosis y la filariasis linfática para lograr la eliminación de estas enfermedades en la región continental de Guinea Ecuatorial.

- Utilización de nuevas herramientas diagnosticas para mejorar el conocimiento de la epidemiología de estas enfermedades en Guinea Ecuatorial.
- Guinea Ecuatorial es un candidato importante para eliminar con éxito la infección en todo el país, en un futuro relativamente próximo.
- Este protocolo podrá aplicarse a otros distritos de Guinea Ecuatorial, así como a otros países vecinos para la lucha frente a la oncocercosis y otras filarias.
- A partir de los resultados obtenidos en este distrito, la siguiente fase será proponer intervenciones para el control integral y avance hacia la eliminación de la oncocercosis y filariasis linfática en la región continental de Guinea Ecuatorial.

B) Aplicabilidad bibliométrica:

En el campo del estudio de las publicaciones científicas:

- Contribuir al crecimiento de la documentación científica y a la utilización del conocimiento que se ha generado. Los resultados del estudio se publicarán en revistas científicas como PLoS Neglected Tropical Diseases, Parasites & Vectors, Acta Tropica, Tropical Medicine & International Health y The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene.
- Difundir la producción científica de estas técnicas innovadoras utilizadas en el estudio.
- Visibilizar el grupo de las Enfermedades Tropicales Desatendidas en el ámbito científico y en repositorios bibliográficos especializados.

C) Aplicabilidad en la profesión enfermera:

Los resultados pueden contribuir a mejorar la profesión enfermera por medio de la transferencia de conocimientos al personal de enfermería en Guinea Ecuatorial, incluyendo la implicación y el entrenamiento de los enfermeros locales en el desarrollo e implementación de un trabajo de investigación.

6. BIBLIOGRAFÍA

1. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). CDC Parasites. Onchocerciasis. [Online].; 2017 [cited 2017 Noviembre 02. Available from: <http://www.cdc.gov/parasites/onchocerciasis/>.
2. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). CDC Parasites. Onchocerciasis Life Cycle. [Online].; 2013 [cited 2017 Octubre 13. Available from: <https://www.cdc.gov/parasites/onchocerciasis/biology.html>.
3. Bari A, Rahman S. Onchocerciasis: A review of a filarial disease of significant importance for dermatologists and ophthalmologists. *J Pak Asso Dermatol*. 2007; 17(1).
4. Remme J. Research for control: the onchocerciasis experience. *Tropical Medicine & International Health*. 2004 Febrero; 9(2): p. 9(2):243-54.
5. Lloyd M, Gilbert R, Taha N, Weil G, Meite A, Kouakou I, et al. Lloyd MM, Gilbert R, Taha NT, Weil GJ, Meite A, Kouakou IMM, Conventional parasitology and DNA-based diagnostic methods for onchocerciasis elimination programmes. *Acta Trop*. 2015 Mar; 25;146:114–8.
6. Organización Mundial de la Salud (OMS). River blindness: shifting from prevention to surveillance and elimination. [Online].; 2017 [cited 2017 Noviembre 10. Available from: http://www.who.int/neglected_diseases/news/shifting_from_prevention_to_surveillance_elimination/en/.
7. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). CDC Parasites. Lymphatic filariasis, Life Cycle of *Wuchereria bancrofti*. [Online].; 2013 [cited 2017 Noviembre 01. Available from: https://www.cdc.gov/parasites/lymphaticfilariasis/biology_w_bancrofti.html.
8. Organización Mundial de la Salud (OMS). Diagnostic tests recommended for use in the Global Programme to Eliminate Lymphatic Filariasis. [Online].; 2017 [cited 2017 Noviembre 10. Available from:

- http://www.who.int/lymphatic_filariasis/epidemiology/epidemiology_diagnosis/en/.
9. Organización Mundial de la Salud (OMS). Filariasis linfática. [Online].; 2017 [cited 2017 Noviembre 11. Available from: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs102/es/>.
 10. Ottesen E, Hooper P, Bradley M, Biswas G. The global programme to eliminate lymphatic filariasis: health impact after 8 years. PLoS Negl Trop Dis. 2008 Feb; 10(e317).
 11. Programa de las Naciones Unidas para el Desarrollo (PNUD). PNUD, Guinea Ecuatorial. [Online].; 2015 [cited 2017 Noviembre 10. Available from: http://www.gq.undp.org/content/equatorial_guinea/es/home/countryinfo.html.
 12. Organización Mundial de la Salud (OMS). Perfil sanitario de Guinea Ecuatorial. [Online].; 2017 [cited 2017 Noviembre 10. Available from: <http://www.who.int/countries/gnq/es/>.
 13. Basquetteur. Wikimedia Commons. [Online].; 2014 [cited 2017 Octubre 13. Available from: <https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=35167190>.
 14. Gobierno de Guinea Ecuatorial. El clima y el relieve. Guinea Ecuatorial. [Online].; 2017 [cited 2017 Octubre 12. Available from: <http://www.guineaecuatorialpress.com/noticia.php?id=133>.
 15. Mas J, Ascaso C, Escaramis G, Abellana R, Duran E, Sima A, et al. Reduction in the prevalence and intensity of infection in *Onchocerca volvulus* microfilariae according to ethnicity and community after 8 years of ivermectin treatment on the island of Bioko, Equatorial Guinea. Trop Med Int Health. 2006 Julio;(11(7):1082-91).
 16. Traoré S, Wilson M, Sima A, Barro T, Diallo A, Aké A, et al. The elimination of the onchocerciasis vector from the island of Bioko as a result of larviciding by the WHO African Programme for Onchocerciasis Control. Acta Trop. 2009 Septiembre;(111(3):211–8.).

