

Aus dem Zentrum für Kinder- und Jugendmedizin  
der Universitätsmedizin der Johannes Gutenberg-Universität Mainz

Die prospektive Fall-Kontrollstudie: „Evaluation of cause of eosinophilia in children in  
Dhulikhel hospital and its affiliated health facilities“  
Entwicklung, Studienprotokoll und erste Ergebnisse

Inauguraldissertation  
zur Erlangung des Doktorgrades der  
Medizin  
der Universitätsmedizin  
der Johannes Gutenberg-Universität Mainz

Vorgelegt von

Andrina Silberschmidt  
aus Herisau

Mainz, 2022

Tag der Promotion:

16. Juni 2023

# Inhaltsverzeichnis

<b>ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS.....</b>	<b>I</b>
<b>ABBILDUNGSVERZEICHNIS .....</b>	<b>III</b>
<b>TABELLENVERZEICHNIS .....</b>	<b>IV</b>
<b>1 EINLEITUNG .....</b>	<b>1</b>
<b>2 LITERATURDISKUSSION.....</b>	<b>3</b>
2.1 EOSINOPHILIE.....	3
2.1.1 <i>Biologie und Pathophysiologie</i> .....	3
2.1.2 <i>Definition</i> .....	4
2.1.3 <i>Ätiologie</i> .....	6
2.1.4 <i>Epidemiologie</i> .....	7
2.1.5 <i>Symptome</i> .....	8
2.1.6 <i>Diagnostik</i> .....	8
2.1.7 <i>Therapie</i> .....	10
2.1.8 <i>Eosinophilie bei Kindern</i> .....	11
2.1.9 <i>Eosinophilie bei Kindern in Nepal</i> .....	12
2.2 HELMINTHIASIS .....	14
2.2.1 <i>Einteilung und Definitionen</i> .....	14
2.2.2 <i>Epidemiologie</i> .....	16
2.2.3 <i>Symptome</i> .....	18
2.2.4 <i>Diagnostik und Therapie</i> .....	18
2.2.5 <i>Einzelne Helminthen</i> .....	19
2.3 NEPAL.....	27
2.3.1 <i>Geografie</i> .....	27
2.3.2 <i>Sprache und Bildung</i> .....	28
2.3.3 <i>Kultur und Religion</i> .....	28
2.3.4 <i>Wohnen und Hygiene</i> .....	29
2.4 GESUNDHEIT UND GESUNDHEITSSYSTEM.....	30
2.4.1 <i>Gesundheitssituation</i> .....	30
2.4.2 <i>Gesundheitsversorgung</i> .....	30
2.4.3 <i>Gesundheitsversorgung im internationalen Vergleich</i> .....	31
2.4.4 <i>Krankenversicherung</i> .....	31
2.5 DHULIKHEL UND DAS KRANKENHAUS.....	32
2.5.1 <i>Dhulikhel</i> .....	32
2.5.2 <i>Dhulikhel Hospital (DH)</i> .....	32
<b>3 METHODEN .....</b>	<b>34</b>
3.1 IST-STAND UND HAUPTPROBLEMSTELLUNG.....	34
3.2 DOKUMENTATION EOSINOPHILIE IN DER PÄDIATRISCHEN ABTEILUNG IM DHULIKHEL HOSPITAL .....	36
3.3 HYPOTHESE UND STUDIENDESIGN .....	36

3.3.1	<i>Hypothese der Studie</i> .....	36
3.3.2	<i>Studienziele</i> .....	36
3.3.3	<i>Studiendesign</i> .....	37
3.4	SETTING .....	37
3.4.1	<i>Probanden</i> .....	37
3.4.2	<i>Fallgruppe</i> .....	38
3.4.3	<i>Kontrollgruppe</i> .....	38
3.5	DURCHFÜHRUNG .....	39
3.6	DATENERHEBUNG .....	40
3.6.1	<i>Einwilligungserklärung</i> .....	40
3.6.2	<i>Fragebogen</i> .....	40
3.6.3	<i>Untersuchungsbogen</i> .....	41
3.7	LABORMETHODEN .....	42
3.7.1	<i>Stuhlmikroskopie</i> .....	42
3.7.2	<i>Serologie</i> .....	42
3.7.3	<i>NGS</i> .....	43
3.8	MACHBARKEITSANALYSE FRAGE- UND UNTERSUCHUNGSBOGEN .....	44
3.9	ETHIKANTRAG UND FINANZIERUNG .....	44
3.9.1	<i>Anforderungen</i> .....	44
3.9.2	<i>Ablauf des Bewilligungsverfahrens/Ethikantrages</i> .....	44
3.9.3	<i>Finanzierung</i> .....	45
<b>4</b>	<b>ERGEBNISSE</b> .....	<b>46</b>
4.1	DOKUMENTATION EOSINOPHILIE IN DER PÄDIATRISCHEN ABTEILUNG IM DHULIKHEL HOSPITAL .....	46
4.2	MACHBARKEITSANALYSE FRAGE- UND UNTERSUCHUNGSBOGEN .....	46
4.2.1	<i>Eosinophilie-Fälle</i> .....	46
4.2.2	<i>Kontrollgruppe</i> .....	50
4.3	BISHERIGE ERGEBNISSE .....	52
4.3.1	<i>Fragebogen</i> .....	52
4.3.2	<i>Stuhlmikroskopie</i> .....	52
4.3.3	<i>Serologie</i> .....	53
4.3.4	<i>NGS</i> .....	54
<b>5</b>	<b>DISKUSSION</b> .....	<b>55</b>
5.1	DOKUMENTATION EOSINOPHILIE IN DER PÄDIATRISCHEN ABTEILUNG IM DHULIKHEL HOSPITAL .....	55
5.2	STUDIENDESIGN UND STUDIENZIEL .....	55
5.3	DIAGNOSTIK IM VERGLEICH .....	56
5.4	HYPOTHESE UND STUDIENRELEVANTE FRAGEN .....	58
5.5	LIMITATIONEN DER STUDIE .....	64
5.6	HERAUSFORDERUNGEN .....	66
5.7	AUSBLICK .....	67
<b>6</b>	<b>ZUSAMMENFASSUNG</b> .....	<b>69</b>

<b>7</b>	<b>LITERATURVERZEICHNIS</b> .....	<b>71</b>
<b>8</b>	<b>ANHANG</b> .....	<b>V</b>
8.1	TABELLE MIT EOSINOPHILIE VERGESELLSCHAFTETE PARASITÄRE ERKRANKUNGEN.....	V
8.2	FRAGE- UND UNTERSUCHUNGSBOGEN.....	XIII
8.3	WORKFLOW.....	XIX
8.4	INFORMATIONSBLATT .....	XXI
8.5	EINWILLIGUNGSERKLÄRUNG .....	XXII
<b>9</b>	<b>DANKSAGUNG</b> .....	<b>XXIV</b>
<b>10</b>	<b>TABELLARISCHER LEBENS LAUF</b> .....	<b>XXV</b>

## Abkürzungsverzeichnis

AEC	Absolute eosinophil count
AS	Amplicon Sequencing
COVID-19	Coronavirus Disease 2019
CT	Computertomografie
DEC	Diethylcarbamazin
DG	Dhulikhel Gemeinde
DH	Dhulikhel Hospital
DNA	Desoxyribonukleinsäure
ECP	Eosinophiles Kationisches Protein
EDN	Eosinophil-Derived Neurotoxin
ELISA	Enzyme Linked Immunosorbent Assay
EPX	Eosinophile Peroxidase
FF	Freie Flüssigkeit
GIT	Gastrointestinaltrakt
GM-CSF	Granulozyten-Makrophagen-Kolonie-stimulierender Faktor
HE	Hypereosinophilie
HES	Hypereosinophilie-Syndrom
HP	Health Post
IgG	Immunglobulin G
IL	Interleukin
IRC	Institutional Review Committee
KD	Kavrepalanchok Distrikt
KM	Knochenmark
KUSMS	Kathmandu University School of Medical Sciences
MBP	Major Basic Protein
MDA	Mass Drug Administration
MRT	Magnetresonanztomographie
MS	Metagenomic Shotgun Sequencing
MSR	Mütterliche Sterblichkeitsrate
NGS	Next Generation Sequencing

NHRC	Nepal Health Research Council
NR	Nepalesische Rupies
NSAR	Nichtsteroidales Antirheumatikum
NTD	Neglected Tropical Disease
NZ	Neurozystizerkose
PC	Präventive Chemotherapie
PZ	Parasitäre Zoonosen
STH	Soil-Transmitted Helminthiasis
UHC	Universal Health Care/Coverage
UHC-SCI	UHC-Service Coverage Index
UN	United Nations
WASH	Water, Sanitation and Hygiene
WHO	Weltgesundheitsorganisation
ZNS	Zentrales Nervensystem

## Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Durch Law and Varma (2015) vorgeschlagenen Algorithmus zur Diagnose und Therapie von Hypereosinophilie in tropischen Ländern.....	9
Abbildung 2: Karte von Nepal mit Relief und Hauptgewässern .....	28
Abbildung 3: AEC bei erstmaliger Eosinophilie der Fälle der Machbarkeitsanalyse ..	49
Abbildung 4: Mittels Metagenomic Shotgun Sequencing gefundene parasitäre Eukaryonten und Darstellung nach anteiligem Vorkommen.....	54
Abbildung 5: Frage- und Untersuchungsbogen.....	XIII
Abbildung 6: Workflow.....	XIX
Abbildung 7: Informationsblatt.....	XXI
Abbildung 8: Einwilligungserklärung.....	XXII

## **Tabellenverzeichnis**

Tabelle 1: Typisches Behandlungsschema bei Eosinophilie im DH .....	34
Tabelle 2: Saisonale Verteilung der Erstvorstellung der Eosinophilie-Fälle.....	47
Tabelle 3: Altersverteilung nach Altersgruppe der Eosinophilie-Fälle.....	47
Tabelle 4: Geschlechtsverteilung der Eosinophilie-Fälle .....	47
Tabelle 5: Verteilung der Eosinophilie-Fälle nach Ethnischer Gruppe.....	47
Tabelle 6: Hauptbeschwerden der Eosinophilie-Fälle .....	48
Tabelle 7: Medikamenteneinnahme der Eosinophilie-Fälle bis zu dem Interview.....	48
Tabelle 8: Flüssigkeitsansammlung bei den Eosinophilie-Fällen.....	49
Tabelle 9: Röntgenbefunde der Eosinophilie-Fälle.....	50
Tabelle 10: Hauptbeschwerden der Kontrollgruppe .....	50
Tabelle 11: Medikamenteneinnahme der Kontrollgruppe bis zu dem Interview .....	51
Tabelle 12: Geschlechtsverteilung der Eosinophilie-Fälle der Studie.....	52
Tabelle 13: Altersverteilung nach Altersgruppe der Eosinophilie-Fälle der Studie ....	52
Tabelle 14: Ergebnisse der Serologie der bisherigen Probanden der Studie. ....	53
Tabelle 15: Mit Eosinophilie vergesellschaftete parasitäre Erkrankungen .....	V

# 1 Einleitung

Die Eosinophilie, eine Erhöhung der eosinophilen Granulozyten im peripheren Blut, ist eine Abweichung der Norm und spricht für eine Reaktion des Körpers auf einen nicht-gesunden Zustand. Die Ursachen dafür sind vielfältig. Weltweit und besonders in sozioökonomisch wenig entwickelten Ländern stellen parasitäre Wurminfektionen die häufigste Ätiologie dar (Tefferi et al., 2006). Eine nicht zu unterschätzende Anzahl jener gehört zu den Neglected tropical diseases (NTDs) (WHO, 2020). Diese werden sowohl in der Diagnostik als auch in der Therapie zu wenig erforscht. In Nepal wurde diese Ursache in einer Studie bereits beschrieben; „(...), parasitic infections are most common possible cause of eosinophilia.“ (Shrestha et al., 2012a).

Insbesondere Kinder sind ein vulnerables Kollektiv für parasitären Wurminfektionen (Hotez et al., 2008; Weatherhead and Hotez, 2015). Sowohl in den zwei Veröffentlichungen von Shrima Shrestha et al. (2012a) und Shrijana Shrestha et al. (2012b) als auch im klinischen Alltag von Ärzten der Pädiatrie im Dhulikhel Hospital (folgend als DH abgekürzt) sind vermehrt Kinder mit Eosinophilie aufgefallen. In vielen Fällen bleibt die Ursache der Eosinophilie und der begleitenden Symptome unbekannt. Die diagnostischen Möglichkeiten zur Untersuchung parasitärer Erkrankungen beschränken sich auf die Anamnese, die körperliche Untersuchung, die lokal verfügbare Labordiagnostik, zu welcher die Stuhlmikroskopie gehört, und die Bildgebungen. Shrestha et al. (2012b) betonen die Dringlichkeit einer größeren Studie zur genaueren Identifikation der parasitären Ursache der Eosinophilie bei Kindern.

Um das Problem näher zu beleuchten, wurde eine Studie zur Untersuchung der von Eosinophilie betroffenen Kinder in Nepal entwickelt und gestartet: die Fall-Kontroll-Studie “Evaluation of cause of eosinophilia in children in Dhulikhel hospital and its affiliated health facilities”<sup>1</sup>. Diese Dissertation setzt sich mit der Entwicklung, dem Studienprotokoll sowie ersten Ergebnissen auseinander.

Die Entwicklung der Studie erfolgte im Rahmen einer Klinikpartnerschaft zwischen dem DH und der Universitätsmedizin Mainz und wurde von zahlreichen Herausforderungen begleitet. Die Klinikpartnerschaft wurde von der deutschen Gesellschaft für Internationale Zusammenarbeit gefördert. Es sollte das klinische Profil der pädiatrischen Patienten mit Eosinophilie mithilfe eines Fragebogens sowie einer

---

<sup>1</sup> „Beurteilung der Ursache für Eosinophilie bei Kindern im Dhulikhel Hospital und angegliederte Gesundheitseinrichtungen“ (Übersetzung durch Verfasserin)

klinischen Untersuchung der Probanden erfasst und anhand einer gezielten Serologie sowie einer NGS der Stuhl-DNA potenzielle Erreger identifiziert werden. Dabei wurde angenommen, dass die Eosinophilie bei Kindern im DH durch eine bisher nicht identifizierte Helminthiasis bedingt ist. Weiter sollten Prävention, Diagnostik und Behandlung von parasitären Wurmerkrankungen im Falle einer Bestätigung der Hypothese verbessert werden.

## **2 Literaturdiskussion**

### **2.1 Eosinophilie**

#### **2.1.1 Biologie und Pathophysiologie**

Die Zellen der Eosinophilen gehören zu den Leukozyten, genauer zu der Gruppe der Granulozyten, und können auch als eosinophile Granulozyten bezeichnet werden. Sie wurden 1879 zum ersten Mal von Paul Ehrlich beschrieben. Ihre Anfärbbarkeit mit dem Farbstoff Eosin war namensgebend für die Zellpopulation (Ehrlich, 1879; Rosenberg et al., 2013).

Eosinophile werden im Knochenmark (KM) aus pluripotenten Vorläuferzellen produziert (Rosenberg et al., 2013). Nach einer Reifungszeit von ungefähr vier Tagen werden die Zellen in den Blutkreislauf freigegeben (Steinbach et al., 1979). Dort sind sie in einem gesunden Organismus in niedriger Zahl vorhanden und haben eine Halbwertszeit von etwa achtzehn Stunden (Steinbach et al., 1979; Valent et al., 2012). Im Gewebe können Eosinophile mehrere Wochen überleben und sind in größerer Zahl als intravaskulär zu finden (Kovalszki and Weller, 2016; Weller and Spencer, 2017). In Homöostase befinden sich die eosinophilen Granulozyten neben dem KM und dem Blut mehrheitlich im Gastrointestinaltrakt, mit Ausnahme des Ösophagus (Mishra et al., 1999). Zudem sind diese weißen Blutkörperchen in der Lunge, dem Fettgewebe, dem Thymus, dem Uterus, der Milz und den Lymphknoten enthalten (Kato et al., 1998; Kim and Jung, 2020).

Unter physiologischen Bedingungen werden eosinophile Granulozyten durch verschiedene Botenstoffe kontrolliert. Die relevanten Zytokine, darunter IL-3, GM-CSF and IL-5, die sowohl für die Reifung im Knochenmark als auch für die Entwicklung einer reaktiven Eosinophilie verantwortlich sind, stammen hauptsächlich aus aktivierten T-Zellen (Ackerman and Bochner, 2007). Für die Aktivierung und die Rekrutierung in das Gewebe ist neben dem Zytokin IL-5 das Chemokin Eotaxin zuständig (Mishra et al., 1999; Rosenberg et al., 2013).

Ein Merkmal in der Zusammensetzung der Eosinophilen sind spezielle kristalloide Granula (crystalloid granules). Jene beinhalten neben einer Vielzahl an Signalmolekülen (Zytokine, Enzyme und Wachstumsfaktoren) mehrere kationische zytotoxische Moleküle, unter anderem das Major Basic Protein (MBP), die Eosinophile Peroxidase (EPX), das Eosinophile Kationische Protein (ECP) und das Eosinophil-Derived Neurotoxin (EDN) (Davoine and Lacy, 2014).

Lange galten Eosinophile als die Zellreihe, die zur Bekämpfung von Helminthen zuständig ist. Neuere Erkenntnisse zeigen nun auf, wie vielfältig die Funktion dieser Zellen zum Erhalt unserer Gesundheit und zur Vorbeugung von Erkrankungen ist (Rosenberg et al., 2013). Beispielsweise spielen Eosinophile sowohl eine Rolle im angeborenen als auch im erworbenen Immunsystem. Dabei interagieren die Zellen mit verschiedenen anderen Leukozyten, unter anderem T- und B-Lymphozyten, Makrophagen, Mastzellen, dendritischen Zellen und Neutrophilen (Rosenberg et al., 2013). Verschiedene Studien konnten außerdem zeigen, dass Eosinophile eine antigen-präsentierende Funktion gegenüber T-Lymphozyten aufweisen (Shi, 2004).

Zur wichtigen immunmodulatorischen Funktion der Eosinophilen tragen unter anderem über 35 Zytokine, Wachstumsfaktoren und Chemokine bei. Diese werden nach deren Produktion im Zellinneren gespeichert (Davoine and Lacy, 2014). Dadurch können die verschiedenen Signalmoleküle als Folge spezifischer, exogener Stimuli schnell sezerniert werden, was Eosinophile von den meisten Lymphozyten unterscheiden (Spencer et al., 2009).

Auch die vier kationischen Proteine haben jeweils spezifische Funktionen. Das MBP weist sowohl eine toxische Wirkung gegen Helminthen als auch eine zytotoxische Wirkung für Atemwege auf. Das ECP, eine Ribonuklease, wirkt bakterizid, ist toxisch für Helminthen und fördert die Freisetzung der Granula von Mastzellen. Das EDN, auch eine Ribonuklease, ist weniger basisch als die zwei anderen Proteine. Es ist nur schwach toxisch gegen Parasiten und hat eine antivirale Aktivität bei Atemwegsinfekten. Die EPX besitzt eine bakterizide Wirkung (Hogan et al., 2008).

### **2.1.2 Definition**

Im Rahmen verschiedener Erkrankungen kann es zu einer erhöhten Produktion von eosinophilen Granulozyten im Knochenmark kommen. Dies führt zu einem vermehrten Vorkommen dieser Zellen im Blut und/oder im Gewebe. Laut Valent et al. (2012) liegt der Normwert im Blut bei 50-500 Zellen/ $\mu$ l. Ein Wert über 3-5% im Differenzialblutbild oder eine absolute Eosinophilenzahl (Absolute Eosinophil Count (AEC)), abhängig vom Laborstandard, über 350-500/ $\mu$ l, gilt als erhöht (Gotlib, 2017) und wird als Eosinophilie bezeichnet. Eine Klassifikation dieser wurde willkürlich in mild (bis 1 500 Zellen/ $\mu$ l), moderat (1 500-5 000 Zellen/ $\mu$ l) und schwer (ab 5 000 Zellen/ $\mu$ l) getroffen (Rothenberg, 1998; Valent et al., 2012).

Die Eosinophilie kann zeitlich in vorübergehend, episodisch und persistierend (auch chronisch genannt) unterteilt werden (Valent et al., 2012). In der 11. Version der internationalen statistischen Klassifikation der Krankheiten und verwandten Gesundheitsprobleme (ICD-11) hat die Eosinophilie den Code 4B03 und lässt sich in angeboren (constitutional, 4B03.0) und erworben (acquired, 4B03.1) unterteilen (WHO, 2022a). Die meisten Fälle sind erworbener Natur (Tefferi et al., 2006). Bei Unklarheit gibt es, als weitere Kategorie, die nicht näher beschriebene Eosinophilie (unspecified, 4B03.Z) (WHO, 2022a).

Der Begriff der Hypereosinophilie (HE) wurde von der Working Conference on Eosinophil Disorders and Syndromes als eine persistierende (über mindestens einen Monat), absolute Eosinophilenzahl im peripheren Blut von über 1 500/ $\mu$ l und/oder eine Gewebe-HE definiert. Mindestens eines der drei folgenden Kriterien muss erfüllt sein, damit von einer Gewebe-HE gesprochen werden kann: wenn die Eosinophilen mehr als 20% der kernhaltigen Zellen im Knochenmark ausmachen; die Eosinophilen durch den Pathologen im Gewebe als übermäßig bezeichnet werden oder bei einem hohen extrazellulären Vorkommen der Granulaproteine. Die HE im Gewebe geht meistens mit einer Eosinophilie im Blut einher. Der Oberbegriff der Hypereosinophilie wird weiterhin in hereditäre HE, primäre HE (klonisch oder neoplastisch), sekundäre auch reaktive HE und HE ungeklärter Signifikanz (früher idiopathische HE genannt) eingeteilt. Die hereditäre HE weist eine familiäre Häufung auf. Sowohl die primäre als auch die sekundäre HE sind keine Enddiagnosen und müssen auf eine genaue Ursache untersucht werden. Bei der HE unklarer Signifikanz ist es besonders wichtig, ein Hypereosinophilie-Syndrom (HES) auszuschließen (Valent et al., 2012).

Jede HE kann in ein Hypereosinophilie-Syndrom (HES) übergehen. Dieser Symptomkomplex wurde erstmalig durch Hardy and Anderson (1968) beschrieben. Später haben Chusid et al. (1975) die folgenden Kriterien für ein HES erarbeitet:

1. Über mehr als sechs Monate anhaltende HE,
2. Fehlender Hinweis für allergische, parasitäre oder weitere bekannte Ursachen für eine Eosinophilie,
3. Mutmaßliches Zeichen für eine Organbeteiligung.

Im Jahr 2011 definierte die Working Conference on Eosinophil Disorders and Syndromes das Hypereosinophilie-Syndrom als solche HE im peripheren Blut mit

dadurch bedingter Organschädigung. Ähnlich wie bei der HE wird hier auch zwischen primärem HES, sekundärem HES und idiopathischem HES unterschieden (Valent et al., 2012).

Neben dem HES gibt es spezifische Syndrome, die mit einer Eosinophilie oder HE zusammenhängen. Dazu zählen das Gleich-Syndrom (episodisches Angioödem mit Eosinophilie), das Churg-Strauss Syndrom (eosinophile Granulomatose mit Polyangiitis), das Eosinophilie-Myalgie-Syndrom, das Omenn-Syndrom (schwerer kombinierter Immundefekt mit Hypereosinophilie) und das Hyper-IgG Syndrom. Weiterhin können auch organbeschränkte, meist entzündliche Erkrankungen mit einer HE einhergehen, ohne dass die Kausalität zwischen der HE und der Organbeteiligung geklärt ist. Diese fallen jedoch nicht unter den Begriff des HES. Beispiele für solche Erkrankungen sind die pulmonalen eosinophilen Syndrome, die eosinophilen gastrointestinalen Erkrankungen und eine Vielzahl an dermatologischen Störungen (Valent et al., 2012).

### **2.1.3 Ätiologie**

Die Feststellung einer erworbenen Eosinophilie bei einem Patienten kann auf eine Vielzahl neoplastischer (primäre) oder nicht-neoplastischer (sekundäre/reaktive) Erkrankungen hinweisen. Bei der primären Eosinophilie führen Mutationen in den Vorläuferzellen zu klonaler Vermehrung maligner Zellen. Beispiele für solche Neoplasien des Knochenmarks sind die chronische myeloische Leukämie sowie gewisse Formen der akuten myeloischen Leukämie, der myelodysplastischen Syndrome oder der myeloproliferativen Syndrome. Als Trigger für sekundäre Eosinophilien dienen zumeist die oben erwähnten eosinophilopoetischen Zytokine (IL-3, IL-5 und GM-CSF) (Tefferi et al., 2006; Valent et al., 2012).

Valent et al. (2012) unterscheiden zwischen häufigen und seltenen Ursachen für eine reaktive Eosinophilie oder HE. Helminthiasen, allergische Reaktionen, atopische Erkrankungen sowie allergisch wie auch toxisch medikamentöse Reaktionen zählen zu den häufigen Ursachen. Als seltene Auslöser kommen unter anderem verschiedene maligne Erkrankungen wie B- oder T-Zell Lymphome oder solide Tumore, Krätze, chronische entzündliche Darmerkrankungen und autoimmune Erkrankungen in Frage. Auch weitere infektiöse Ursachen wie Pilzinfektionen oder Viren können mit einer Eosinophilie einhergehen (Rosenberg et al., 2013).

In einer in Großbritannien durchgeführter Beobachtungsstudie mit einer Kohorte von 382 Probanden aus der Sekundärversorgung waren die häufigsten Ursachen für eine persistierende Eosinophilie die Pilzallergie, gefolgt von parasitärer Infektion, Atemwegserkrankungen, darunter Asthma und eosinophile Granulomatosis mit Polyangiitis. Die Probanden mit Helminthiasen hatten zumeist Vorfahren in Südostasien. Die Erreger waren wie folgt aufgeteilt: 65% *Strongyloides*, 10% *Schistosoma*, 8% *Filaria* und andere (Wardlaw et al., 2021).

Weiterhin sind sowohl Tuberkulose als auch eine HIV-Infektion mögliche Ursachen für eine Eosinophilie (Law and Varma, 2015). Eine Studie aus Brasilien zeigte, dass Patienten mit einer Eosinophilie und einer Lungentuberkulose oftmals zusätzlich mit intestinalen Fadenwürmern infiziert waren (Tristão-Sá et al., 2002).

Eine ausführliche Liste an Erkrankungen, die mit Eosinophilie in Verbindung gebracht werden, wurde im Supplementary Information S1 in einem Review von Rosenberg et al. (2013) in der Fachzeitschrift Nature publiziert. Nicht selten bleibt die Ursache für eine Eosinophilie ungeklärt (Schulte et al., 2002; Makkar et al., 2005; Shrestha et al., 2012a).

#### **2.1.4 Epidemiologie**

Weltweit, insbesondere in sozioökonomisch ärmeren Ländern sind Parasiten die häufigste Ursache für eine sekundäre Eosinophilie. In finanzstarken Ländern werden meist Allergien damit assoziiert (Tefferi et al., 2006; Kim et al., 2014).

Es gibt keine Angaben zur Prävalenz von Eosinophilie der einzelnen Länder. Diverse Studien liefern Daten über das Vorkommen dieser Zellerhöhung in den jeweiligen Krankenhäusern:

Die Inzidenz für ein AEC von über 1 000/ $\mu$ l im Krankenhaus Metropolitan Komagome in Tokyo lag über einen Zeitraum von etwa sechs Monaten im Jahr 1997 bei 0,6% aller untersuchten Differenzialblutbildern (Kobayashi et al., 2002). In einer koreanischen Studie hatten 12,2% der Patienten eine Eosinophilie (AEC > 500/ $\mu$ l) und 0,9% eine HE (AEC > 1 500/ $\mu$ l) (Kim et al., 2009). Eine Studie aus der Region von Kopenhagen wertete Daten von 356 196 Patienten der medizinischen Grundversorgung aus. Das Vorkommen einer Eosinophilie mit einem AEC zwischen 500 und 1 000/ $\mu$ l lag bei 3,7% und mit einem AEC über 1 000/ $\mu$ l bei 0,3% (Andersen et al., 2013).

### **2.1.5 Symptome**

Patienten mit einer Eosinophilie können sowohl mit als auch ohne Symptome vorstellig sein (Schulte et al., 2002; Makkar et al., 2005). Eine klinische Manifestation kann durch die zugrundeliegende Erkrankung verursacht werden. Viele unspezifische Symptome, wie beispielsweise Anorexie, Bauchschmerzen oder Fieber sind dabei möglich (Makkar et al., 2005). Weiterhin scheint die Eosinophilie selbst, wie bei dem HES, Gewebeschäden verursachen zu können. Mögliche Zielorgane sind hierbei das Herz, die Lunge, das ZNS, der GIT und die Haut (Tefferi et al., 2006; Hogan et al., 2008; Gotlib, 2017).

### **2.1.6 Diagnostik**

Eine Eosinophilie kann sowohl im Rahmen einer Routineuntersuchung als Zufallsbefund im Blutbild als auch bei kranken Patienten bei einer gezielten Blutuntersuchung auffallen (Shrestha et al., 2012a). Laut der WHO sollte im ersten Schritt eine sekundäre Ursache ausgeschlossen werden. Erst dann werden weitere Untersuchungen zur semi-molekularen Klassifizierung einer möglichen primären Ursache empfohlen. Jede Untersuchung sollte in Zusammenschau der bereits vorhandenen Informationen erfolgen (Shomali and Gotlib, 2022). Eine Weiterführung der Diagnostik bei gesunden oder asymptomatischen Patienten und Eosinophilen unter  $1\ 500/\mu\text{l}$  ist nicht zwingend erforderlich (Butt et al., 2017).

In Nepal gibt es keinen einheitlichen diagnostischen Algorithmus für die Eosinophilie. Ein möglicher Algorithmus zur Untersuchung einer Hypereosinophilie in tropischen und armen Ländern wurde von Law and Varma (2015) vorgeschlagen (siehe Abbildung 1). Dieser könnte aufgrund der geographischen und epidemiologischen Lage in Nepal verwendet werden.

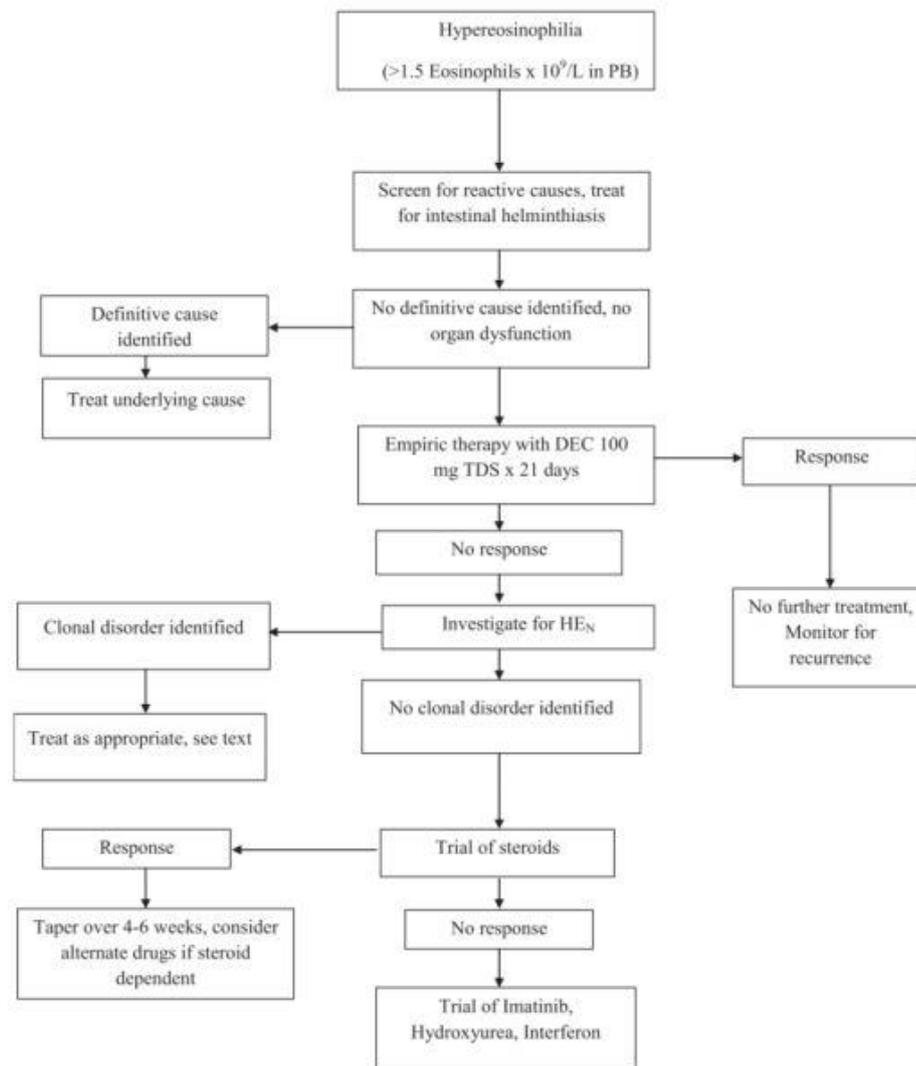


Abbildung 1: Durch Law and Varma (2015) vorgeschlagenen Algorithmus zur Diagnose und Therapie von Hypereosinophilie in tropischen Ländern. PB: peripheral blood, DEC: Diethylcarbamazin, TDS: ter die sumendus/drei Mal täglich, HE: Hypereosinophilie

Die Höhe der AEC kann in manchen Fällen einen Hinweis auf die zugrundeliegende Ursache der Eosinophilie liefern. Zum Beispiel sind Erkrankungen aus dem atopischen Formenkreis in der Regel mit einer milderen bis moderaten Eosinophilie vergesellschaftet, wohingegen eine neoplastische Genese mit deutlich höheren Werten einhergehen kann (Schwartz and Fulkerson, 2018; Henes et al., 2019). Patienten mit einer HE, bei der mindestens ein Organ beteiligt ist und welche nicht ausschließlich durch ein bekanntes Asthma oder parasitäre Infektion zu erklären ist, scheinen noch höhere AEC-Werte aufzuweisen als Patienten mit einer malignen Erkrankung (Kobayashi et al., 2002). In einer deutschen Studie über Reiserückkehrer zeigte die Eosinophilie einen niedrigen positiven prädiktiven Wert für parasitäre Wurmerkrankungen. Bei höheren Werten an Eosinophilen wurde der positive prädiktive Wert größer (Schulte et al., 2002).

Außerdem können gewisse bakterielle oder virale Infektionen wie auch die Einnahme von Steroiden zu einem Abfall der Eosinophilen führen (O'Connell and Nutman, 2015; Schwartz and Fulkerson, 2018).

#### Primäre Eosinophilie

Zur Diagnostik der primären Eosinophilie gehören unter anderem ein peripherer Blutaussstrich, Laboruntersuchungen vom Blut sowie Knochenmarksuntersuchungen (Shomali and Gotlib, 2022).

#### Sekundäre Eosinophilie

In tropischen oder ärmeren Ländern sollte als erstes die wahrscheinlichste Ursache für die Eosinophilie, die parasitäre Genese, überprüft werden (Law and Varma, 2015). Die Anamnese und die körperliche Untersuchung können erste Hinweise auf eine mögliche parasitäre Ursache liefern. Unter anderem sollte der Kontakt zu Tieren und die Einnahme von rohen Lebensmitteln oder unbehandeltem Wasser erfragt werden (Tefferi et al., 2006). Um Differenzialdiagnosen auszuschließen, ist es sinnvoll, stets Fragen zu Allergien und Medikamenteneinnahme zu stellen (Butt et al., 2017). Bei bestehendem Verdacht auf eine Parasitose werden sowohl die mikroskopische Untersuchung auf Eier und auf Parasiten, die Stuhlkultur sowie die Serologie auf spezifische Erreger empfohlen. Zudem können weitere Labordiagnostik oder Bildgebungen erforderlich sein (Gotlib, 2017). Die Erhöhung vom IgE wird insbesondere bei reaktiver Eosinophilie beobachtet. Bei einer Pilzallergie und parasitärer Infektion wurden zwar die höchsten Werte beschrieben, dennoch bleibt IgE ein unspezifischer Parameter (Wardlaw et al., 2021).

#### **2.1.7 Therapie**

Bei bekannter Ursache sollte diese entsprechend behandelt werden. Wenn der Grund für die Eosinophilie nicht geklärt ist, gibt es verschiedene Empfehlungen zur Herangehensweise. In tropischen und ärmeren Ländern empfehlen Law and Varma (2015) eine empirische Behandlung mit DEC und bei fehlender Besserung im Verlauf gegebenenfalls den Einsatz von Glukokortikoiden (siehe Abbildung 1). Das idiopathische HES sollte auch mit Glukokortikoiden behandelt werden (Butt et al., 2017). Eine Eosinophilie kann sich auch ohne Therapie wieder normalisieren (Makkar et al., 2005).

### 2.1.8 Eosinophilie bei Kindern

In diesem Abschnitt werden Studien, die Eosinophilie bei Kindern untersucht haben, besprochen. Dabei wird insbesondere auf die Unterschiede zu Erwachsenen eingegangen. Es gibt deutlich weniger Literatur zu Eosinophilie bei pädiatrischen als bei erwachsenen Patienten. Zudem beschränkt sich ein Großteil der Veröffentlichungen zu Kindern auf die HE. Mildere Fälle werden nur selten untersucht.

#### Ätiologie

Die Ätiologie der Eosinophilie bei Kindern ähnelt bis auf ein paar Ausnahmen der der Erwachsenen (Schwartz and Fulkerson, 2018).

Bei Kindern ist die Ursache der Eosinophilie oder der HE überwiegend sekundärer Genese. Eine primäre Ursache kommt nur sehr selten vor (Belhassen-Garcia et al., 2014; Xiaohong et al., 2016; Burris et al., 2019). Neben Helminthen muss bei pädiatrischen Patienten zudem an Krätze und Pilzerkrankungen als mögliche infektiöse Ursache gedacht werden (Schwartz and Fulkerson, 2018). Andere bei Kindern häufig vorkommende Protozoen wie *Giardia lamblia*, *Cryptosporidium* oder Malaria-Erreger gehen in der Regel nicht mit einer Eosinophilie einher (Tefferi et al., 2006; Schwartz and Fulkerson, 2018; CDC, 2020). Erkrankungen aus dem atopischen Formenkreis, medikamentöse Reaktionen sowie die entzündliche Erkrankung der eosinophilen Ösophagitis sind weitere typische sekundäre Ursachen. Rheumatologische Erkrankungen stellen hingegen eine seltene Ursache dar (Schwartz and Fulkerson, 2018).

#### Epidemiologie

Aufgrund der dünnen Datenlage zu Eosinophilie bei Kindern ist eine Aussage zur allgemeinen Prävalenz nicht möglich (Schwartz and Fulkerson, 2018). In einer Studie aus den USA aus dem Jahr 2019 wurde die lokale Inzidenz für eine HE bei Kindern auf 0,054% pro Jahr errechnet. Dabei waren insbesondere Kinder unter einem Jahr und zwischen sechs bis elf Jahren betroffen (Burriss et al., 2019).

In einer weiteren, retrospektiven Studie aus den USA zwischen 1994 und 2012 wurden 37 Kinder und 254 Erwachsene mit einer ungeklärten HE verglichen. Dabei wurden Patienten nicht in die Studie eingeschlossen, wenn die Ätiologie, wie beispielsweise eine parasitäre Genese, bereits vermutet wurde. Bei den Kindern hatten 14% und bei den Erwachsenen 10% eine behandelbare sekundäre Ursache. Davon waren jeweils 60% und 40% durch eine Helminthiasis bedingt. Die häufigste Ursache war in beiden

Gruppen das idiopathische HES (Kinder 46%, Erwachsene 47%) (Williams et al., 2016).

In einer retrospektiven Studie aus China waren die häufigsten Ursachen für eine HE bei den pädiatrischen Probanden in absteigender Reihenfolge: Infektionen, Allergien und eosinophile Gastroenteritiden (Xiaohong et al., 2016).

In einer koreanischen Studie aus der pädiatrischen Abteilung der Universitätsklinik in Busan lag die Inzidenz in einem Jahr für eine Eosinophilie (AEC > 450/ $\mu$ l) bei 5,9%. Unter diesen Probanden konnte bei 67% eine zugrundeliegende Ursache eruiert werden. Am häufigsten war die Zellerhöhung allergisch bedingt (Kim et al., 2014).

### Symptome

Die häufigsten Symptome der Kinder mit HE waren laut einer chinesischen Studie Fieber, Bauchschmerzen, Husten und/oder Tachypnoe, Hautausschlag und Blut im Stuhl (Xiaohong et al., 2016). Allgemein sind die möglichen Symptome bei Kindern mit denen der Erwachsenen vergleichbar (Schwartz and Fulkerson, 2018). Die Verteilung der Symptome kann allerdings variieren. Als Beispiel dient eine Studie von Williams et al. (2016) in der die pädiatrischen Probanden mit HES signifikant mehr GIT-Beschwerden (62%, gegen 34% bei den Erwachsenen) hatten.

### Diagnostik und Therapie

Williams et al. (2016) kamen zu dem Schluss, dass aufgrund der vergleichbaren Daten zwischen Erwachsene und Kindern sowohl diagnostische als auch therapeutische Algorithmen für HE für beide Gruppen eingesetzt werden können. Manche anamnestische Fragen, die bei Erwachsenen in Hintergrund rücken, sollten bei Kindern jedoch ergänzt werden, wie beispielsweise das Vorliegen eines Pica-Syndroms (Schwartz and Fulkerson, 2018). Zudem muss die Dosierung der Medikation bei pädiatrischen Patienten an das Alter und das Gewicht angepasst werden.

#### **2.1.9 Eosinophilie bei Kindern in Nepal**

Wie bei den Erwachsenen gibt es keine Daten zur Prävalenz und Krankheitslast der Eosinophilie bei Kindern in Nepal. Patienten mit Eosinophilie unklarer Genese erhalten meistens eine empirische, anthelminthische Behandlung (Shrestha et al., 2012b; Shrestha et al., 2019).

In der Literatur gibt es bis zu dem Zeitpunkt der Recherche zwei im Jahr 2012 publizierte prospektive Beobachtungsstudien, die Eosinophilie bei Kindern in Nepal untersucht haben.