17. Tchuente S, Wanji S, Sima A. Trazado integral de enfermedades tropicales descuidadas en Guinea Ecuatorial. World Health Organization (WHO), APOC; 2008.
18. Jiménez M, González L, Bailo B, Prieto I, Iborra A, Sima A, et al. A pilot study on the prevalence of loiasis in Equatorial Guinea using an accurate Nested PCR. *Enf Emerg*. 2009 Jan; 11(16–21).
19. ICF Internacional. Encuesta Demográfica y de Salud (EDSGE-I). [Online].; 2012 [cited 2017 octubre 12. Available from: <https://dhsprogram.com/pubs/pdf/FR271/FR271.pdf>.
20. Organización Mundial de la Salud (OMS). Guidelines for rapid assessment of loa loa. [Online].; 2002 [cited 2017 Octubre 12. Available from: http://www.who.int/lymphatic_filariasis/resources/tdr_ide_raploa_02.1/en/.
21. Oguttu D D, Byamukama E, Katholi C, Habomugisha P, Nahabwe C, Ngabirano M, et al. Serosurveillance to monitor onchocerciasis elimination: the Ugandan experience. *Am J Trop Med Hyg*. 2014 Febrero; 90(2): 339–345.
22. Lindblade K, Arana B, Zea-Flores G, Rizzo N, Porter C, Dominguez A, et al. Elimination of *Onchocerca volvulus* transmission in the Santa Rosa focus of Guatemala. *Am J Trop Med Hyg*. 2007 Agosto; 77(2):334–41.
23. Tang TH, López-Vélez R, Lanza M, Shelley A, Rubio J, Bessa S. Nested PCR to detect and distinguish the sympatric filarial species *Onchocerca volvulus*, *Mansonella ozzardi* and *Mansonella perstans* in the Amazon Region. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2010 Septiembre; 105(6).

7. ANEXOS

7.1. Cuestionario sociodemográfico básico

____/____/____/____	REGIÓN CONTINENTAL GUINEA ECUATORIAL
<small>COD.PROVINCIA (1 LETRA)+COD. DISTRITO (2 NUM)+COD. POBLADO (2 NUM)+COD.INDIVIDUO (2 NUM)</small>	

0.1 PROVINCIA: _____ 0.2. DISTRITO: _____

1 DATOS INDIVIDUALES

1.1 NOMBRE: _____

1.2 APELLIDOS: _____

1.3 FECHA NACIMIENTO (dd/mm/aaaa): ____/____/____

1.4 SEXO: MASCULINO FEMENINO

1.5 ¿LLEVA VIVIENDO EN EL CONTINENTE 3 AÑOS O MÁS?

SI NO

1.6 ¿SE HA AUSENTADO POR MÁS DE 6 MESES DEL CONTINENTE?

SI NO

1.7 ¿HA TOMADO ALGUNA VEZ IVERMECTINA/MECTIZAN?

SI NO NO SABE/NO CONTESTA



2 PRUEBAS DIAGNOSTICAS **(A rellenar por los técnicos)**

2.1 TEST RÁPIDO Wb123/OV16 Biplax RDT

POSITIVO ONCO (O)

POSITIVO FL (L)

NEGATIVO

2.2 ¿SE REALIZA SKIN SNIP?

NO

SI

2.3 ¿SE TOMA MUESTRA EN PAPEL WHATMAN?

NO

SI, 10 % ALEATORIO DE LOS NEGATIVOS A ONCOCERCOSIS
Y FL.