Die Studie „Clinical and Laboratory Profile of Children with Eosinophilia at Dhulikhel Hospital“ wurde über knapp drei Jahre durchgeführt und untersuchte Kinder im Alter von ein bis vierzehn Jahren (Shrestha et al., 2012a). In dieser Zeit hatten insgesamt 2,41% der pädiatrischen Patienten (entspricht 84 Kinder) vom DH eine persistierende Eosinophilie mit Beteiligung von mindestens einem Organ. Dabei wurde eine AEC von 350/ $\mu$ l bereits als solches gewertet. Die meistbetroffene ethnische Gruppe waren mit einem Drittel die Tamang. Die Kinder kamen mehrheitlich aus ländlichen Gebieten.

Die häufigsten Symptome waren: Bauchschmerzen, Fieber, Blähungen, gefolgt von respiratorischen Symptomen und Gewichtsverlust. Gleichzeitig hatten 50 Kinder eine Hepatomegalie, 38 Aszites und 27 Lymphadenopathie. In der mikroskopischen Untersuchung des Stuhls konnten folgende Parasiten nachgewiesen werden: *Giardia lamblia* (fünf Fälle), *Ascariasis* (drei Fälle), *Entamoeba histolytica* und *Trichuris* (jeweils ein Fall). Einzelne Serumanalysen wurden durchgeführt, welche, zusammen mit den anderen Untersuchungen, zu zwanzig definitiven Diagnosen führten: dreizehn parasitäre Wurminfektionen (*Ascariasis*, *Trichuriasis*, *Strongyloidiasis*, *Filariasis*, *Fascioliasis*, *Toxocariasis*), vier Fälle an disseminierter Tuberkulose und jeweils einen Fall an HES, tuberkulöse Meningitis und pilozytisches Astrozytom. Bei fünf Fällen wurde eine tropische pulmonale Eosinophilie vermutet. Bei den restlichen Probanden blieb die Diagnose unbekannt. Die Autoren kamen zum Schluss, dass weitere Untersuchungen, darunter Serologien, notwendig sind (Shrestha et al., 2012a).

Die Studie „Clinical profile of children with moderate-to-severe eosinophilia presenting to a tertiary hospital in Nepal“ dauerte zwei Jahre und wurde im Patan-Krankenhaus durchgeführt (Shrestha et al., 2012b). Hierbei wurden 50 Patienten mit einem AEC über 1500/ $\mu$ l und der Vermutung auf eine parasitäre Genese in die Studie aufgenommen. Der Großteil der Probanden gehörte den ethnischen Gruppen der Tamang und der Lama an. Die häufigsten Symptome ähnelten denen der Studie aus dem DH und waren unter anderem Bauchschmerzen, Fieber oder Husten. Zehn Kinder hatten eine Hepatomegalie, 33 Pleuraergüsse, zwanzig Aszites und elf einen Perikarderguss. Eine weiterführende Diagnostik wurde nicht vorgenommen. Eine anthelminthische Therapie verbesserte den Zustand der meisten Kinder. Zudem konnte ein Abfall der AEC in zwanzig Fällen beobachtet werden. Die Autoren

schlossen durch ihre klinischen Beobachtungen auf mehrere möglichen Helminthiasen:

-Lymphatische Filariasis, welche in Nepal häufig vorkommt und mit den klinischen Symptomen mancher Probanden im Einklang war.

-Paragonimiasis, da 82% der Probanden angegeben hatten, nicht durchgekochte Süßwasserkrabben zu essen.

-Toxocariasis, aufgrund der jungen Probandengruppe, welche möglicherweise mit dem Erreger durchs Spielen auf dem Boden in Kontakt kamen.

Die Autoren kamen zum Schluss, dass eine größere Studie, welche auf die Identifikation des Erregers abzielt, erforderlich sei (Shrestha et al., 2012b).

## **2.2 Helminthiasis**

Die meisten parasitäre Erkrankungen, die mit einer Eosinophilie einhergehen, sind parasitäre Wurmerkrankungen, auch Helminthiasen oder Helminthosen genannt. Nur selten führen Protozoen wie beispielsweise *Dientamoeba fragilis* zu einer Erhöhung dieser Granulozyten (Rothenberg, 1998; Tefferi et al., 2006). Besonders im Rahmen der Wanderung von Larven invasiver Helminthen durch das Gewebe kommt es zu einer Erhöhung der Eosinophilen (O'Connell and Nutman, 2015). Ein Überblick der mit Eosinophilie vergesellschafteten parasitären Erkrankungen findet sich in Tabelle 15 (siehe Anhang).

### **2.2.1 Einteilung und Definitionen**

Helminthiasen können in Nematodiasis, Zestodiasis und Trematodiasis eingeteilt werden. Erstere wird durch den Stamm der Fadenwürmer, wissenschaftlich Nematoda genannt, verursacht. Die zwei anderen Erkrankungen werden durch die jeweiligen Klassen der Bandwürmer (Cestoda) und der Saugwürmer (Trematoda), welche beide dem Stamm der Plattwürmer (Plathelminthes) zugeordnet sind, hervorgerufen (Mehlhorn, 2012b).

Folgende Helminthiasen werden in eigene Gruppen eingeteilt:

-Die „Foodborne Trematodiasen“ sind Infektionen mit Saugwürmern, welche über Nahrungsmittel übertragen werden (Chai and Jung, 2022).

-Bei den „Soil-Transmitted Helminthiasen“ (STHs) oder Geohelminthiasen handelt es sich um Erkrankungen mit Nematoden. Die Übertragung erfolgt über den kontaminierten Boden (Jourdan et al., 2018).

#### Neglected tropical diseases

“Neglected tropical diseases (NTDs) are ancient diseases of poverty that impose a devastating human, social and economic burden on more than 1 billion people worldwide, predominantly in tropical and subtropical areas among the most vulnerable, marginalized populations.” (WHO, 2020)

Als NTDs, auf Deutsch „vernachlässigte tropische Krankheiten“, werden von der WHO zwanzig Erkrankungen zusammengefasst. Darunter fallen zahlreiche Helminthiasen, wie die Filariasis, die Schistosomiasis, die STHs, sowie manche foodborne trematodiasen (WHO, 2020). Diesen wird, im Hinblick auf Diagnostik, Prävention und Behandlung zu wenig Aufmerksamkeit geschenkt. 2020 benötigten in Nepal 13 519 533 Menschen eine Behandlung aufgrund solch einer Krankheit (WHO, 2022b).

#### Präventive Chemotherapie und WASH

Die präventive Chemotherapie (PC) ist eine Public Health-Maßnahme, bei der bestimmte Bevölkerungsgruppen in regelmäßigen Abständen Medikamente erhalten. Die „Mass Drug Administration“ (MDA) ist eine Form der PC, bei der die Medikamentengabe bei allen Einwohnern eines bestimmten Gebietes, unabhängig von jeglichen Infektionszeichen, erfolgt (WHO, 2020). Eine PC wird in endemischen Gebieten für folgende Helminthiasen durch die WHO empfohlen: Lymphatische Filariasis, Onchozerkose, STHs und Schistosomiasis, sowie foodborne trematodiasen und Taeniasis (WHO, 2022c). In Nepal wird eine MDA für die lymphatische Filariasis und eine PC bei Kindern für STHs durchgeführt (WHO, 2022d). Der langfristige Nutzen dieser präventiven Maßnahme wurde durch mehrere Studien hinterfragt (Hughes et al., 2004; Taylor-Robinson et al., 2015). Die Weiterführung jener wird durch den Nutzen auf individueller Ebene für infizierte Kinder begründet, welche dadurch unter anderem einen einfachen Zugang zu den Medikamenten erhalten (Hawkes, 2017).

Das Akronym WASH steht für Wasser, Sanitäranlagen und Hygiene (WHO & UNICEF, 2021). Eine Meta-Analyse konnte zeigen, dass WASH-Strategien zu einer Reduktion von STHs führt (Strunz et al., 2014). In der Spalte „Prävention“ der Tabelle 15 (siehe Anhang) sind weitere solcher empfohlenen Maßnahmen für verschiedene Helminthiasen aufgeführt.

Jourdan et al. (2018) schließen in einer Veröffentlichung im Lancet, dass eine Erweiterung sowohl der WASH-Strategien als auch der PC-Maßnahmen für STHs auf zusätzliche Risikogruppen neben Schulkindern notwendig seien.

### 2.2.2 Epidemiologie

Weltweit wird die Anzahl an Helminthiasen auf zwei Milliarden Fälle geschätzt. Unter anderem auf dem asiatischen Kontinent gehören diese Parasitosen zu den häufigsten Erkrankungen von meist armen Kindern (Weatherhead and Hotez, 2015).

Die drei typischen STHs; Ascariasis, Trichuriasis und Hakenwurm-Infektion, zusammen mit der Enterobiasis, stellen weltweit die häufigsten Wurminfektionen bei Kindern dar. Die Strongyloidiasis ist weniger verbreitet als die anderen STHs. Nach den intestinalen Helminthiasen zählt Schistosomiasis, welche hauptsächlich in Afrika vorkommt, viele Fälle. Weiterhin gehören die Toxocariasis und die Zystizerkose zu den wichtigsten Wurmerkrankungen von Kindern (Weatherhead and Hotez, 2015).

Eine Metaanalyse aus Nepal zeigte einen starken Abfall der Prävalenz von intestinalen parasitären Erkrankungen (Protozoen und Helminthen) bei Schulkindern zwischen den Jahren 1996 und 2015 (Kunwar et al., 2016). Dazu zählt auch eine Studie aus der Dhulikhel-Gemeinde, die eine Prävalenz von intestinalen parasitären Erkrankungen zwischen 2008 und 2009 von 40% fand (Bhandari et al., 2011). In einer Querschnittsstudie, die 2015 in zwei Distrikten der Bagmati-Provinz, nicht weit von Dhulikhel, durchgeführt wurde, lag die Prävalenz bei Schulkindern für mehrere intestinale Parasiten nach wie vor bei 40%. Dieser Wert ist relativ hoch, wenn man bedenkt, dass die Diagnose je Proband auf einer einzigen Stuhlprobe beruhte. Für *T. trichiura* war sie bei 31%, für *Hakenwürmer* sowie für den Protozoen *Giardia lamblia* 30% und für *A. lumbricoides* 26%. Die Erreger *Enterobius vermicularis* und *Strongyloides stercoralis* wurden jeweils deutlich seltener (bei weniger als 0,5% der Kinder) festgestellt (Shrestha et al., 2018).

Im Vergleich dazu sind in Ländern wie Deutschland nur drei Helminthiasen von epidemiologischer Bedeutung: die Enterobiasis, die Toxocariasis und die Echinokokkose (Schiefke et al., 2006).

Um eine epidemiologische Aussage zu Helminthiasen treffen zu können, ist nicht nur die Infektion mit einem Wurm, im Sinne der Prävalenz, von Bedeutung. Auch die Morbidität, welche mit der Wurmlast (Anzahl an Würmern – worm burden – intensity of

infection) zusammenhängt, ist relevant. Der Grund dafür liegt in der Biologie und Übertragbarkeit der Würmer (Hotez et al., 2008).

#### Einflüsse auf die Epidemiologie

Verschiedene Faktoren haben einen Einfluss auf die Epidemiologie von Wurmerkrankungen. So spielt etwa die Umwelt eine große Rolle in der Verbreitung der Würmer. Sowohl die Temperatur als auch Regenschauer wirken sich auf die Prävalenz von intestinalen Nematoden aus (Appleton and Gouws, 1996; Hotez et al., 2008; Lai et al., 2019). Auch die Siedlungsgeographie innerhalb eines Landes beeinflusst das Vorkommen von intestinalen parasitären Erkrankungen. In Nepal gab es über einen Zeitraum von zwanzig Jahren in ländlichen Gegenden mehr Wurmerkrankungen, wohingegen in Städten vermehrt Erkrankungen mit Protozoen verzeichnet wurden (Kunwar et al., 2016). Zudem sind hygienische Aspekte, wie das Fehlen von Handseife, Risikofaktoren für intestinale Parasitosen (Shrestha et al., 2018).

Hotez et al. (2008) wiesen auf Unterschiede in der Wurmlast zwischen einzelnen Individuen hin. Dabei scheinen sowohl das Alter als auch die Häufung von Infektionen innerhalb eines Haushaltes eine Rolle zu spielen. Die Mehrheit der am häufigsten vorkommenden Helminthiasen weisen im Kindesalter die größte Wurmlast auf und fallen mit dem Alter wieder ab (Hotez et al., 2008; Weatherhead and Hotez, 2015). Die Gründe dafür sind noch nicht vollständig geklärt (Weatherhead and Hotez, 2015). Eine sich über Jahre entwickelnde Immunität des Wirtes ist eine mögliche Ursache (Woolhouse, 1998). Die Häufung von Infektionen innerhalb eines Haushaltes konnte unter anderem in einer Studie aus Mexiko für Ascariasis und Trichuriasis gezeigt werden (Forrester et al., 1988). Ein weiterer Faktor, welcher Beachtung finden soll, ist der Polyparasitismus. Dieser kommt häufig vor und bedeutet die gleichzeitige Infektion durch mehrere Erreger (Booth et al., 1998; Hotez et al., 2008; Donohue et al., 2019). In Nepal litten in einer Metaanalyse von 2016 7,7% der Kinder an mehreren intestinalen Parasiten gleichzeitig (Kunwar et al., 2016).

In einer Studie konnte bei Schulkindern auf den pazifischen Inseln ein signifikanter Zusammenhang zwischen Helminthiasen und den folgenden vier Umweltfaktoren aufgezeigt werden: fehlender Zugang zu geeigneter Wasserversorgung sowie zu einer Schulkantine, keine regelmässige Instandhaltung von Wasser- und Sanitäreinrichtungen sowie größere Schulklassen (Hughes et al., 2004).

In einem systemischen Review aus Nepal wurden insgesamt zwanzig parasitäre Zoonosen (PZ) näher untersucht und nach deren Endemizität in vier Gruppen eingeteilt: wahrscheinlich nicht endemisch; möglich endemisch; wahrscheinlich endemisch, aber nicht quantifizierbar und wahrscheinlich endemisch und quantifizierbar. Möglich endemisch bedeutet, dass es keine direkte oder indirekte Evidenz aus Nepal selbst, aber dafür Fallstudien aus den Nachbarländern Indien oder Tibet gab (Devleeschauwer et al., 2014). Die Ergebnisse der genannten Studie sind in der Spalte „Endemizität Nepal“ der Tabelle 15 im Anhang aufgeführt.

### **2.2.3 Symptome**

Die Klinik der Patienten mit Helminthiasis variiert, je nach Erreger und betroffenem Organ, deutlich. Auf die Symptome einzelner Helminthen wird in dem entsprechenden Kapitel genauer eingegangen.

Neben der akuten Wurminfektion kann es, insbesondere bei fehlender Behandlung, zu Chronifizierung der Erkrankung sowie der infektionsbedingten Schäden kommen. Dies geht mit anhaltender Belastung für den Patienten einher und stellt die hauptsächliche Krankheitslast von Helminthiasen dar (Hotez et al., 2008).

Der Ernährungsstatus von Patienten kann sich durch die Infektion mit Würmern verschlechtern. Zum Beispiel waren Kinder, die unter einer Trichuriasis litten, häufiger minderwüchsig und unterernährt (Hughes et al., 2004).

### **2.2.4 Diagnostik und Therapie**

Um Wurmerkrankungen nachzuweisen, stehen verschiedene Methoden zur Verfügung. Die Mikroskopie wird in endemischen und insbesondere ärmeren Ländern nach wie vor am meisten genutzt (Shrestha et al., 2018; Momcilovic et al., 2019). Serologische Analysen stellen ein weiteres mögliches Diagnostikum dar, sind allerdings nicht weltweit verfügbar (Shrestha et al., 2012a). In Nepal stehen weniger diagnostische Möglichkeiten als in Ländern wie Deutschland zur Verfügung. Deshalb stellen dort die Anamnese und die klinische Untersuchung einen besonders wichtigen Pfeiler der Diagnostik dar (Shrestha et al., 2012b).

Zur Behandlung von Helminthiasen kommen verschiedene Methoden zum Einsatz (siehe Anhang, Tabelle 15). Neben Anthelminthika sind teilweise endoskopische oder operative Verfahren notwendig. Manche Helminthiasen bedürfen keiner Therapie

(Mehlhorn, 2012b; WHO, 2020; CDC, 2022). Eine genauere diagnostische und therapeutische Vorgehensweise wird für diverse Erreger anschließend beschrieben.

### 2.2.5 Einzelne Helminthen

Im Folgenden wird auf die für Nepal und diese Arbeit bedeutsame Erreger näher eingegangen.

#### Zystische Echinokokkose

Diese Erkrankung gibt es weltweit (CDC, 2022). In Nepal wird die zystische Echinokokkose als wahrscheinlich endemisch und quantifizierbar beschrieben. Das Vorkommen der Erkrankung liegt bei 145 Inzidenzfällen in einem Jahr (Devleesschauwer et al., 2014). *Echinococcus granulosus* wird am häufigsten über direkten oder indirekten Kontakt mit Eiern infiziertem Hundekot auf den Menschen übertragen. Dieser stellt dabei einen Fehlwirt dar. Der Erreger gelangt über die Darmwand in den Blutkreislauf und entwickelt sich, hauptsächlich in der Leber und der Lunge, als Zyste weiter. Häufig bleiben Patienten lange asymptomatisch. Beim Wachsen kann die Zyste zu Symptomen führen, die sich je nach betroffenem Organ unterscheiden. Nach der Anamnese erfolgt zur Diagnostik eine Bildgebung, die über einen serologischen Test bestätigt werden kann (CDC, 2022). Zum Zeitpunkt der Ansteckung scheint die Zahl an Eosinophilen kurzzeitig zu steigen (van Balkum et al., 2018). Bei intakter Zyste geht die Erkrankung im Verlauf meistens ohne Eosinophilie einher. Hingegen kann das Platzen einer Zyste eine Erhöhung der AEC für Tage bis Wochen hervorrufen (O'Connell and Nutman, 2015). Zur Behandlung stehen neben chirurgische Maßnahmen, die Punktion, sowie Anthelminthika zur Verfügung (CDC, 2022). Lediglich 10-20% der Fälle mit zystischer Echinokokkose werden bereits bei Kindern diagnostiziert. Aufgrund der langen asymptomatischen Phase der Zoonose wird diese meistens erst im Erwachsenenalter erkannt (Moro and Schantz, 2009).

#### Zystizerkose

Diese Erkrankung gibt es vor allem in ländlichen Regionen ärmerer Länder (CDC, 2022). In Nepal wurde sie als wahrscheinlich endemisch und quantifizierbar beschrieben. Die meisten in dem Land publizierten Fallstudien berichten über die Neurozystizerkose (NZ) (Devleesschauwer et al., 2014). Laut der WHO Endemizität 2022 gilt Nepal als endemisch für den Bandwurm *Taenia solium* (WHO, 2022e). Die Übertragung erfolgt über den fäkal-oralen Weg. Hierbei werden die Eier über direkten oder indirekten Kontakt mit *Taenia* infiziertem, menschlichen Kot aufgenommen.

Danach wandern die Larven in unterschiedliche Gewebe, wie zum Beispiel in die Muskulatur oder in das Gehirn. Insbesondere beim Absterben der Zysten können Symptome in den respektiven Organen auftreten. Dies kann auch erst Jahre nach Erstinfektion geschehen. Häufig nimmt die Erkrankung jedoch einen milden Verlauf. Eine Ausnahme stellt die NZ, der Befall vom Gehirn, dar. Diese hat als häufigste Symptome Krampfanfälle und Kopfschmerzen und kann sogar zum Tod führen. Die Diagnose erfolgt über die Bildgebung und serologische Untersuchungen (CDC, 2022). Die Infizierung kann anfangs mit einer moderaten bis schweren Eosinophilie einhergehen. Später zeigen nur wenige Patienten (>15%) eine Erhöhung dieser Leukozyten (Leder and Weller, 2000; van Balkum et al., 2018). Bei der NZ kann es zu einer milden Eosinophilie des Liquors (<50 Zellen/ $\mu$ l) kommen (O'Connell and Nutman, 2015). Die Zystizerkose wird mittels Anthelminthika und gegebenenfalls chirurgischer Intervention behandelt. Bei der NZ muss oft eine zusätzliche symptomatische Behandlung mit zum Beispiel Antiepileptika erfolgen (CDC, 2022). Die Zystizerkose zählt zu den bei Kindern häufig vorkommenden Wurmerkrankungen (Weatherhead and Hotez, 2015).

#### Sparganose

Diese Erkrankung kann durch verschiedene Zestoden der Gattung *Spirometra* verursacht werden und kommt vermehrt in Südostasien vor (CDC, 2022). In Nepal wurde sie als möglich endemisch beschrieben (Devleeschauwer et al., 2014). Der Wurm infiziert primär Katzen und Hunde, während der Mensch einen Nebenwirt darstellt. Die Übertragung erfolgt über die Einnahme von infiziertem Wasser oder eines nicht durchgekochten Zwischenwirtes. Darunter fallen Krustentiere, Fische und Amphibien. Die Symptome unterscheiden sich, je nach betroffenem Organ, deutlich. Unter anderem kann das subkutane Gewebe, das ZNS oder die Lunge befallen sein (CDC, 2022). Die pulmonale Sparganose kann dem Bild einer eosinophilen Pneumonie sehr ähneln und damit verwechselt werden (Liu et al., 2015). Zur Diagnostik wird der Erreger im befallenen Gewebe nachgewiesen. Bei einem ZNS-Befall kann der Liquor mittels ELISA untersucht werden (O'Connell and Nutman, 2015). Die Infektion mit *Spirometra* spp. kann mit einer Eosinophilie einhergehen (Campbell and Beals, 1977; Leder and Weller, 2000; Liu et al., 2015). Zur Behandlung wird der Erreger, wenn möglich, operativ entfernt oder anhand einer lokalen Chemotherapie bekämpft. Wenn beides nicht möglich ist, wird Praziquantel gegebenenfalls zusammen mit Dexamethason verabreicht. Letzteres zeigt bei

*Spirometra proliferum* keine Wirkung (Liu et al., 2015). Es wurden bereits, wenn auch nicht mehrheitlich, Sparganose-Fälle im Kindesalter beschrieben (Kim et al., 2018).

#### Hymenolepiasis

Die Gattung *Hymenolepis*, auch *Rodentolepis* genannt, gehört zu den Bandwürmern. Menschen werden typischerweise mit den Arten *H. nana* und *H. diminuta* infiziert. Nagetiere fungieren als primäre Endwirte für *H. microstoma*. Dennoch wurden in vereinzelten Fällen Eier dieses Wurms im Menschen nachgewiesen. Die Eier von *H. nana* und *H. microstoma* sind unter dem Mikroskop nicht klar voneinander zu unterscheiden (Macnish et al., 2003; Soares Magalhaes et al., 2013). Die Übertragung von *H. nana* erfolgt über die Einnahme von mit Eiern kontaminiertem Wasser, Lebensmitteln oder Erde. Der Wurm entwickelt sich im GIT, kann sich dort vermehren und zu einer Autoinfektion führen. Meistens verläuft die Infektion asymptomatisch. Sie führt zum Teil zu Übelkeit, GIT-Beschwerden und Diarrhö. Zur Diagnostik wird der Stuhl unter dem Mikroskop auf Eier untersucht (CDC, 2022). Die Hymenolepiasis kann mit oder ohne Eosinophilie einhergehen (Leder and Weller, 2000; O'Connell and Nutman, 2015). Praziquantel ist das Mittel der Wahl zur Behandlung (CDC, 2022). Die Infektion mit *H. nana* betrifft typischerweise Kinder (Soares Magalhaes et al., 2013; CDC, 2022). Auch in Nepal wurde *H. nana* bei Schulkindern nachgewiesen (Shrestha et al., 2018).

#### Schistosomiasis

*Schistosoma mansoni* ist ein bekannter humanpathogener Saugwurm, der zu den NTDs gehört (WHO, 2020). Diese Art der Gattung *Schistosoma* ist in Südamerika und auf der Karibik zu finden (Tefferi et al., 2006). In Nepal gilt die Schistosomiasis allgemein als nicht endemisch (Devleesschauwer et al., 2014; WHO, 2020). Die Übertragung aller Arten erfolgt beim Kontakt mit infiziertem Süßwasser. Dabei tritt der Erreger über die Haut in den Körper ein (CDC, 2022). Schistosomiasis ist eine fieberhafte Erkrankung und betrifft primär den GIT bei *S. mansoni* und *S. japonicum* oder den Urogenitaltrakt bei *S. haematobium* (Ravin and Loy, 2016). Generell kann sich der Erreger über lange Zeit im Körper des Wirts aufhalten (O'Connell and Nutman, 2015). Zur Diagnostik wird Stuhl oder Urin unter dem Mikroskop auf Eier untersucht. Dies sollte drei Mal an unterschiedlichen Tagen erfolgen, um die Sensitivität des Tests zu erhöhen. Alternativ kann ein Antikörpersuchtest in Form einer Serologie gemacht werden (CDC, 2022). Die Erkrankung geht häufig mit einer Eosinophilie einher

(O'Connell and Nutman, 2015). Insbesondere im frühen Stadium der Infektion, beim Wandern des Erregers durch das Gewebe, sind hohe Werte zu verzeichnen (Leder and Weller, 2000). Die Behandlung erfolgt mittels Praziquantel (CDC, 2022). Schistosomiasis gehört zu den häufigsten Wurminfektionen bei Kindern (Weatherhead and Hotez, 2015). Der Höhepunkt der Wurmlast liegt im Jugendalter (Hotez et al., 2008).

### **Foodborne Trematodiasis**

#### Paragonimiasis

Die Erkrankung wird am häufigsten durch *Paragonimus westermani* verursacht, der in verschiedenen Teilen Asiens zu finden ist (CDC, 2022). In Nepal wurde sie als wahrscheinlich endemisch beschrieben (Devleesschauwer et al., 2014). Dennoch scheint unklar zu sein, um welche Art (*P. westermani* oder *P. heterotremus*) es sich dabei handelt (Blair, 2014). Die Übertragung erfolgt durch die Einnahme von rohen oder ungenügend gekochten Flusskrebse und Krabben (CDC, 2022). Letztere werden in Nepal traditionell als günstige Nahrungsquelle oder als Zootherapie eingenommen. Beispielsweise wurde beschrieben, dass die Tamang-Kaste Krabben gegen Gastritis und bei Kindern gegen Enuresis nutzt (Lohani, 2010). Weitere ethnische Gruppen verwenden Krabben als Puder auf blutenden Wunden, zur Behandlung von Asthma oder gegen Herpes Zoster (Lohani, 2011; Rai and Singh, 2015). Im Dünndarm entwickelt sich der Parasit weiter und dringt dann als Larve über die Darmwand und das Diaphragma bis in die Lunge. Auch andere Organe können betroffen sein. Für den weiteren Lebenszyklus gelangen die Eier entweder durch das Abhusten direkt in die Umwelt oder werden durch das Schlucken von Sputum über den Stuhl eliminiert. Eine Mensch-zu-Mensch Übertragung ist nicht möglich. Neben Bauchschmerzen können die Symptome bei einem Lungenbefall denen einer Tuberkulose oder einer Bronchitis ähneln. Dabei sind häufig Auffälligkeiten im Röntgen-Thorax zu sehen. Asymptomatische Verläufe sind ebenfalls möglich (CDC, 2022). Die Erkrankung wird meist über das Mikroskopieren von Eiern aus dem Sputum oder dem Stuhl, welches zwar spezifisch, aber nicht sensibel ist, diagnostiziert (Sah and Khadka, 2017). Serumuntersuchungen mittels ELISA liefern zuverlässigere Ergebnisse (Narain et al., 2005). Bei vielen Patienten sind hohe Werte an Eosinophilen während des Beginns der Erkrankung zu erwarten, sprich dem Zeitpunkt der Durchdringung der Larven des Darms zum Zielgewebe (CDC, 2022). Im Laufe der Erkrankung kommt es zu einem Abfall der Werte (Leder and Weller, 2000; Nakamura-

Uchiyama et al., 2001). Behandelt wird die Paragonimiasis mittels Praziquantel (CDC, 2022). Die Paragonimiasis wird zwar nicht als typische Wurmerkrankung für das Kindesalter beschrieben, dennoch berichten mehrere Publikationen über betroffene Patienten im jüngeren Alter (Singh et al., 2009; Sah and Khadka, 2017; Peng et al., 2018).

#### Fascioliasis

Neben den eigentlichen Endwirten, Rindern und Schafen, können auch Menschen an Fascioliasis erkranken. Die zwei häufigsten Arten sind *Fasciola hepatica* und *Fasciola gigantica*. Infektionen mit *F. hepatica* wurden weltweit beschrieben, wohingegen *F. gigantica* seltener und in weniger Ländern verzeichnet wurde (CDC, 2022). In Nepal ist die Erkrankung wahrscheinlich endemisch (Devleeschauwer et al., 2014). Auf dem Land lebende Menschen sowie Kinder im Schulalter scheinen häufiger betroffen zu sein (Rayulu and Sivajothi, 2022). In einer Studie aus Pakistan wurde eine saisonale Häufung mit einem Gipfel im August und im Januar beobachtet (Qureshi et al., 2016). Die Übertragung erfolgt über den Konsum von infizierten rohen oder nicht durchgekochten Wasserpflanzen, wie Kresse (CDC, 2022). Um welche Kresseart es sich genau handelt, geht aus den Publikationen meist nicht hervor (Mas-Coma et al., 2018). In einem Fallbericht aus Nepal hatte eine mit *Fasciola hepatica* infizierte Patientin laut Anamnese regelmäßig Kresse (water-cress) gegessen (Sah et al., 2017). Im Duodenum durchwandert der Erreger die Darmwand und gelangt über die Leber in die Gallenwege. In der akuten Phase können die Betroffenen an Übelkeit, Erbrechen und Bauchschmerzen leiden. Weiterhin sind systemische Beschwerden wie Fieber möglich. Chronisch kann der Wurm zu einer Verlagerung der Gallenwege mit den entsprechenden Symptomen führen. Beide Phasen können ebenso asymptomatisch verlaufen. Das Standard-Diagnostikum ist die Stuhlmikroskopie. Die Eier lassen sich allerdings erst in der chronischen Phase der Erkrankung, entsprechend drei bis vier Monate nach der Infektion, nachweisen. Zudem kann man sie leicht mit den Eiern von *Fasciolopsis buski* verwechseln. Weiterhin sind falsch-positive Befunde nach dem Konsum von infizierter Leber möglich. Als Alternative ist die Serologie, bei welcher Antikörper bereits zwei bis vier Wochen nach Infektion nachweisbar sind, ein mögliches Diagnostikum (CDC, 2022). Die akute Phase geht bei nahezu allen Betroffenen mit hohen Eosinophilen-Werten einher, welche im Verlauf wieder abfallen (Leder and Weller, 2000; van Balkum et al., 2018). Zur Therapie wird das Anthelminthikum Triclabendazol genutzt (CDC, 2022).

## Dicrocoeliasis

Der Saugwurm *Dicrocoelium dendriticum* befällt nur selten Menschen. Wiederkäuer sind die typischen Endwirte. Der Parasit ist auf verschiedenen Kontinenten anzutreffen, darunter auch in Asien. Fälle aus Nepal wurden in der Literatur bisher nicht beschrieben. Die Übertragung erfolgt über die orale Aufnahme infizierter Ameisen. Der Verlauf ist meist asymptomatisch. Bei schwerer Infektion kann es zu einer Cholezystitis, Leberabszessen und allgemeinen GIT-Beschwerden kommen. Die Diagnostik erfolgt über den mikroskopischen Nachweis von Eiern im Stuhl, in Gallen- oder duodenaler Flüssigkeit. Dabei muss beachtet werden, dass es zu falsch-positiven Ergebnissen kommen kann, wenn der Patient zuvor infizierte Leber gegessen hat (CDC, 2022). Die Dicrocoeliasis kann akut mit einer Eosinophilie einhergehen (Magi et al., 2009; O'Connell and Nutman, 2015; Raj et al., 2022). Aufgrund der Seltenheit der Erkrankung gibt es keine Studien zur medikamentösen Behandlung. Imidazole, Praziquantel und Mirazid wurden in Fallberichte erfolgreich eingesetzt (Massoud et al., 2003; Magi et al., 2009). Die Infektion wurde auch bei Kindern beschrieben (Jeandron et al., 2011).

## Soil-Transmitted Helminthiasis (STHs)

Zu den STHs werden *Ascaris lumbricoides*, *Trichuris trichiura*, *Strongyloides stercoralis* und die Hakenwürmer *Ancylostoma duodenale* und *Necator americanus*, gezählt, welche zu den NTDs zählen (WHO, 2020).

Im Jahr 2010 wurde die Anzahl an Infektionen weltweit durch *A. lumbricoides* auf 819 Millionen, durch *T. trichiura* auf 465 Millionen und durch Hakenwürmer auf 439 Millionen geschätzt (Pullan et al., 2014). Für die Gesamtbevölkerung von Nepal errechneten Lai et al. (2019) die Prävalenz der STHs 2015 auf 27,1%. Dies entsprach der zweithöchsten Prävalenz der untersuchten Länder aus Südasien. Die Anzahl der infizierten Schulkinder lag bei circa 2.040.000. Darunter war *A. lumbricoides* die häufigste Ätiologie.

Die Wurmlast von Ascariasis und Trichuriasis zeigt ein Maximum im Schulalter und fällt danach deutlich ab, wohingegen die Intensität der Erkrankung von Hakenwürmern mit dem Alter stetig zunimmt (Hotez et al., 2008; Weatherhead and Hotez, 2015). Mehr als eine Milliarde Kinder weltweit benötigten im Jahr 2020 laut der WHO eine PC für STHs. Davon leben mehr als die Hälfte in Südostasien. In Nepal lag die Zahl bei über

acht Millionen Kindern. Die Chemotherapie besteht in diesem Fall aus Albendazol oder Mebendazol (WHO, 2022e).

#### Ascariasis

Zwei Arten können zu Ascariasis führen: *Ascaris lumbricoides* und *Ascaris suum*. Die erste ist weltweit für viele Wurminfektionen des Menschen verantwortlich, wohingegen die zweite primär Schweine infiziert (CDC, 2022). Ascariasis ist in Nepal wahrscheinlich endemisch und gilt als eine typische Infektion von Kindern (Devleeschauwer et al., 2014; Weatherhead and Hotez, 2015). Die Übertragung erfolgt über die orale Einnahme von Eiern, insbesondere an Orten mit schlechten hygienischen Bedingungen. Die Larven des *A. lumbricoides* wandern dabei durch die Darmmukosa in die Lunge, wo sie sich weiterentwickeln. Dort gelangen sie ins Bronchialsystem, um dann vom Wirt erneut geschluckt zu werden und als erwachsene Würmer im GIT zu gedeihen. Die Infektion kann asymptomatisch verlaufen. Bei hoher Wurmlast treten unter anderen GIT-Beschwerden und Husten auf (CDC, 2022). Zur Diagnostik wird stets primär die Stuhlmikroskopie genutzt. Dabei können sowohl Eier und seltener die Würmer selbst identifiziert werden. Weiterhin besteht die Möglichkeit, Larven im Sputum oder Magensaft zu finden (CDC, 2022). Bildgebende Verfahren wie Ultraschall, Röntgen, CT oder MRT können Hinweise auf die Erkrankung liefern (Jourdan et al., 2018). Der Beginn der Infektion mit *A. lumbricoides* geht, bei der Durchwanderung des Gewebes, mit einer moderaten bis hohen Eosinophilie einher. Später, wenn der ausgewachsene Wurm im GIT ist, fällt die Zellzahl wieder ab (Leder and Weller, 2000; van Balkum et al., 2018). Ascariasis kann sowohl mit Albendazol als auch Mebendazol behandelt werden. Zudem steht Ivermectin als Alternative zur Verfügung (Jourdan et al., 2018; CDC, 2022). Außerdem sind präventive Maßnahmen wie Händewaschen nachweislich nützlich und werden von der WHO empfohlen (Strunz et al., 2014; WHO, 2020).

#### Trichuriasis

Die weltweit vorkommende Erkrankung wird durch den Fadenwurm *Trichuris trichiura* verursacht (CDC, 2022). Wie die Ascariasis wurde ebenso die Trichuriasis in Nepal als wahrscheinlich endemisch gewertet und kommt vermehrt bei Kindern vor (Devleeschauwer et al., 2014; Weatherhead and Hotez, 2015). Die Übertragung erfolgt fäkal-oral insbesondere beim Vorherrschen schlechter hygienischer Bedingungen. Nach der Einnahme von Eiern entwickelt sich der Parasit im GIT weiter

zur Larve und schließlich zum Wurm. Auch hier kann die Infektion asymptomatisch verlaufen. Bei Symptomen kann es zu schmerzhafter Diarrhö bis zum Rektalprolaps kommen. Gleichzeitig sind Anämie und Entwicklungsverzögerung gerade bei Kindern möglich. Zur Diagnostik ist auch hier der mikroskopische Nachweis von Eiern Standard (CDC, 2022). Die Infektion geht mit einer milden Eosinophilie einher (Leder and Weller, 2000; Schulte et al., 2002). Albendazol, Mebendazol, Ivermectin oder Pyrantelmonat können therapeutisch eingesetzt werden, wobei die Wirkung der einzelnen Anthelminthika sich bei Trichuriasis als nicht sehr gut herausstellen (Jourdan et al., 2018). Auch hier sind zur Prävention eine Verbesserung der WASH-Maßnahmen wichtig (Strunz et al., 2014; WHO, 2020).

#### Hakenwurmkrankheit

*Ancylostoma duodenale* und *Necator americanus* sind die zwei häufigsten humanpathogenen Arten unter den Hakenwürmern und auf der ganzen Welt zu finden. Auch *A. ceylanicum* kann den Menschen infizieren (CDC, 2022). Wie die anderen STHs sind die Hakenwürmer in Nepal wahrscheinlich endemisch (Devleeschauwer et al., 2014). Im Vergleich zu Ascariasis und Trichuriasis ist diese Erkrankung zwar weniger typisch für Kinder, kommt dennoch häufig vor (Weatherhead and Hotez, 2015). Die Übertragung erfolgt über Kontakt mit kontaminiertem Boden. Die Larven gelangen durch die Haut in den Wirt und wandern über die Blutbahn zur Lunge. Dort gehen sie über das Bronchialsystem in Richtung des Pharynx, wo der Wirt die Larven schluckt. Im GIT, besonders im distalen Jejunum, wachsen diese zu erwachsenen Würmer heran. Bei starker Wurmlast kann es zu Anämie und Proteinmangel kommen. Auswirkungen können bei Kindern mentale Retardierung und Wachstumsstörungen sein. Wie bei den anderen STHs ist das Diagnostikum der Wahl die Stuhlmikroskopie (CDC, 2022). Es kommt häufig zu einer ausgeprägten Eosinophilie. Die Maximalwerte sind in der sechsten bis neunten Woche nach der Infektion zu verzeichnen. Im späteren Verlauf der Erkrankung ist sie mild bis moderat (Maxwell et al., 1987; Leder and Weller, 2000). Therapeutisch können Albendazol oder Mebendazol eingesetzt werden (Jourdan, 2018).

Eine Aufführung an weiteren Helminthiasen, die mit einer Eosinophilie einhergehen können, sind in der Tabelle 15 (siehe Anhang) zu finden.

## **2.3 Nepal**

Nepal ist, laut der neusten Konstitution vom 20. September 2015, eine demokratische Bundesrepublik. Das Land ist in sieben Provinzen mit insgesamt 77 Distrikten aufgeteilt (2015). Die Bevölkerung Nepals wurde im Jahr 2020 durch die UN auf 29 137 Mio. Einwohner geschätzt (United Nations, 2019). Das Bruttoinlandprodukt pro Kopf ist in den letzten Jahren stetig gestiegen (2010/11 58 843 Nepalesische Rupies (NRs); 2020/21 130 957 NRs). Im Jahr 2019 galten 17,4% der Bevölkerung als arm, was eine deutliche Senkung der Armutsinzidenz im Vergleich zum Jahr 2014 mit 30,1% darstellt (Government of Nepal, 2021b). Dennoch gehört Nepal, sozialökonomisch betrachtet, zu einem der am wenigsten entwickelten Ländern der Welt (Least Developed Countries) (WHO & UNICEF, 2021).

### **2.3.1 Geografie**

Das Land ist zwischen den zwei bevölkerungsreichsten Ländern der Welt, Indien und China, lokalisiert. Nepal kann von Norden nach Süden in fünf Regionen wie folgt aufgegliedert werden: Das Hochgebirge (>5 000m); das Mittelgebirge (3 000-5 000m); das Mittelland (1 000-3 000m); die Siwaliks (300-1 000m) und das Terai (<300m). Sowohl das Kathmandutal mit der Hauptstadt Kathmandu als auch die zweitgrößte Stadt Pokhara befinden sich im Mittelland. Es fällt auf, wie sich das Land von niedriger Höhe bis zu den höchsten Bergen der Welt erstreckt. Das Klima variiert stark von einem arktischen Klima im Norden bis zu einem tropischen Klima im Süden. Nepal hat vier Jahreszeiten: Winter (Dezember bis Februar); Frühling (März bis Mai); Sommer (Juni bis August) und Herbst (September bis November). Besonders hervorzuheben ist der Monsun während der Sommerzeit, der für seine starken Regenfälle typisch ist. Von Osten nach Westen wird das Land in drei Flusssysteme aufgeteilt: das Kosi-, das Gandaki (Narayani)- und das Karnali-Flusssystem (siehe Abbildung 2). Alle drei fließen in Nordindien in den Ganges (Central Bureau of Statistics, 2014).



Abbildung 2: Karte von Nepal mit Relief und Hauptgewässern (Feher)

### 2.3.2 Sprache und Bildung

Nepali (auch Nepalesisch) ist die offizielle und meistgesprochene Sprache. Für 44,6% der Bevölkerung ist dies die Muttersprache, wobei insgesamt etwa 123 zusätzliche lokale Sprachen im Land gesprochen werden (Central Bureau of Statistics, 2012). Durch das Fernsehen und die geographische Nähe zu Indien verstehen viele Nepalesen Hindi. Für die internationale Kommunikation wird viel Englisch gesprochen und an den Schulen unterrichtet. Die Alphabetisierungsrate verbessert sich stetig. Während diese 2001 noch bei allen Personen über fünf Jahren bei 54,1% lag, lag sie 2011 bei 65,9% der Bevölkerung (Central Bureau of Statistics, 2012).