SI, PORQUE ES POSITIVO A ONCOCERCOSIS

SI, PORQUE ES POSITIVO A FILARIASIS LINFATICA

OBSERVACIONES

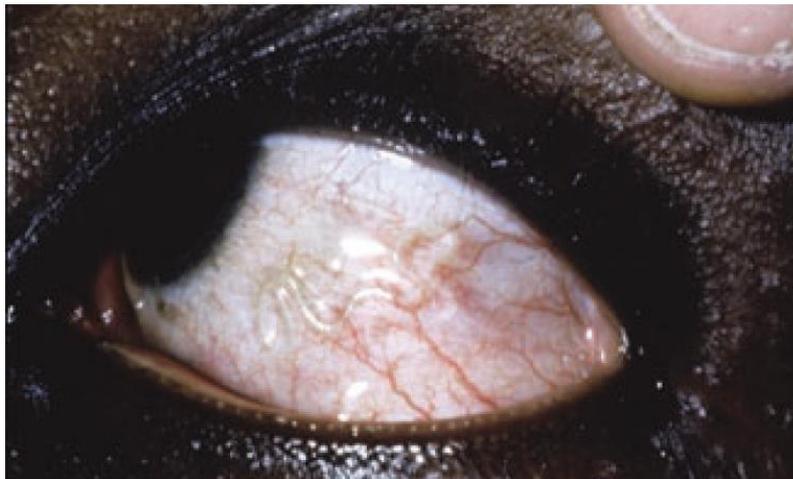
7.2. Cuestionario RAPLOA

____/____/____/____ COD.PROVINCIA (1 LETRA) + COD. DISTRITO (2 NUM)+COD. POBLADO (2 NUM)+COD.INDIVIDUO (2 NUM)	REGIÓN CONTINENTAL GUINEA ECUATORIAL
--	---

0.1 PROVINCIA: _____ 0.2. DISTRITO: _____

DATOS INDIVIDUALES

- 1.1. NOMBRE: _____
- 1.2. APELLIDOS: _____
- 1.3. FECHA NACIMIENTO (dd/mm/aaaa): ____/____/____
- 1.4. SEXO: MASCULINO FEMENINO
- 1.5. ¿ALGUNA VEZ HA VISTO GUSANOS MOVIENDOSE EN LA PARTE BLANCA DEL OJO?
 SI NO NO SABE/NO CONTESTA.



World Health Organization (WHO),TDR/IDE/RAPLOA/02.1

- 1.6. ¿ALGUNA VEZ HA TENIDO LA SITUACIÓN DE ESTA IMAGEN?
 SI NO NO SABE/NO CONTESTA.
- 1.7. ¿ LA ÚLTIMA VEZ QUE TUVO ESTA SITUACIÓN, CUÁNTO TIEMPO ESTUVO EL GUSANO ANTES DE DESAPARECER?

 NO SABE/NO CONTESTA.

7.3. Toma de muestra para test SD BIOLINE

SD BIOLINE Oncho/LF IgG4 bplex

Quick Reference Guide

For more detailed instructions please refer to Package Insert.

Caution:

DO NOT USE THE TEST MORE THAN ONCE.

Before you begin:

- Please read the instructions for use in its entirety, prior to use.
- Cover your work space with a clean, disposable absorbent workpace cover.
- All components must be brought to room temperature (between 15-30°C) prior to testing.

Preparation:

- Test pouch (Test Device)
- Assay Diluent
- Alcohol swab
- Lancet
- Disposable capillary pipette (10µl)
- Timer & Disposable Gloves (Not Provided)

1

Check the expiry date. If expiry date has passed, use another kit. Check the desiccant. If the color is green, use another kit.



2

Put on the gloves. Use new gloves for each patient.



3

Open the test pouch and label with the patient ID. Do not use labels that obstruct the air openings.



4

Open the alcohol swab. Grasp the 4th finger of the non-dominant hand. Clean the finger in a circular motion. Allow to air dry for 10 seconds.



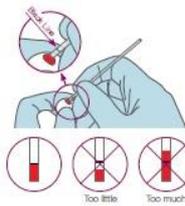
5

Using the lancet, prick the patient's finger to get a drop of blood. Discard the lancet into the sharps container.



6

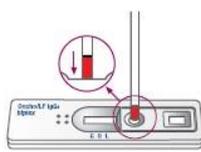
Wait until a drop of blood has collected on the finger. Gently squeeze and hold the capillary pipette. Place pipette tip on the blood drop and release squeeze to collect blood up to fill line.



7

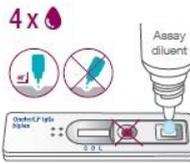
Place the capillary pipette into the round sample well. Squeeze again to release the blood and let blood absorb into the sample well.

Discard the pipette in the sharps container after adding blood.



8

Add four drops of assay diluent into the square assay diluent well.



9



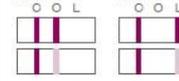
Interpret test results within 30 minutes after adding assay diluent.

From 30 minutes to 24 hours, the results are valid.

The control line should appear for all results. If it does not appear, the result is considered invalid and the specimen should be retested using a new test device.

⊕ Positive (Reactive)

Onchocercella Reactive:



Lymphatic Filariasis Reactive:



⊖ Negative (Nonreactive)

Onchocercella and Lymphatic Filariasis Nonreactive:



⊗ Invalid

Onchocercella Reactive:



www.standardia.com



STANDARD DIAGNOSTICS, INC.

© 2016 Alero. All rights reserved. The Alero Logo and Alero are trademarks of the Alero group of companies. All other trademarks referenced are trademarks of their respective owners. 12000238E-01, 02/16