### 2.3.3 Kultur und Religion

Der Glaube innerhalb Nepals kennzeichnet sich durch verschiedene Religionen, im Wesentlichen Hinduismus (81,3%) und Buddhismus (9%) (Central Bureau of Statistics, 2012).

In Nepal gibt es, ähnlich wie in Indien, eine Einordnung gesellschaftlicher Gruppen in Form eines Kastensystems. Im aktuellen Grundgesetz steht, dass jedem „freedom of opinion and expression“ ((2015) Teil 3, 17. (2) (a)), „Right to equality“ ((2015) Teil 3, 18) und „Right against untouchability and discrimination“ ((2015) Teil 3, 24) zusteht. Letzteres geht explizit auf das Verbot jeglicher auf das Kastensystem beruhender Diskriminierung ein. Allerdings ist diese Form der sozialen Schichtung im Alltag weit verbreitet, obwohl dies nicht im Sinne der Verfassung ist. In der Volkszählung aus dem Jahr 2011 wurden 126 verschiedene Kasten beschrieben. Davon waren die Kasten Chhethri (16,6 %), Brahman-Hill (12,2%) und Magar (7,1%) am meisten verbreitet (Central Bureau of Statistics, 2012).

### 2.3.4 Wohnen und Hygiene

Im Jahr 2011 gab die Mehrheit der Bevölkerung (41%) an, ihre Häuserwände mit Schlamm gebundenen Ziegeln oder Steinen gebaut zu haben. Zum Kochen verbrannten über 60% der Einwohner Holz. Etwa 20% benutzten Flüssiggas, 10% getrocknete Kuhfladen und nur wenige Biogas, Petroleum oder noch seltener Strom (Central Bureau of Statistics, 2012).

Im gleichen Jahr hatte ein Drittel der Haushalte eine Toilette mit Klärbehälter vor Ort, circa 20% eine einfache Grubentoilette (Trockentoilette), weniger als 10% hatte Anschluss an eine öffentliche Kanalisation und mehr als ein Drittel hatte keine Toilette im Haus (Central Bureau of Statistics, 2012). Zwar kam es zwischen 2015 und 2020 zu einem großen Fortschritt (von 59% auf 77%) bei dem Zugang von sanitärer Grundversorgung (basic sanitation service), definiert als „use of improved facilities that are not shared with other households“, allerdings lag die sichere Sanitärversorgung (safely managed sanitation services), bei der zusätzlich die Exkrememente sicher entsorgt werden, 2020 erst bei 49% (WHO & UNICEF, 2021).

2011 kam das Trinkwasser für fast 50% der Einwohner aus der Leitung, 35% pumpten es aus Rohrbrunnen und 2,4% bezogen es aus einem geschlossenen Brunnen. Diese gelten als sichere Trinkwasserquellen. Die restliche Population bezog ihr Wasser aus offenen Brunnen, aus Spouts (traditionelle nepalesische Brunnen) oder direkt aus dem Fluss (Central Bureau of Statistics, 2014). Laut einem Bericht der WHO und UNICEF (2021) hatten im Jahr 2020 mindestens 90% der Bevölkerung Zugang zur Wassergrundversorgung, definiert als verbesserte Wasserversorgung, welche binnen maximal 30 Minuten zur Verfügung steht. Darunter hatten allerdings nur 18% Zugang zu einer sicheren Trinkwasserversorgung (Safely managed drinking water services). Dieser Begriff wird definiert als „drinking water from an improved source that is accessible on premises, available when needed and free from faecal and priority chemical“.

Landesweit betrug die hygienische Grundversorgung (basic hygiene coverage) definiert als „availability of handwashing facility with soap and water at home“ 62%. Auf dem Land stellte sich die Versorgung mit 59% geringer heraus als mit 75% in den Städten (WHO & UNICEF, 2021).

## **2.4 Gesundheit und Gesundheitssystem**

### **2.4.1 Gesundheitssituation**

Die Lebenserwartung bei Geburt in Nepal lag 2019 mit 70,9 Jahren unter dem weltweiten Durchschnitt von 73,3 Jahre. Im selben Jahr lebten die Menschen in Deutschland durchschnittlich 81,7 Jahre (WHO, 2022b).

2017 lag die mütterliche Sterblichkeit (MSR) in Nepal bei 186 pro 100 000 lebenden Geburten. Dies weist, im Vergleich zum Beginn dieses Jahrhunderts, auf einen deutlichen Fortschritt im Gesundheitsschutz von Schwangeren hin. Damals war die MSR noch drei Mal so hoch (WHO, 2022e).

Im Jahr 2016 lag die Sterblichkeitsrate in Nepal bei Menschen, die einen unsicheren WASH-Zugang hatten, bei 19,8 pro 100 000 Einwohner. Darunter fielen unter anderem auch die Infektion mit intestinalen Fadenwürmern, Hakenwurmkrankheiten, Ascariasis und Trichuriasis. Im Vergleich lag der Wert für Deutschland bei 0,59 und weltweit bei 11,71 pro 100 000 Einwohner (WHO, 2022e).

### **2.4.2 Gesundheitsversorgung**

Im Jahr 2021 waren landesweit 9 204 Gesundheitseinrichtungen, davon 6 700 öffentliche und 2 504 nicht-öffentliche (privat oder von Organisationen getragen) registriert (Government of Nepal, 2021a). Neben Krankenhäusern gibt es Zentren für eine Basisgesundheitsversorgung (primary health care centres), sowie Health Posts (HPs), welche als erste Anlaufstelle für die medizinische Grundversorgung dienen. Zudem stehen sogenannte Primary Health Care Outreach Clinics sporadisch, je nach Bedarf, der Bevölkerung zur Verfügung. Diese sind für die Gesundheitsversorgung in abgelegene Regionen wichtig. Nepal zählt außerdem zahlreiche Kliniken mit einem „Expanded Programme on Immunization“ (Government of Nepal, 2019/20).

Bereits die Erreichbarkeit der Gesundheitseinrichtung kann in Nepal eine Herausforderung darstellen. Ungefähr 62% der Nepalesen erreichen binnen 30 Minuten den nächstgelegenen HP, wohingegen nur etwa 34% in derselben Zeit das nächstgelegene öffentliche Krankenhaus erreichen. Weiterhin weist das Land eine Disparität der Versorgung zwischen städtischen und ländlichen Gebieten auf. Der größte Unterschied wurde bei der Zugänglichkeit des nächsten Krankenhauses festgestellt; 83% der städtischen, jedoch nur etwa 21% der ländlichen Haushalte erreichen die Einrichtung binnen 30 Minuten (Central Bureau of Statistics, 2011). In

ländlichen Gegenden ist es üblich, dass kranke Menschen als Erstes eine alternative traditionelle Medizinbehandlung aufsuchen (Sherchand et al., 2003).

### **2.4.3 Gesundheitsversorgung im internationalen Vergleich**

Zur Bewertung der Gesundheitsversorgung einer Region oder eines Landes, können verschiedene Marker herangezogen werden. Im Folgenden wird auf den Universal Health Coverage Service Coverage Index (UHC-SCI) und auf die Densität an Healthworker eingegangen.

Die „universal health coverage“ (UHC, auf Deutsch „universelle soziale Absicherung im Krankheitsfall“) bedeutet laut der WHO, dass alle Menschen eine qualitative Gesundheitsversorgung erhalten, ohne dabei in eine finanzielle Not zu gelangen. Der UHC-SCI ist ein Versuch, die grundlegenden Gesundheitsdienste basierend auf vierzehn Parameter in einer einzigen Zahl zwischen 0 und 100 darzustellen, wobei ein höherer Wert einer besseren Gesundheitsversorgung entspricht. Ab einem Wert von 80 spricht man von einer sehr hohen Versorgung (very high coverage) (WHO, 2022b). Im Jahr 2019 war der UHC-SCI für Nepal bei 53, was einer mittleren Versorgung (medium coverage) entspricht. Der globale Durchschnitt lag bei 67 und Deutschland bei 86. Zwischen 2000 und 2019 hat sich der UHC-SCI von Nepal um mehr als 30 Indexpunkte deutlich verbessert (WHO, 2022b).

Seit dem Beginn des Jahrhunderts ist die Anzahl an Healthworkers in Nepal stark gestiegen. 2020 waren 0,85 Ärzte und 3,3 Krankenpflegende und Hebammen pro 1 000 Einwohner tätig (WHO, 2022e). Dies entspricht beinahe dem von der WHO empfohlenen Wert, nämlich 4,45 ausgebildeten Healthworkers pro 1 000 Einwohner (Richard Scheffler et al., 2016). Im Vergleich lagen die Zahlen weltweit höher und für Deutschland deutlich höher (WHO, 2022b).

### **2.4.4 Krankenversicherung**

In der nepalesischen Verfassung steht, dass “Every citizen shall have the right to free basic health services from the State, and no one shall be deprived of emergency health services.” ((2015), Teil 3, 35). Doch besitzt Nepal noch kein fest verankertes Krankenversicherungssystem und keine Krankenversicherungspflicht. Zur Stärkung und Erweiterung der existierenden Gesundheitsversorgung wurde 2015 das „Social Health Security Development Committee“ ins Leben gerufen (Mishra et al., 2015). Inzwischen gibt es eine staatliche Krankenversicherung, das Health Insurance Program (HIP), dessen Beitritt freiwillig ist. 2020/21 waren etwa 4,2 Mio. Einwohner,

entsprechend 18,48% der Gesamtbevölkerung, darüber krankenversichert (Government of Nepal, 2021a). Dennoch sind 2019 nach wie vor fast 60% der Ausgaben im Gesundheitssystem direkt von den Haushalten bezahlt worden (WHO, 2019).

## **2.5 Dhulikhel und das Krankenhaus**

### **2.5.1 Dhulikhel**

Dhulikhel ist eine Stadt und Gemeinde (DG) (auf Nepali Nagarapalika), die sich auf 1 550 Meter über dem Meeresspiegel befindet. Sie liegt in der Bagmati Provinz (n°3) im Distrikt Kavrepalanchok (KD). Die Gemeinde ist für nepalesische Verhältnisse durch zwei wichtige Fernstraßen gut ans Verkehrsnetz angebunden. Darüber hinaus verfügt sie über eine direkte Verbindung zu der Hauptstadt Kathmandu, welche 30 Kilometer weiter nordwestlich liegt (Dhulikhel Municipality, 2022). 2011 lag die Einwohnerzahl der DG bei 14 283 (Central Bureau of Statistics, 2012). Kavrepalanchok liegt im Einzugsgebiet des Kosi-Flusses (Department of Water Resources and Irrigation, 2019). Die meisten Einwohner des KDs gehören der Tamang-Kaste an (Central Bureau of Statistics, 2014).

Zum Kochen wird in der DG zu etwa 60% Flüssiggas, zu etwa 30% Holz, im gesamten KD nur zu etwa 16% Flüssiggas, dafür zu fast 80% Holz genutzt. Ungefähr 80% der Toiletten der DG sind mit Spülung, nur circa 4% der Haushalte besitzen keine Toilette. Im KD gibt es eine andere Verteilung der Art an Sanitäreinrichtungen. Dort haben knapp 60% der Haushalte eine Spültoilette, etwa 15% eine einfache Toilette und ungefähr 25% keine Toilette. Die Mehrheit der Einwohner aus der DG und dem KD beziehen ihr Trinkwasser aus der Leitung (um die 90% und 80%). Dies liegt deutlich über dem nepalesischen Durchschnitt (Central Bureau of Statistics, 2012).

### **2.5.2 Dhulikhel Hospital (DH)**

Die Dhulikhel-Gemeinde verzeichnet dreizehn Gesundheitseinrichtungen, darunter das DH als einziges Krankenhaus. Im gesamten Distrikt von Kavrepalanchok gibt es 173 Gesundheitseinrichtungen, davon 90 Health Posts (Ministry of Health and Population, Nepal).

Das DH ist eine gemeinnützige, regierungsunabhängige Institution, welche 1996 gegründet wurde (KUSMS, 2022; Dhulikhel Hospital, 2022b). Der heutige Leiter, Prof. Dr. Ram Shrestha, war auch der Gründer des Krankenhauses.

Im Jahr 2022 hatte das DH eine Kapazität von 475 Betten und versorgte Menschen in einem Einzugsgebiet von 2,2 Millionen Einwohnern. Bis heute baut und unterstützt das Krankenhaus laufend achtzehn Gesundheitszentren (Outreach centers) in abgelegenen Gegenden des Landes (Dhulikhel Hospital, 2022b). Das DH ist außerdem ein Universitätsklinikum für die Kathmandu University School of Medical Science, eine der neunzehn medizinischen Fakultäten im Land (Government of Nepal).

In der pädiatrischen Abteilung stehen neben einer Normalstation (30 Betten auf zwei große Zimmer verteilt), eine pädiatrische und eine neugeborene Intensivstation für die jungen Patienten in einem eigenen Gebäude zur Verfügung. Eine Wochenbettstation (postnatal ward) befindet sich im Geburtshaus (birthing center). Behandelt werden Kinder von Geburt an bis zum sechzehnten Lebensjahr (Dhulikhel Hospital, 2022a). 2021 wurden im DH insgesamt 9 780 Kinder ambulant und 940 stationär behandelt (Dhulikhel Hospital, 2022b).

Ärzte und Pflegepersonal bemühen sich täglich um die Versorgung der Patienten. Zudem findet regelmäßig Studentenunterricht am Patientenbett statt.

Im DH stehen zur Diagnostik, neben der Anamnese und der körperlichen Untersuchung, eine radiologische Abteilung mit Röntgen, CT und MRT, sowie Ultraschall-Untersuchungen zur Verfügung. Weiterhin können die Blutbildbestimmung, die Blutsenkungsgeschwindigkeit, peripherer Blutausschlag, Knochenmarksuntersuchung und mikroskopische Auswertung des Stuhls zur Parasitensuche durchgeführt werden. Bei Verdacht auf Tuberkulose wird ein Mantoux-Test gemacht. Eine serologische Analyse zur Parasitensuche war zu Beginn der Studie noch nicht etabliert. Die Installation einer ersten Sequenzierungsmaschine war zu diesem Zeitpunkt in Arbeit.

Das DH arbeitet eng mit verschiedenen Partnern aus der ganzen Welt zusammen. Darunter fallen auch die DEGUM und die SGUM (Deutsche und Schweizer Gesellschaft für Ultraschall in der Medizin), die Gastroenterology Foundation e.V., sowie die Namaste-Stiftung und der Verein NepaliMed Schweiz. Auch ein Programm für pädiatrischen Ultraschall wurde durch die Gesellschaft für Internationale Kindergesundheit und Tropenpädiatrie e.V. 2017 ins Leben gerufen.

### 3 Methoden

#### 3.1 Ist-Stand und Hauptproblemstellung

Wie im Kapitel „2.1.9 Eosinophilie bei Kindern in Nepal“ aufgeführt wurden im DH in den letzten Jahren vermehrt Kinder mit hohen AEC beobachtet. Solange die Ursache der Zellerhöhung bekannt war, wurden die Patienten der Diagnose entsprechend behandelt. Häufiger war die Ätiologie unbekannt (Shrestha et al., 2012a). Die betroffenen pädiatrischen Patienten wurden nach einem hauptsächlich aus Anthelminthika bestehendem, klinikinternen, standardisierten Schema versorgt (Tabelle 1). Dies konnte mit der Annahme begründet werden, dass die Kinder an einer Erkrankung parasitärer Genese litten, da viele im Land und der Region endemisch sind und eine häufige Ursache für Eosinophilie darstellen (Rothenberg, 1998; Devleeschauwer et al., 2014; Shrestha et al., 2018). Die Behandlung begann mit den Medikamenten der Zeile „a“. Nach Beendigung jener erfolgte eine Laborkontrolle. Bei persistierender Eosinophilie wurde das nächste Präparat eingesetzt. In diesem Schema setzte sich das Ganze weiter fort. Als letztes Mittel wurden Glukokortikoide verabreicht, die bekanntermaßen die Zahl der Eosinophilen im peripheren Blut abfallen lassen (Druilhe et al., 2003; Ackerman and Bochner, 2007). Trotz alledem ging die Therapie, laut Aussagen der lokalen Ärzte, nur teilweise mit einer anhaltenden Normalisierung der Eosinophilen einher.

Reihenfolge	Medikament(e)	Dauer der Gabe	
a	Albendazol und Ivermectin 1 Dosis	3-5 Tage	Bei persistieren der Eosinophilie: b
b	Diethylcarbamazin (DEC)	1-2 Wochen	Bei persistieren der Eosinophilie: c
c	Praziquantel	3 Tage	Bei persistieren der Eosinophilie: d
d	Glukokortikoide	4-6 Wochen	Bei persistieren der Eosinophilie: e
e	Weitere Glukokortikoide		

*Tabelle 1: Typisches Behandlungsschema bei Eosinophilie im DH*

Das wiederholte Vorkommen von Kindern mit ungeklärt erhöhten AEC werfen mehrere Fragen auf:

- Was ist die zugrundeliegende Ursache der Eosinophilie dieser Kinder? Handelt es sich tatsächlich, wie durch die Ärzte vermutet, um einen parasitären Wurm?
- Ist die Ursache für alle Fälle die Gleiche, wenn man bedenkt, dass viele Parasiten mit einer Eosinophilie einhergehen können (Kovalszki and Weller, 2016)?
- Liegt eine Ursache vor, die nicht bekannterweise mit einer Eosinophilie einhergeht?
- Handelt es sich um einen unbekannt humanpathogenen Parasiten?
- Gibt es eine gemeinsame Quelle im Sinne eines Erregerreservoirs der gesuchten Ursache?
- Wie ist die epidemiologische Verteilung der Kinder mit Eosinophilie?
- Falls sich parasitäre Wurminfektionen in der Diagnostik herausstellen, wurden diese bereits in Nepal beschrieben und wenn ja, gelten sie als endemisch?
- Mit welchen Symptomen präsentieren sich die Patienten mit Eosinophilie unklarer Genese?
- Sind die routinemäßig eingesetzten diagnostischen Mittel, wie das Mikroskopieren, nicht sensitiv genug und wird der Parasit somit nicht erkannt?

Um diesen Fragen nachzugehen, wurde die Studie „Evaluation of cause of eosinophilia in children in Dhulikhel hospital and its affiliated health facilities“ (Gehring and Shrestha, 2020) 2019 ins Leben gerufen. Zur engeren Zusammenarbeit mit den örtlichen Kollegen reisten eine Biologie-Studentin und ich nach Nepal. Als Medizin-Studentin durfte ich am klinischen Alltag der pädiatrischen Abteilung vom DH teilhaben. Dies stellte einen wichtigen Schritt dar, um die dortigen Gegebenheiten sowie die Projektpartner besser kennenzulernen. Gemeinsam wurde die oben genannte Studie im Detail geplant und der Ethikantrag geschrieben. Es handelt sich um eine Fall-Kontroll-Studie und beinhaltet einen strukturierten Algorithmus für die Probandengewinnung und deren Aufnahme in die Studie. Zudem wurde ein Frage- und Untersuchungsbogen konzipiert, um unter anderem demographische und klinische Daten zu erheben und im Verlauf zwischen den Gruppen vergleichen zu können. Ebenso kamen die ELISA zur Serumanalyse und die Next Generation Sequencing (NGS) zur Stuhlanalyse zum Einsatz. In den folgenden Kapiteln der Methodik wird auf die einzelnen Bestandteile der Studie genauer eingegangen.

## **3.2 Dokumentation Eosinophilie in der pädiatrischen Abteilung im Dhulikhel Hospital**

Durch die Dokumentation sollte das Vorkommen von Eosinophilie bei pädiatrischen Patienten des DHs eingeschätzt werden. Hierfür wurde in einer durch Ärzte geführten digitalen Erfassung der Diagnosen aller pädiatrischen Patienten des DHs gezielt nach dem Begriff „Eosinophil“ gesucht. Neben der Diagnose waren der Monat und die Abteilung aufgeführt. Die Datensammlung erfolgte anonymisiert und unabhängig von dem Studienkollektiv. Die Erhebung fand zwischen den Monaten Shrawan und Poush 2076, im gregorianischen Kalender entsprechend vom 17. Juli 2019 bis zum 14. Januar 2020, statt.

## **3.3 Hypothese und Studiendesign**

### **3.3.1 Hypothese der Studie**

In der Zusammenschau der oben aufgeführten Beobachtungen, der dazugehörigen Literatur und der lokalen Gegebenheiten wurde folgende Hypothese für diese Studie gestellt: „Eosinophilia in children in Dhulikhel hospital is caused by a so far unidentified helminth parasite infection.“ (Gehring and Shrestha, 2020).

### **3.3.2 Studienziele**

Das primäre Ziel der Studie wurde unter „To find the cause of eosinophilia in children in Dhulikhel hospital and in its affiliated health facilities.“ (Gehring and Shrestha, 2020) zusammengefasst. Dies erfolgte einerseits durch die Erhebung anamnestischer und klinischer Daten mithilfe eines Frage- und eines Untersuchungsbogens. Andererseits wurde konkret versucht, parasitäre Wurminfektionen im Stuhl und/oder Serum der Probanden der Fallgruppe nachzuweisen. Als weiteres Ziel sollte das Erregerreservoir der im Fall der Bestätigung der Hypothese parasitären Ursache mithilfe des Fragebogens gefunden werden. Außerdem sollte dank der Studie im Allgemeinen die NGS-Analytik im Bereich der Eukaryoten weiterentwickelt werden.

Ein weiterführendes Ziel war es, im Falle der Bestätigung der Hypothese, ein entsprechendes Diagnostikum vor Ort zu etablieren, durch primärprophylaktische Maßnahmen Infektionen zu verhindern (Händewaschen, Aufklärung über Hygiene in Schulen, etc.) und den Patienten eine gezielte und spezifischere Therapie anzubieten (Gehring and Shrestha, 2020).

Die in dieser Dissertation beschriebene Studie dient unter anderem als Pfeiler und Start für einen längerfristigen und intensiveren Austausch zwischen den pädiatrischen Abteilungen der Universitätsmedizin Mainz und des DHs. Aus dieser Zusammenarbeit soll sowohl ein kultureller als auch ein wissenschaftlicher Austausch und Fortschritt entstehen. Sowohl Ärzte, Biologen, wissenschaftliche Mitarbeiter, Studenten und weitere Mitarbeiter beider Kliniken sind involviert.

### **3.3.3 Studiendesign**

Die Studie „Evaluation of cause of eosinophilia in children in Dhulikhel hospital and its affiliated health facilities“ ist eine prospektive Fall-Kontroll-Studie. Da keine Intervention geplant ist, stand ein Studiendesign mit mehr Aussagekraft im Sinne einer randomisierten kontrollierten Studie nicht zur Auswahl. Trotz Komplexität der Fragestellung wurde nicht eine reine Beobachtungsstudie einzelner Fälle vorgenommen, sondern auch eine Kontrollgruppe geplant. So können anhand der Kontrollwerte die Daten auch bei der geringen Fallzahl, die durch die spezifische Studienpopulation zustande kommen, statistisch ausgewertet werden.

## **3.4 Setting**

Die Studie vergleicht Kinder mit (Fälle) und ohne (Kontrollen) Eosinophilie. Die Probanden wurden im DH, sowohl in der ambulanten pädiatrischen Abteilung als auch auf der pädiatrischen Station, rekrutiert. Im Verlauf soll die Stichprobe auf die angegliederten Gesundheitseinrichtungen des Krankenhauses erweitert werden (Gehring and Shrestha, 2020). Das Krankenhaus wurde ausgesucht, weil dort bereits eine Studie durchgeführt wurde, die die Problematik beschrieben hat (Shrestha et al., 2012a) und die Ärzte vor Ort vermehrt erhöhte AEC bei Kindern im klinischen Alltag beobachtet haben.

### **3.4.1 Probanden**

Die Probanden sind Kinder von zwei bis sechzehn Jahre aus der pädiatrischen Abteilung des DHs. Da ältere Patienten im DH nicht mehr in der Kinderklinik behandelt werden (Dhulikhel Hospital, 2022a), wurde sich für eine obere Altersgrenze von sechzehn Jahren entschieden. Die untere Grenze wurde aufgrund fehlender Zulassung für antiparasitäre Behandlung bei jüngeren Kindern gesetzt. Zudem waren in der 2012 im DH durchgeführten Studie die meisten Kinder mit Eosinophilie zwischen fünf und zehn Jahre alt (Shrestha et al., 2012a).

Die Probanden der Studie können sich sowohl symptomatisch als auch asymptomatisch präsentieren. Eine Einwilligung der Eltern beziehungsweise Erziehungsberechtigten wird vorausgesetzt (Gehring and Shrestha, 2020).

### **3.4.2 Fallgruppe**

#### Einschlusskriterien

In dieser Arbeit und im Rahmen der Studie wurde in Anlehnung an die Definition von Valent et al. (2012) ein AEC im Blut ab 500 Zellen/ $\mu$ l als Eosinophilie bezeichnet. Somit wurde als Einschlusskriterium eine absolute eosinophilen Zellzahl von über 500/ $\mu$ l bestimmt (Gehring and Shrestha, 2020).

#### Ausschlusskriterien

Patienten, die in die Studie nicht einwilligten, keine Blut- und Stuhlproben abgeben wollten oder multimorbide waren, wurden ausgeschlossen. Gleiches galt für Patienten bei denen die Ursache der Eosinophilie ein bekanntes Asthma, Allergie oder Krebs war (Gehring and Shrestha, 2020). Neben den Parasiten sind Allergien, Asthma und Krebs häufige Ursachen für eine Eosinophilie (Tefferi et al., 2006; Sreedharanunni et al., 2018).

### **3.4.3 Kontrollgruppe**

#### Einschlusskriterien

Probanden in der Kontrollgruppe waren Patienten, die in der Kinderklinik im DH aufgrund milder Gesundheitsprobleme und einem AEC unter 500/ $\mu$ l behandelt wurden (Gehring and Shrestha, 2020).

#### Ausschlusskriterien

Patienten, die in die Studie nicht einwilligten, keine Blut- und Stuhlproben abgeben wollten, multimorbide waren oder ein AEC von über 500/ $\mu$ l hatten, wurden ausgeschlossen. Weiterhin waren eine Entwurmungs- oder sonstige antiparasitäre Behandlung oder Steroideinnahme in den letzten sechs Wochen Ausschlusskriterien (Gehring and Shrestha, 2020), um falsch-niedrige Werte an Eosinophilen im Blut zu vermeiden (Law and Varma, 2015). Glukokortikoide führen unter anderem zur Apoptose von Eosinophilen (Rothenberg, 1998; Druilhe et al., 2003).

### **3.5 Durchführung**

Zur Veranschaulichung des Vorgehens und der Arbeitsschritte wurde ein Arbeitsflussdiagramm, hier Workflow genannt, erstellt (siehe Anhang).

Wenn ein pädiatrischer Patient aus dem DH oder assoziierter Gesundheitseinrichtung für die Studie in Frage kam, wurde überprüft, ob der Proband die Einschlusskriterien als Fall oder Kontrolle erfüllte. Anschließend wurden Probanden und Erziehungsberechtigte über die Studie informiert. Dies erfolgte über einen wissenschaftlichen Mitarbeiter oder ein weiteres Mitglied der Forschungsgruppe. Hierfür konnte auch ein Informationsblatt in englischer oder nepalesischer Sprache ausgehändigt werden (siehe Anhang). Wenn der Teilnahme zugestimmt wurde, musste die Einwilligungserklärung gelesen und unterschrieben werden. Zudem wurde kommuniziert, dass das Studienteam für jegliche Fragen zur Verfügung stand (Gehring and Shrestha, 2020).

Folglich füllte der wissenschaftliche Mitarbeiter den Fragebogen zusammen mit dem Probanden aus. Eine klinische Untersuchung wurde vom Arzt durchgeführt. Stuhl- und Blutproben wurden entnommen. Die DNA vom Stuhl wurde im Labor vor Ort extrahiert und gelagert. Später erfolgte der Transport zur weiteren diagnostischen Aufbereitung mittels NGS in die Universitätsmedizin Mainz. Das Serum wurde aus dem Blut gewonnen und im Verlauf in das schweizerische Tropen- und Public Health-Institut in Basel transportiert. Eine zusätzliche Stuhlprobe wurde entnommen und im DH-Labor mittels konventioneller Helminthen-Diagnostik unter dem Mikroskop untersucht. Die generierten Daten wurden gesammelt und analysiert, um auf die Fragen der Studie möglichst genau einzugehen (Gehring and Shrestha, 2020).

Die Probanden erhielten eine Aufwandsentschädigung (Incentive) für ihre Teilnahme. Wie im World Health Report 2010 genannt, können beispielsweise die anfallenden Kosten durch die Anfahrt ins Krankenhaus für die ärmeren Probanden einen kritischen Belastungsfaktor darstellen (WHO, 2010). Dies bestärkt die Notwendigkeit einer solchen Auszahlung. Die Höhe wurde den lokalen Gegebenheiten angepasst.

In der Literatur gibt es aktuell keine einheitliche Diagnostik und kein einheitliches Therapie-Schema für Kinder mit einer akuten oder persistierenden Eosinophilie in Nepal. Eine Intervention fand in der Studie nur bei der Fall-Gruppe statt. Die Medikamentengabe wurde nicht direkt durch die Studie veranlasst, sondern lag im Ermessen des behandelnden Arztes. Das im Workflow aufgeführte Behandlungs-

schema (siehe auch Tabelle 1, Kapitel 3.1) wurde auf der Basis des allgemeinen Vorgehens in der pädiatrischen Station im Krankenhaus von Dhulikhel erstellt. Im Anschluss zur Behandlung war eine erneute Datenerhebung (Fragebogen und klinische Untersuchung) sowie eine Bestimmung des Blutbildes geplant.

### **3.6 Datenerhebung**

#### **3.6.1 Einwilligungserklärung**

Damit ein Patient als Proband an der Studie teilnehmen konnte, war das Unterschreiben der Einwilligungserklärung obligatorisch (siehe Anhang). Dies musste durch ein Elternteil oder einen anderen Erziehungsberechtigten erfolgen. Kinder über sieben Jahren wurden ebenfalls gebeten zu unterschreiben. Die Einwilligungserklärung war in englischer und nepalesischer Fassung verfügbar. Vor dem Unterschreiben wurden die Probanden über den Studienablauf informiert und es wurde explizit auf die Freiwilligkeit der Teilnahme und das Recht auf Abbruch hingewiesen (Gehring and Shrestha, 2020).

#### **3.6.2 Fragebogen**

Zur Erstellung des Fragebogens (siehe Anhang) wurden verschiedene Quellen genutzt. Die Erfassung sollte sowohl Rückschlüsse auf die mögliche parasitäre Wurmerkrankung als auch auf dessen Ursprung ermöglichen. Die meisten soziodemographischen Fragen (Fragen 1 bis 34) wurden in Anlehnung an die Volkszählung von 2011 und an den Bevölkerungsatlas von 2014 in Nepal formuliert (Central Bureau of Statistics, 2012; Central Bureau of Statistics, 2014).

Mehrere Fragen orientieren sich an Beobachtungen aus Studien zum Thema Helminthiasen. Der Zugang zur Wasserversorgung (Fragen 13-16) wurde in direkten Zusammenhang mit Wurminfektionen gebracht und wird deshalb abgefragt (Hughes et al., 2004). In einer Metaanalyse aufgeführte Beobachtungsstudien zeigten auf, dass die Chance für eine Infektion mit STHs durch WASH-Strategien reduziert wird. Darunter fallen folgende Maßnahmen: das Abkochen oder Filtern von Trinkwasser (Frage 16), das Nutzen von Leitungswasser (Fragen 13, 14, 25, 26, 28), der Zugang zu Sanitäranlagen (Fragen 29, 30), das Händewaschen nach dem Stuhlgang und das Nutzen von Seife (Frage 25) sowie das Tragen von Schuhen (Frage 31) (Strunz et al., 2014). Das Fehlen von Handseife (Fragen 25, 26) stellte auch in einer Studie aus Nepal ein Risikofaktor für das Auftreten von intestinalen Parasiten dar (Shrestha et al.,

2018). Das Risiko, sich mit *T. trichiura* oder *A. lumbricoides* zu infizieren, erhöht sich durch einen Erdboden im Haus (Frage 11). Hingegen war in drei Veröffentlichungen der Zusammenhang zwischen Geophagie (Frage 24) und STHs nicht von statistischer Signifikanz (Strunz et al., 2014).

In einer Studie aus Nepal wurde die Einnahme von Süßwasserkrabben (Frage 22) als Ursache für parasitär bedingte Eosinophilie postuliert (Shrestha et al., 2012b). Unter anderem ist dies der beschriebene Übertragungsweg bei Infektionen mit dem Saugwurm *Paragonimus* (Shim et al., 1991; Sah and Khadka, 2017; Gaire et al., 2017; CDC, 2022). Der Konsum von ungekochten Wasserpflanzen wie Kresse (Frage 23) kann zu Fascioliasis führen, eine durch Saugwürmer übertragene Erkrankung des Gastrointestinal-Traktes, die mit einer Eosinophilie einhergehen kann (Ravin and Loy, 2016). Gleiches gilt für die Gastrodiscoidiasis und die Fasciolopsiasis (Mehlhorn, 2012b). *Fasciola* spp., *Fasciolopsiasis buski* und *Paragonimus* spp. gelten als wahrscheinlich endemisch für Nepal (Devleesschauwer et al., 2014). Hingegen wurde *Gastrodiscoides hominis* erst in einem Fallbericht beschrieben (Sah et al., 2019). Der Kontakt zu Tieren und deren Haltung (Fragen 32, 33) ist ein weiterer möglicher Übertragungsweg von Helminthiasen (siehe Anhang, Tabelle 15) (Tefferi et al., 2006; Devleesschauwer et al., 2014).

Die Anamnese in Bezug auf allgemeine und spezifische Symptome, Medikamente und Allergien (Fragen 35-39, 44, 49) stützt sich auf die britische „Guideline for the investigation and management of eosinophilia“ (Butt et al., 2017). Viele Fragen (Fragen 37-41, 43) wurden außerdem in Anlehnung an die vorangehende Studie über Eosinophilie bei Kindern im DH konzipiert (Shrestha et al., 2012a).

Die Einnahme von Medikamenten kann einen Einfluss auf die Zahl der Eosinophilen und der zugrundeliegenden Krankheit haben (Frage 44) (Law and Varma, 2015). Die Frage 47 zum Impfstatus wurde gestellt, um sich ein Bild über die allgemeine medizinische Versorgung des Kindes zu machen. Zur Entwurmung (Frage 48) wird in Nepal sowohl eine MDA für die lymphatische Filariasis als auch eine PC für Kinder mit STHs durchgeführt (WHO, 2022d). Zum Schluss wurde mit der Frage 51 eine gleiche Infektionsquelle oder die Ansteckbarkeit der Erkrankung untersucht.

### **3.6.3 Untersuchungsbogen**

Ein Großteil der Fragen des Untersuchungsbogens wurde an die Studie von Shrestha et al. (2012a) im DH angelehnt. Darunter fallen die Fragen 53, 54, 55, 58 und 59, 60,

61 und 62 zu dem jeweiligen Befund Blässe, Hautbefund, Lymphadenopathie, Atemwegs- und kardiale Probleme, Hepato- und/oder Splenomegalie, freie Flüssigkeit (FF) und Meningitiszeichen. Zudem wurden die Untersuchung vom großen Blutbild (Fragen 72-79), der Blutsenkungsgeschwindigkeit (Frage 80), des peripheren Blutausstrichs (Frage 87), das Röntgen-Thorax (Frage 89), sowie die Stuhluntersuchung auf Parasiten, Eier und Zysten (Frage 91), und die Serologie (Frage 93) dokumentiert. Auch eine Echokardiographie (Frage 94), ein Ultraschall des Abdomens (Frage 95), eine Analyse von seröser Flüssigkeit (Aszites, Pleura- oder Perikarderguss) (Frage 96), eine Knochenmarkspunktion (Frage 88) und ein Mantoux- oder Gene Xpert-Test (Frage 90) zur Tuberkulose-Diagnostik wurden, wenn notwendig, durchgeführt (Shrestha et al., 2012a). Eine Tuberkulose kann eine mögliche Ursache für Eosinophilie sein (Law and Varma, 2015). Manche Fragen wie beispielhaft, die der Splenomegalie (Frage 60) oder der Lymphadenopathie (Frage 55) können Hinweise auf Differentialdiagnosen wie myeloproliferative Erkrankungen oder Lymphome liefern. Bestimmte Hautbefunde (Frage 54) können auf Allergien hindeuten (Wang, 2019). Zusätzlich war eine schnelle und kostengünstige durchzuführende Urinanalyse mittels Uristix (Frage 86) geplant.

### **3.7 Labormethoden**

#### **3.7.1 Stuhlmikroskopie**

Die Stuhlmikroskopie ist ein verhältnismässig einfaches Diagnostikum, was routinemässig im DH bei Verdacht auf Helminthiasis eingesetzt wird. Die Untersuchung fand im Labor vor Ort statt. Der Stuhl wurde von den Probanden in einem einfachen Fäkalien-Probenbehälter (Stool-container) ohne Zusatz von Agenzien entnommen. Im Labor wurde ein wenig Stuhlprobe mit einem Tropfen 0,9% Kochsalzlösung auf einen Objektträger gemischt, mit einem Deckglas bedeckt und unter dem Mikroskop bei einer Vergrößerung von 40x auf Eier oder weitere Auffälligkeiten untersucht.

#### **3.7.2 Serologie**

Wie von Shrestha et al. (2012a) empfohlen, wurde die Serologie als Methode zur Suche einer Ursache der Eosinophilie bei Kindern im DH eingesetzt. Das Blut wurde in entsprechenden Serum-Röhrchen (STT, Serum separator tube) entnommen. Diese wurden im DH-Labor zentrifugiert, aliquotiert und bis zum Transport nach Europa in Cryovial® bei -80°C gelagert.

Die Auswertung der Serologie wurde mittels validierter Multi-Antigen-Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA) gestützter Helminthensuchtest durch das Nationale Referenzzentrum der Schweiz für Importierte Parasitosen vom Schweizerischen Tropen- und Public-Health-Institut in Basel vorgenommen. Es wurde gezielt nach IgGs gesucht. Im Falle eines positiven Ergebnisses in dem ELISA-Screening wurde als Bestätigung entweder ein Immun-Fluoreszenz-Antikörper-Test (IFT) oder ein weiterer ELISA-Test durchgeführt. Dabei wurden folgende Helminthiasen erfasst:

- Fascioliasis (*Fasciola hepatica*)
- Filariosen (Filarien: *Wucheria bancrofti*, *Brugia malayi*, *Loa loa*, *Onchocerca volvulus*, *Mansonella perstans*)
- Schistosomiasis (*Schistosoma* spp.)
- Strongyloidose (*Strongyloides stercoralis*)
- Trichinellose (*Trichinella spiralis*)
- Toxocarose (*Toxocara canis*, *Toxocara cati*)

Zum Beginn der Studie war diese Form der Diagnostik im DH nicht etabliert.

### **3.7.3 NGS**

Um auf makromolekularer Ebene noch mehr mögliche Parasiten abzudecken, wurde eine weitere Diagnostik das Next Generation Sequencing (NGS) eingesetzt.

Die geeigneten Probenbehälter (fecal collection tubes) wurden mit Stuhl befüllt und bei -80°C gelagert. Die DNA-Extraktion des Stuhls erfolgte im Labor vor Ort. Das genaue Vorgehen wird von Großbach (2021) beschrieben. Das Material einer Probe wurde auf zwei Mikroröhrchen mit Schraubverschluss aufgeteilt. Das Erste wurde direkt bei -20°C gelagert und später nach Mainz transportiert. Aus dem zweiten Röhrchen wurde die DNA-Konzentration mithilfe einer Gelelektrophorese bestimmt und anschließend bei -20°C im Labor vom DH gelagert.

Zur NGS wurden die zwei Verfahren Amplicon Sequencing (AS) und Metagenomic Shotgun Sequencing (MS) eingesetzt. Die auf die Fragestellung der Studie angepasste Methode wurde durch Großbach (2021) etabliert und beschrieben.

### **3.8 Machbarkeitsanalyse Frage- und Untersuchungsbogen**

Ein nepalesischer ärztlicher Kollege führte zwischen den Jahren 2016 und 2019 einen Fragebogen mit Patienten mit auffallend hohen Eosinophilen sporadisch durch. Aufbauend darauf wurde der oben beschriebene detailliertere Fragebogen sowie der Untersuchungsbogen entwickelt, welche beide einer Machbarkeitsanalyse unterzogen wurden. Hierfür wurden beide Bögen mithilfe von mehreren, anonymisierten und einwilligenden Patienten auf die Durchführbarkeit (Verständnis, Sinnhaftigkeit) getestet und laufend angepasst. Die Ergebnisse aller Vorerhebungen werden in dieser Dissertation berücksichtigt.

### **3.9 Ethikantrag und Finanzierung**

#### **3.9.1 Anforderungen**

Die oberste Instanz, die in Nepal bezüglich der ethischen Anforderungen von Studien entscheidet, ist das Nepal Health Research Council (NHRC). Dieses Gremium wurde im Jahr 1991 gegründet (NHRC, 2020a). Um die Arbeitslast zu erleichtern, wurden mehrere Institutional Review Committee (IRC) im ganzen Land ins Leben gerufen. Diese übernehmen Teile der Entscheidungen für im Inland stattfindende Forschungsprojekte. Sobald beispielsweise Proben oder Studiendaten im Rahmen internationaler Zusammenarbeit das Land verlassen, muss neben dem IRC-Antrag ein NHRC-Antrag eingereicht und bewilligt werden (NHRC, 2020b). Im Rahmen unserer Studienvorbereitung mussten beide Anträge gestellt werden. Für das DH ist das IRC der Kathmandu University School of Medical Sciences (KUSMS-IRC) zuständig. Die Anträge wurden Anfang 2020 in englischer Sprache gestellt.

#### **3.9.2 Ablauf des Bewilligungsverfahrens/Ethikantrages**

IRC-KUSMS

Für den IRC-Antrag wurden folgende Dokumente eingereicht:

- Ethikantrag (Application for Ethical Approval of Research Proposal) mit Budgetplan und Literaturverzeichnis
- Datenerhebungsinstrumentarium, in unserem Fall Fragebogen auf Englisch und Nepalesisch (siehe Anhang), sowie Untersuchungsbogen (siehe Anhang)
- Workflow (siehe Anhang)
- Protokoll der Stuhl-DNA-Extraktion
- Informationsblatt auf Englisch und Nepalesisch (siehe Anhang)
- Einwilligungserklärung auf Englisch und Nepalesisch (siehe Anhang)
- Lebenslauf der Forschungsleiter

- Genehmigungsschreiben vom wissenschaftlichen Betreuer der Studenten
- Unterstützungsschreiben vom Leiter der pädiatrischen Abteilung vom DH, in dem die Studie durchgeführt wird

Der IRC-KUSMS-Antrag musste ausgedruckt und vor Ort abgegeben und bezahlt werden.

## NHRC

Der Ethikantrag beim NHRC wurde online unter folgendem Hyperlink <https://erb.nhrc.gov.np/> eingereicht. Auf diesem Portal werden die verschiedenen benötigten Informationen und Dokumente hochgeladen. Außerdem besteht die Möglichkeit für die Gutachter, dem Wissenschaftler bei Unklarheiten über eine Chat-Funktion Fragen zu stellen, die wiederum von den Antragstellern direkt beantwortet werden können. Die nepalesische Staatsbürgerschaft von mindestens einem der Projektleiter ist Bedingung für die Antragstellung.

Für den NHRC-Antrag wurden zudem folgende Dokumente eingereicht:

- Lebenslauf aller Teammitglieder
- Bilder aller Teammitglieder
- Unterschriften aller Teammitglieder
- Konzeptioneller Rahmen (Conceptual Framework)
- Schriftliche Zusage vom DH (Letter of acceptance DH)
- Zeitlicher Arbeitsplan (Work Plan)
- Einverständniserklärung mit Spender (Agreement letter with donor)
- Materialübertragungsvereinbarung (Materialtransfer agreement)
- Begründung des Materialtransfers (Justification of Material Transfer)

### **3.9.3 Finanzierung**

Die Studie wurde durch die „Hospital Partnerships“-Initiative der Deutschen Gesellschaft für Internationale Zusammenarbeit unterstützt. Dabei erfolgte die Finanzierung durch das Bundesministerium für wirtschaftliche Zusammenarbeit und Entwicklung und durch die Else Kröner-Fresenius-Stiftung.

## **4 Ergebnisse**

Die Studie war ursprünglich auf zwei Jahre ausgelegt und startete nach Bewilligung des Ethikantrags im Frühjahr 2020. Aufgrund der COVID-19-Pandemie verzögerte sich die Aufnahme von Probanden in das Projekt. Daher ist zum Zeitpunkt der Dissertation die Studie noch nicht abgeschlossen.

### **4.1 Dokumentation Eosinophilie in der pädiatrischen Abteilung im Dhulikhel Hospital**

In den sechs erfassten Monaten wurden insgesamt 25 positive Treffer für den Suchbegriff „Eosinophil“ gefunden. Die Diagnose Eosinophilie (Eosinophilia) wurde 21-mal gestellt, die vier weiteren Patienten litten an einen eosinophilen Perikarderguss. In drei Fällen war die Eosinophilie durch eine Pneumonie begleitet. Weitere Informationen zur Ursache der Eosinophilie wurden nicht genauer dokumentiert. Die meisten Patienten wurden in den Monaten Bhadra und Ashoj (Mitte August bis Mitte Oktober) mit respektive zehn und sechs Fällen diagnostiziert. Die Mehrzahl kam in die ambulante Abteilung (fünfzehn Fälle), gefolgt von der Normalstation (acht Fälle). In nur zwei Fällen handelte es sich um Probanden von der pädiatrischen und der neugeborenen Intensivstationen.

### **4.2 Machbarkeitsanalyse Frage- und Untersuchungsbogen**

Die Vorerhebungen wurden gemeinsam ausgewertet. Insgesamt kamen Daten von 35 Patienten zusammen. Von denen hatten 29 mindestens eine einmalige eosinophile Zellzahl von über 500/ $\mu$ l und wurden in der folgenden Auswertung als Fälle betrachtet. Entsprechend hatten sechs Patienten keine Eosinophilie. Darunter lagen bei zwei Patienten keine Laborwerte vor, welche somit aus der Auswertung ausgeschlossen wurden. Die restlichen vier Patienten hat man der Kontroll-Gruppe zugeordnet. Auf ein Matching zwischen Fällen und Kontrollen wurde im Rahmen dieser Erfassungen nicht geachtet.

#### **4.2.1 Eosinophilie-Fälle**

In der saisonalen Verteilung der Eosinophilie-Fälle konnten im September und im Februar zwei Gipfel beobachtet werden (Tabelle 2). Die Altersverteilung zeigte ihren Spitzenwert bei den Neun- bis Zwölfjährigen (Tabelle 3). Es wurden deutlich mehr

männliche Patienten mit Eosinophilie erfasst (Tabelle 4). Die Verteilung nach ethnischer Gruppe ist der Tabelle 5 zu entnehmen.

Monat	
Januar	2
Februar	7
März	4
April	4
Mai	0
Juni	0
Juli	0
August	1
September	4
Oktober	1
November	1
Dezember	3
Keine Angabe	2

Tabelle 2: Saisonale Verteilung der Erstvorstellung der Eosinophilie-Fälle

Altersgruppe in Jahre	
2-4	2
5-8	8
9-12	10
13-16	8
Keine Angabe	1

Tabelle 3: Altersverteilung nach Altersgruppe der Eosinophilie-Fälle

Geschlecht	
Männlich	21
Weiblich	7
Keine Angabe	1

Tabelle 4: Geschlechtsverteilung der Eosinophilie-Fälle

Ethnische Gruppe	
Chhetri	2
Brahman-Hill	1
Magar	
Tharu	
Tamang	1
Yadav	
Newar	1
Kami	
Musalman	
Rai	
Andere	2
Keine Angabe	22

Tabelle 5: Verteilung der Eosinophilie-Fälle nach Ethnischer Gruppe

Bei sieben Eosinophilie-Fällen wurden genauere soziodemographischen Fragen gestellt. Alle Befragten gaben an Leitungswasser als Trinkwasser zu nutzen und mit Holz, drei zusätzlich mit Flüssiggas zu kochen. Nur einer besäße einen Kühlschrank im eigenen Haushalt. Alle wären Omnivore. Keiner hätte seine Essensgewohnheiten in letzter Zeit geändert. Sechs Patienten hätten eine einfache Toilette, einer hätte eine Spültoilette mit septischem Tank im eigenen Haushalt. Alle sieben hätten häufig Kontakt zu Tieren, wobei es sich um Büffel, Ziegen, Rinder, Hunde und Katzen handelte.

Neun von 25 befragten Eosinophilie-Fällen bejahten den Konsum von roher oder nicht durchgekochter Süßwasserkrabbe. Drei gaben an sich häufig, sieben manchmal und fünfzehn nie in Wasser aufzuhalten. Drei von sieben befragten Patienten berichteten über den Konsum von roher oder nicht durchgekochter Kresse.

Drei Patienten wurden nach der Verwendung von Seife beim Händewaschen befragt. Einer gab an, es meistens und zwei manchmal zu tun.

Die Hauptbeschwerden der Patienten waren vielfältig (Tabelle 6) wobei Bauchschmerzen (sechsmal), Atemnot (sechsmal) und Husten (zehnmal) besonders häufig vorkamen.

Hauptbeschwerden	Auftretenshäufigkeit
<b>Allgemein</b>	
Appetitminderung	1
AZ-Minderung	1
Fieber	4
Gewichtsverlust	2
Kopfschmerzen	2
Schmerz	2
Schwindel	1
<b>Dermatologie</b>	
Ekchymose	1
Urtikaria	1
<b>GIT</b>	
Erbrechen	3 (davon 1x blutig)
Bauchschmerzen	6
Blähungen	1
<b>Lunge</b>	
Atemnot	6
Brustschmerzen	2
Husten	10
<b>Skelett</b>	
Gelenksschmerzen	2
Rückenschmerzen	2
<b>Urogenital</b>	
Algurie	1
Hämaturie	1
Oligurie	1
<b>Sonstige</b>	8

Tabelle 6: Hauptbeschwerden der Eosinophilie-Fälle. Viele Patienten gaben mehrere Beschwerden an.

Medikamenteneinnahme	Auftretenshäufigkeit
<b>Antibiotika</b>	10
Amoxicillin	1
Ampiclox	3
Anti-tubercular treatment	5
Ceftriaxon	1
Nicht näher bezeichnet	1
<b>Anthelminthika</b>	15
Albendazol	2
Albendazol und Ivermectin	3
Albendazol, Ivermectin und DEC	5
Albendazol, Ivermectin, DEC und Praziquantel	3
Albendazol und Praziquantel	1
Praziquantel	1
<b>Sonstige</b>	
Glukokortikoide	7
Ondansertron	1
Pantoprazol, Antazida oder Ranitidin	4
Schmerzmittel (NSAR und/oder Paracetamol)	3

Tabelle 7: Medikamenteneinnahme der Eosinophilie-Fälle bis zu dem Interview

Zehn Kinder bekamen Antibiotika, fünfzehn Anthelminthika (Tabelle 7), darunter wurden sechs Kinder mit beiden Arzneimittelgruppen behandelt. Sieben Patienten behandelte man mit Glukokortikoiden (Tabelle 7). Drei davon wurden, entsprechend dem typisches Behandlungsschema bei Eosinophilie im DH, mit Albendazol, Ivermectin und DEC behandelt.

Drei Kinder hatten eine bereits diagnostizierte Tuberkulose in der Anamnese. Bei fünfzehn Fällen wurde freie Flüssigkeit (FF) festgestellt (Tabelle 8).

Flüssigkeitsansammlung	Anzahl der Angaben
Aszites	4
Gelenk	1
Perikard	4
Pleura	13
-unilateral	6
-bilateral	4
-nicht näher bezeichnet	3

Tabelle 8: Flüssigkeitsansammlung bei den Eosinophilie-Fällen (fünf Kinder hatten FF in mehreren Räumen)

Folgende Grafik zeigt, wie hoch die absolute Eosinophilenzahl bei erstmaliger Eosinophilie innerhalb der 29 Fälle verteilt ist (Abbildung 3).

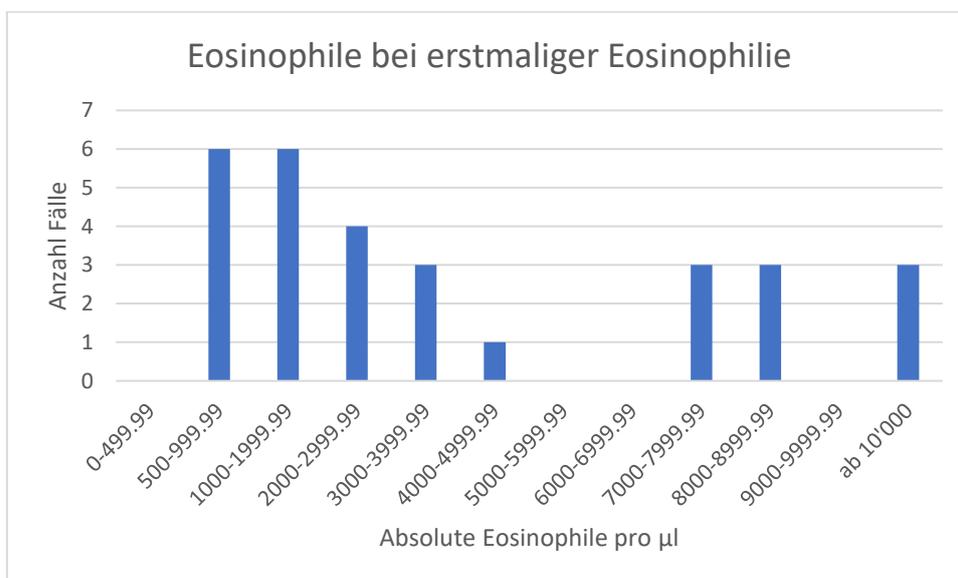


Abbildung 3: AEC bei erstmaliger Eosinophilie der Fälle der Machbarkeitsanalyse

Die meisten Probanden mit Eosinophilie hatten einen pathologischen Röntgenbefund vorliegen (Tabelle 9). Darunter kam der Pleuraerguss mit zehn Befunden am häufigsten vor. Weiterhin wurde fünfmal eine Kardiomegalie beschrieben.

<b>Röntgenbefund</b>	<b>Anzahl der Angaben</b>
Hiläre Lymphadenopathie	1
Kardiomegalie	5
Lungeninfiltrate (bilateral)	1
Perihiläre Vorwölbung	1
Perikarderguss	2
Pleuraerguss	10
Verschattung (homogen) im linken unteren Lungenfeld	1
Normalbefund	3
Keine Angabe	11

Tabelle 9: Röntgenbefunde der Eosinophilie-Fälle

Die Stuhluntersuchung auf Parasiten war bei drei Kindern negativ. Die Stuhluntersuchung auf Eier war bei vier Kindern negativ. Die Stuhluntersuchung auf Zysten war bei vier Kindern negativ und bei einem Kind positiv auf *Giardia lamblia*.

#### 4.2.2 Kontrollgruppe

Die Kinder aus der Kontrollgruppe waren zwei, drei, sieben und zwölf Jahre alt. Es wurden zwei männliche und zwei weibliche Patienten befragt. Allen wurden weitere soziodemographische Fragen gestellt. Die Verteilung nach der ethnischen Gruppe ergab: ein Chhetri, ein Newar und zwei seltenere Kasten. Drei Patienten gaben an Wasser aus der Leitung, einer zusätzlich aus offenen Brunnen und einer aus geschlossenen Brunnen zu trinken. Kein Kind aus der Kontrollgruppe gab den Konsum von roher oder nicht durchgekochter Süßwasserkrabbe an. Hingegen bestätigte einer der vier Patienten den Konsum von roher oder nicht durchgekochter Kresse. Alle wären Omnivore. Drei Kinder hätten Zugang zu einer Toilette mit Spülung, ein Kind hätte eine einfache Toilette zu Hause. Weiterhin berichtete ein Kind, sich manchmal im Wasser aufzuhalten oder zu schwimmen, während die anderen drei dies nie täten. Ähnlich wie bei den Eosinophilie-Fällen gaben die Kinder aus der Kontrollgruppe diverse Hauptbeschwerden an (Tabelle 10).

<b>Hauptbeschwerden</b>	<b>Anzahl der Angaben</b>
<b>Allgemein</b>	
Fieber	3
Ikterus	1
<b>GIT</b>	
Übelkeit/Erbrechen	1
Bauchschmerzen	1
<b>Lunge</b>	
Husten	1
<b>Sonstige</b>	3

Tabelle 10: Hauptbeschwerden der Kontrollgruppe. Viele Patienten gaben mehrere Beschwerden an.

Alle Kinder aus der Kontrollgruppe wurden zum Zeitpunkt des Interviews bereits mit Antibiotika behandelt, keines allerdings mittels Anthelminthika, was ein Ausschlusskriterium gewesen wäre (Tabelle 11).

<b>Medikamenteneinnahme</b>	Anzahl der Angaben
<b>Antibiotika</b>	5
Acithromycin und Amoxyclav	1
Ampiclox	1
Cefotaxim	1
Cefpodoxim	1
Metronidazol	1
<b>Antiparasitika</b>	0
<b>Sonstige</b>	
Levecetazine	1
Ondansertron	1
Pantoprazol, Antazida oder Ranitidin	2
Rasodryl-Sirup	1
Schmerzmittel (NSAR oder Paracetamol)	4

*Tabelle 11: Medikamenteneinnahme der Kontrollgruppe bis zu dem Interview*

Zwei Kinder gaben an, dass enge Freunde beziehungsweise Verwandte aktuell ähnliche Symptome hätten. Die absolute Eosinophilenzahl der Kontrollgruppe war: 0, 48, 172 und 234 pro  $\mu\text{l}$ . Ein Kind aus der Kontrollgruppe hatte einen bilateralen Pleuraerguss im Röntgenbild.

### 4.3 Bisherige Ergebnisse

Aufgrund der COVID-19-Pandemie konnten bisher achtzehn Probanden in die Studie eingeschlossen und ausgewertet werden. Darunter waren neun Eosinophilie-Fälle und neun Kontrollen.

#### 4.3.1 Fragebogen

Eosinophilie-Fälle

Die Geschlechtsverteilung der Eosinophilie-Fälle zeigte eine männliche Dominanz mit sechs männlichen und drei weiblichen Patienten (Tabelle 12). Die meisten Kinder waren zwischen neun und zwölf Jahre alt (Tabelle 13).

Geschlecht	
Männlich	6
Weiblich	3

*Tabelle 12: Geschlechtsverteilung der Eosinophilie-Fälle der Studie*

Altersgruppe in Jahre	
2-4	
5-8	1
9-12	5
13-16	3

*Tabelle 13: Altersverteilung nach Altersgruppe der Eosinophilie-Fälle der Studie*

Kontrollen

Außerdem wurden weitere neun Probanden untersucht, die eine Eosinophilie in der Vergangenheit hatten und als Kontrolle gewertet wurden. Davon waren fünf Jungen und vier Mädchen. Vier waren zwischen fünf und acht Jahre, einer zwischen neun und zwölf Jahre und vier zwischen dreizehn und sechzehn Jahre alt.

#### 4.3.2 Stuhlmikroskopie

In der mikroskopischen Untersuchung wurde lediglich ein positiver Befund mit dem Nachweis von Zysten von *Giardia lamblia* in der Eosinophilie-Gruppe diagnostiziert (Proband 4). Bei einem Probanden wurde kein Stuhl unter dem Mikroskop untersucht (Proband 3). Die weiteren sechzehn Probanden hatten einen negativen Befund.

### 4.3.3 Serologie

Die serologische Auswertung der bisherigen Probanden der Studie wird in der Tabelle 14 aufgeführt. Das Fasciola-Antigen weist eine hohe Spezifität auf. Somit konnte bei drei Probanden mit Eosinophilie eine Infektion mit *Fasciola hepatica* sicher diagnostiziert werden (P). Da Antikörper gegen Fasciola mit Antigenen anderer Helminthen kreuzreagieren, konnte eine zusätzliche Infektion mit gewissen anderen Erregern nicht ausgeschlossen werden (M) oder waren nicht eindeutig zu interpretieren (U). Gleichzeitig sind im *Schistosoma mansoni* Ei-Antigen-ELISA Kreuzreaktionen mit den Fadenwürmer *Capillaria hepatica* und *Trichinella* möglich (TPH). Ein Eosinophilie-Fall wurde positiv auf *Strongyloides* spp. getestet. Mehrere weitere Probanden hatten vereinzelt nicht eindeutig zu wertende Befunde (U).

Probanden-ID	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18
<i>Fasciola hepatica</i>	P	P																P
Filarien	M	M													U			U
<i>Schistosoma</i> spp.	U	M								U								U
<i>Strongyloides stercoralis</i>	U		P															U
<i>Trichinella spiralis</i>	M					U												U
<i>Toxocara</i> spp.																U		

Tabelle 14: Ergebnisse der Serologie der bisherigen Probanden der Studie. P: Positiv, eine Infektion ist anzunehmen; M: möglich, eine Infektion kann nicht ausgeschlossen werden; U: unsicher, der Befund ist nicht eindeutig zu bewerten. Die roten Zahlen entsprechen den Probanden, die zum Zeitpunkt der Aufnahme der Blutentnahme eine Eosinophilie aufwiesen. Die Auswertung erfolgte durch das Nationale Referenzzentrum der Schweiz für Importierte Parasitosen vom Schweizerischen Tropen- und Public-Health-Institut in Basel.

#### 4.3.4 NGS

Mittels MS wurden in mehreren Stuhl-DNA-Proben aus der Studie spezifisch nach Nematoda, Plathelminthes, Parabasalia und Coccidia gesucht. Folgende Erreger mit einem minimalen Anteil von 0,01% konnten hierbei mit der Datenbank Kraken 2 nachgewiesen werden (Abbildung 4) (Großbach, 2021): die Fadenwürmer *Haemonchus contortus*, *Caenorhabditis* und einmalig *Oscheius tipulae*; die Plattwürmer *Schistosoma mansoni*, *Dicrocoelium dendriticum*, *Spirometra erinaceieuropaei*, *Hymenolepis microstoma* und vereinzelt Cyclophyllidea; die Protozoen *Eimeriorina* und einmalig *Trichomonas vaginalis*. Neun der elf untersuchten Probanden mit nachgewiesenen parasitären Eukaryonten waren aus der Eosinophilie-Gruppe, zwei aus der Kontrollgruppe. Bei allen Kindern mit Eosinophilie wurde die DNA von mindestens drei parasitären Eukaryonten nachgewiesen.

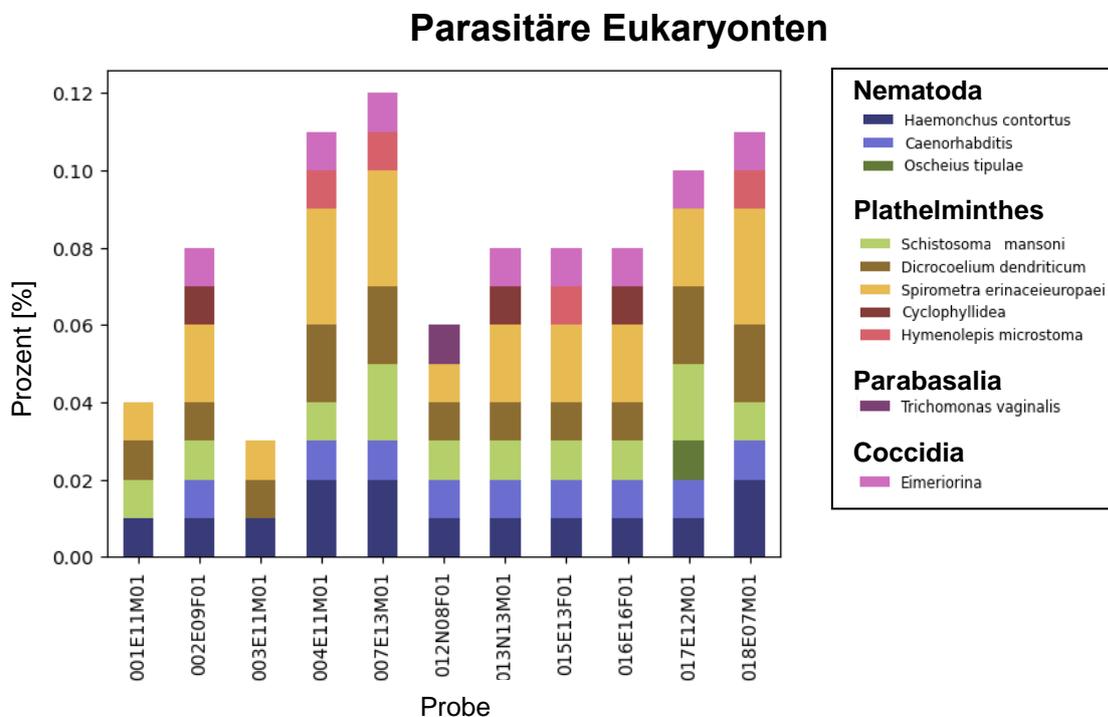


Abbildung 4: Mittels Metagenomic Shotgun Sequencing gefundene parasitäre Eukaryonten und Darstellung nach anteiligem Vorkommen. Die Auswertung erfolgte im Labor für Pädiatrische Immunologie und Infektiologie der Universitätsmedizin Mainz. Mit Genehmigung modifiziert von Großbach (2021).

Für die Ergebnisse der AS wird auf die Arbeit von Großbach (2021) verwiesen.

## **5 Diskussion**

### **5.1 Dokumentation Eosinophilie in der pädiatrischen Abteilung im Dhulikhel Hospital**

Shrestha et al. (2012a) dokumentierten zwischen 2009 und 2011 Eosinophilie-Fälle aus der pädiatrischen Abteilung des DHs. Um aktuellere Daten zu gewinnen, wurde im Rahmen der Entwicklung der Studie „Evaluation of cause of eosinophilia in children in Dhulikhel hospital and its affiliated health facilities“ im Archiv der Abteilung gezielt nach dieser Diagnose gesucht.

Diese Erhebung konnte die früheren Daten und klinischen Beobachtungen über ein wiederholtes Vorkommen von Eosinophilie häufig unklarer Genese bei Kindern aus dieser Klinik bestätigen. Weiterhin zeigte sich eine Saisonalität der Fälle, was ein möglicher Hinweis für eine parasitäre Ursache ist. Eine solche zeitliche Häufung wurde für gewisse Wurmerkrankungen in mehreren Studien beschrieben (Hotez et al., 2008; Qureshi et al., 2016; Mas-Coma et al., 2018). Beispielsweise tritt Fascioliasis vermehrt während der Saison der Kresse auf (Mas-Comas, 2018). Zwei limitierende Faktoren waren dabei die kleine Fallzahl sowie ein kurzer Beobachtungszeitraum von nur einem halben Jahr.

Daher war bislang nicht bekannt, wie viele Kinder eine Eosinophilie im Blutbild haben, die nicht als solche diagnostiziert und dokumentiert wurde. Durch eine möglichst systematische Erfassung der Kinder mit Eosinophilie im DH sollte diese Frage im Rahmen dieses Forschungsprojekts beantwortet werden.

### **5.2 Studiendesign und Studienziel**

Die zwei Veröffentlichungen über Kinder mit Eosinophilie in Nepal waren jeweils prospektive Beobachtungsstudien und beschränkten sich auf eine vordefinierte Kohorte (Shrestha et al., 2012a; Shrestha et al., 2012b). Zur Diagnostik kamen hauptsächlich lokal verfügbare Mittel zum Einsatz. In nur wenigen Fällen wurden Proben zur Analyse ins Ausland geschickt. Unsere Studie wurde als erste mit einem prospektiven Fall-Kontroll-Design zu dieser Thematik in Nepal entwickelt. Dies ermöglicht zwar keine Aussage zu dem relativem Risiko oder zu Inzidenzen, kann dafür, sobald eine ausreichende Probandenzahl rekrutiert wird, zur Berechnung der Chance und der Odds-Ratio verwendet werden (Dreier et al., 2012).

Das Studienziel (siehe Kapitel 3.3.2) und die geplante Umsetzung stützen sich unter anderem auf die bereits publizierten Daten aus Nepal (Shrestha et al., 2012a; Shrestha et al., 2012b). Shrestha et al. (2012a) empfahlen serologische Analysen zur endgültigen Ursachenfindung.

### **5.3 Diagnostik im Vergleich**

In der Diagnostik von parasitären Wurmerkrankungen gibt es keinen erregerübergreifenden Goldstandard. Im Folgenden soll auf zwei diagnostische Methoden unserer Studie, der Multi-Antigen-Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA) und die Next Generation Sequencing (NGS) sowie auf deren Vergleich genauer eingegangen werden.

Bei der Interpretation der Ergebnisse von Multi-Antigen-ELISA muss, wie oben bereits erwähnt (Kapitel 4.3.3), an die mögliche Kreuzreaktivität gedacht werden (TPH). Diese entsteht aufgrund ähnlicher Abschnitte auf dem Antigen, sogenannter Epitope (Hanna and Hillyer, 1984). Außerdem kann die Methode meist nicht zwischen akuter, chronischer oder vergangener Infektion unterscheiden. Zudem ist es nicht möglich, über die Schwere der Infektion eine Aussage zu treffen. Gleichzeitig kann der Test bei Patienten mit einer Immunsuppression falsch-negativ ausfallen, da diese nicht in der Lage sind, ausreichend Antikörper zu produzieren (Sinha et al., 2022). All dies stellt limitierende Faktoren des ELISA dar. Abgesehen davon handelt es sich um eine bereits etablierte und bei spezifischen Fragestellungen häufig eingesetzte Methode, welche im Rahmen der Studie durch ein Labor mit langjähriger Expertise durchgeführt wurde.

Die NGS ist ein Verfahren, das sich im klinischen Alltag noch nicht durchgesetzt hat. Weitere Forschungen sind für die Standardisierung solcher Sequenzierungsmethoden nötig (Boers et al., 2019). Eukaryonten sind zwar ein fester Bestandteil des menschlichen Darms (Parfrey et al., 2014), sie wurden jedoch im Gegensatz zu den Bakterien im menschlichen GIT deutlich weniger untersucht (Laforest-Lapointe and Arrieta, 2018; Hooks and O'Malley, 2020). Durch die weltweit noch sehr häufig vorkommenden Helminthiasen ist die NGS von Eukaryoten ein neues, jedoch wichtiges Feld der Forschung.

Die NGS-Daten liefern Informationen über das Vorkommen von Nukleinsäure-Sequenzen innerhalb der untersuchten Proben, welche auf manche Stämme und

teilweise sogar auf eine genaue Art Rückschlüsse zulassen (Konstantinidis and Tiedje, 2007; International Helminth Genomes, 2019). Allerdings bleibt ohne weitere metatranskriptomischen Untersuchungen unklar, ob es sich um biologisch lebendiges Material handelt und welche Gene aktiv exprimiert sind (Bashiardes et al., 2016; Boers et al., 2019; Jovel et al., 2022). Somit kann aus dem alleinigen Nachweis der DNA von Helminthen keine direkte Schlussfolgerung auf die Pathogenität dieser für den untersuchten Patienten getroffen werden. Zudem ist es damit nicht möglich, einen Zusammenhang mit einer Eosinophilie nachzuweisen. Dies muss bei der Auswertung der Daten mitbedacht werden.

Beim Vergleich der ELISA-Ergebnisse mit den NGS-Ergebnissen innerhalb unserer Studie ist zu beachten, dass abgesehen von der unterschiedlichen Technik und somit nachgewiesenen Makromolekülen (Proteine vs. Nukleinsäuren), auch ein anderes biologisches Material untersucht wurde (Serum vs. Stuhl). Dabei muss auch der Lebenszyklus der Helminthen berücksichtigt werden. Viele parasitäre Würmer werden vom Menschen oral aufgenommen (siehe Anhang, Tabelle 15). Manche gedeihen ausschließlich im GIT wie beispielsweise *Anisakis simplex*, *Echinostoma* spp., *Hymenolepis* spp. oder *Trichuris trichiura* (Leder and Weller, 2000; Mehlhorn, 2012b; CDC, 2022). Einige können durch eine Durchwanderung der Darmwand in weitere Organe gelangen, wie *Paragonimus westermani* oder *Echinococcus granulosus* (CDC, 2022). Andere gelangen über Mückenstiche in die Haut und haben innerhalb ihres Lebenszyklus nie Kontakt zum GIT, wie zum Beispiel *Filaria* spp. (Mehlhorn, 2012b). Aufgrund dieser Unterschiede im Lebenszyklus einzelner Arten ist deren Nachweis im Stuhl nur bedingt möglich.

Zudem lassen sich nicht alle Helminthen mittels Serologie nachweisen. Für viele Erreger gibt es zwar etablierte Verfahren zur Diagnosesicherung einer Infektion (Sinha et al., 2022), jedoch existieren für diverse Würmer wie beispielsweise *Hymenolepis* spp. (Bhosale, 2022) oder *Dicrocoelium* spp. (Raj et al., 2022) noch keine sensitiven Tests für den Menschen. Gleichzeitig spielt der Zeitfaktor im Lebenszyklus von Helminthen und somit im Nachweis durch die unterschiedlichen Verfahren eine entscheidende Rolle. So lassen sich beispielsweise Eier von *Fasciola* erst drei bis vier Monate nach der Infektion im Stuhl nachweisen. Vergleichsweise können im Blut bereits nach zwei bis vier Wochen Antikörper gefunden werden (CDC, 2022). Auch in unseren bisherigen Daten unterschieden sich die Ergebnisse von Serologie und NGS. Zum Beispiel konnte bei drei Probanden mit unsicherer Serologie in Bezug auf eine

Infektion mit *Schistosoma* spp. *Schistosoma mansoni* in der NGS des Stuhls festgestellt werden. Allerdings wurde auch bei weiteren sieben Probanden mindestens 0.01% an genetischem Material von diesem Saugwurm gefunden. Um eine solide Aussage treffen zu können, sind mehr Daten notwendig. Fest steht, dass sowohl die Serologie als auch die NGS als ergänzende Verfahren gewertet werden können.

Zusammengefasst wird heutzutage die Serologie im Rahmen der Diagnostik von Helminthiasen bereits mehr eingesetzt als die NGS. Dennoch ist auch erstere in ärmeren Ländern wie Nepal noch nicht breit verfügbar. Durch die Weiterentwicklung der NGS könnte diese Technik an Bedeutung gewinnen. Dies gilt in erster Linie für die klinische Forschung und langfristig für den klinischen Alltag. Diese Methode hat den großen Vorteil, dass sie sich nicht auf den Nachweis einzelner Erreger beschränkt.

#### **5.4 Hypothese und studienrelevante Fragen**

Nach den bisherigen Erkenntnissen wird nun auf die Fragen aus dem Kapitel 3.1 genauer eingegangen:

- Was ist die zugrundeliegende Ursache der Eosinophilie dieser Kinder? Handelt es sich tatsächlich, wie durch die Ärzte vermutet, um einen parasitären Wurm?

Wie die ersten Serologien und Stuhlanalysen zeigen, konnte bei allen Kindern, die eine Eosinophilie aufwiesen, die Präsenz von parasitären Würmern im Stuhl und bei einigen zusätzlich Antikörper als Folge einer Wurminfektion im Serum nachgewiesen werden. Im Vergleich zeigten nur zwei Probanden aus der Kontrollgruppe ein unsicheres serologisches Ergebnis (6 und 10). Auch wenn die Ergebnisse der NGS und der Serologie für die einzelnen Probanden nicht übereinstimmen, gehen beide Beobachtungen in dieselbe Richtung der gestellten Hypothese: „Eosinophilie bei Kindern im Dhulikhel Krankenhaus ist durch eine bisher unidentifizierte parasitäre Wurminfektion bedingt“ (Gehring and Shrestha, 2020).

Demgegenüber steht der DNA-Nachweis, bei acht Probanden, darunter sieben Eosinophilie-Fällen, der Einzeller Eimeriorina. Sechs Arten, die hier einzuordnen sind, gelten als pathologisch für Menschen (Berman, 2019). Darunter fallen auch *Cystoisospora belli* (auch *Isospora belli* genannt) und zwei Arten der Gattung *Sarcocystis*, welche jeweils mit einer Eosinophilie einhergehen können (Mehlhorn, 2012a; O'Connell and Nutman, 2015). Um diese Ergebnisse einordnen zu können, ist

eine genauere Einteilung auf Artenebene des nachgewiesenen genetischen Materials vonnöten.

- Ist die Ursache für alle Fälle die Gleiche, wenn man bedenkt, dass viele Parasiten mit einer Eosinophilie einhergehen können (Kovalszki and Weller, 2016)?

Nach den bisherigen Erkenntnissen litten die Kinder an unterschiedlichen parasitären Wurmerkrankungen. Die Serologie war positiv auf *Strongyloides stercoralis* bei einem Probanden und auf *Fasciola hepatica* bei drei Probanden. Da diese Untersuchung eine gleichzeitige Infektion mit weiteren Erregern, darunter den Filarien, *Schistosoma mansoni*, *Strongyloides* spp. und *Trichinella spiralis*, nicht ausschließen konnte, leiden diese Kinder möglicherweise an einem Polyparasitismus, welcher sowohl in anderen Ländern als auch in Nepal bereits häufiger beschrieben wurde (Booth et al., 1998; Hotez et al., 2008; Kunwar et al., 2016; Donohue et al., 2019). Dazu muss erwähnt werden, dass alle genannten Parasiten einzeln mit einer Eosinophilie einhergehen können. Zudem konnte in der NGS die Präsenz einer Vielzahl an Erreger nachgewiesen werden. Somit kann dieser Frage bereits zum aktuellen Zeitpunkt verneint werden.

- Liegt eine Ursache vor, die nicht bekannterweise mit einer Eosinophilie einhergeht?

Die mittels Serologie erfassten Helminthiasen können alle mit einer Eosinophilie einhergehen. Die meisten Eukaryoten, deren DNA in der NGS mit einem Anteil von mindestens 0,01% nachgewiesen wurde, können auch mit einer Eosinophilie in Verbindung gebracht werden. Eine Ausnahme bilden die drei Fadenwürmer *Caenorhabditis*, *Oscheius tipulae* und *Haemonchus contortus*. Anhand der Literatur kann ihnen keine parasitäre Funktion im Menschen zugeschrieben werden. Zudem muss der Einzeller *Trichomonas vaginalis* erwähnt werden, da dieser ebenso nicht mit einer Eosinophilie einhergeht. Dieser wurde bei einer weiblichen Probandin aus der Kontrollgruppe gefunden. Da es sich um einen Parasiten handelt, welcher sich auf der Urogenitalschleimhaut vermehrt (Mehlhorn, 2012a), ist von einer Kontamination des Stuhls auszugehen.

Weiterhin hatte sowohl in der Eosinophilie-Gruppe der Machbarkeitsanalyse als auch unter den ersten neun Eosinophilie-Fällen der Studie jeweils ein Proband eine positive Stuhluntersuchung auf *Giardia lamblia*. Der Nachweis von diesem Einzeller bei einem Eosinophilie-Fall wurde bereits in einzelnen Fallstudien beschrieben (Suzuki et al.,

2010; Ahmad et al., 2011). Die direkte Stuhluntersuchung ist kostengünstig und zeigt eine sehr hohe Spezifität (96-100%). Die Sensitivität liegt bei 34,7-55% (Hooshyar et al., 2019). In unserer Studie muss diese Diagnose bedacht werden, da sie in Nepal vermehrt vorkommt (Devleesschauwer et al., 2014). Die Literatur ist sich bisher uneinig, ob eine Infektion mit *Giardia lamblia* tatsächlich mit einer Eosinophilie einhergeht (Law and Varma, 2015; Kovalszki and Weller, 2016; Sreedharanunni et al., 2018; Henes et al., 2019). Demnach wird dieser Erreger nicht als Hauptfokus betrachtet.

Da alle anderen Parasiten mit einer Eosinophilie einhergehen können und bei allen Probanden aus der Fallgruppe mehrere Erreger nachgewiesen wurden, ist es unwahrscheinlich, dass einer der oben genannten Eukaryonten für die Erhöhung der Eosinophilen verantwortlich ist.

- Handelt es sich um einen unbekanntem humanpathogenen Parasiten?

Die Serologie untersucht ausschließlich humanpathogene Parasiten und kann somit keine Antwort auf die Frage geben. Die NGS hingegen deckt ein deutlich breiteres Spektrum ab. Dort wurden neben DNA von bekannten humanpathogenen Würmern wie *Schistosoma mansoni* auch primär Tiere infizierende Würmer wie *Haemonchus contortus* und *Hymenolepis microstoma* oder sogar Würmer, die nicht als parasitär angesehen werden wie *Caenorhabditis* oder *Oscheius tipulae*, nachgewiesen.

*Haemonchus contortus* wurde bei allen elf untersuchten Probanden mit mindestens 0,01% der DNA erstaunlich häufig gefunden. Dieser Fadenwurm infiziert Schafe, Kälber und Ziegen (Emery et al., 2016). Hingegen hat *Hymenolepis microstoma* als primären Endwirt Nagetiere, obwohl bereits vereinzelte Infektionen des Menschen beschrieben wurden (Macnish et al., 2003; Bhosale, 2022). Dieser Bandwurm wurde in der NGS bei vier Probanden aus der Eosinophilie-Gruppe gefunden. Ob der Nachweis von genetischem Material dieser beiden Würmer einen pathologischen Wert für die betroffenen Kinder hat, lässt sich nicht sagen.

*Caenorhabditis* hält sich primär auf faulem Obst (Félix and Dureau, 2012) und *Oscheius tipulae* in der Erde (Felix, 2006) auf. Diese zwei Fadenwürmer aus der Familie der Rhabditidae wurden wahrscheinlich versehentlich über die Umwelt durch die Nahrung aufgenommen.

- Gibt es eine gemeinsame Quelle im Sinne eines Erregerreservoirs der gesuchten Ursache?

Aus der Kohorte der Machbarkeitsanalyse gaben mehrere Kinder an, rohe oder nicht durchgekochte Kresse und/oder Süßwasserkrabbe konsumiert zu haben. Dies war durch frühere Beobachtungen zu erwarten. Die Einnahme von Krabben wurde ebenso in der Studie von Shrijana Shrestha et al. (2012b) bei den meisten Probanden beschrieben. *Paragonimus* spp. ist der wahrscheinlichste Erreger, der durch den Konsum von nicht durchgekochter Süßwasserkrabbe übertragen wird und mit einer Eosinophilie einhergeht (Shim et al., 1991; Sah and Khadka, 2017; Gaire et al., 2017; CDC, 2022). Dieser wurde über die Serologie bisher nicht gezielt untersucht. *Fasciola hepatica* wird über die Einnahme von nicht durchgekochter Wasserkresse übertragen und geht typischerweise mit einer Eosinophilie einher (Ravin and Loy, 2016; CDC, 2022). Eine Infektion mit diesem Erreger konnte in der Serumuntersuchung bei drei Fällen nachgewiesen werden.

Eine Infektion mit *Strongyloides stercoralis*, die einmal sicher und zweimal fraglich in Serumproben nachgewiesen wurde, gehört zu den STHs (WHO, 2020) und kann eine Eosinophilie erklären (Kovalszki and Weller, 2016). Die Übertragung des Erregers erfolgt über den Kontakt der Haut mit infiziertem Stuhl (Mehlhorn, 2012b).

Wie bereits erwähnt und aus der Tabelle 15 im Anhang zu entnehmen, können sowohl der Konsum von manchen, nicht ausreichend durchgekochten Nahrungsmitteln, als auch eine mangelnde Hygiene Quellen für Parasitenübertragungen darstellen. Da die Eosinophilie-Fälle an unterschiedlichen Helminthiasen leiden, ist eine gemeinsame Quelle für alle Betroffenen unwahrscheinlich. Bei einer Infektion mit dem gleichen Wurm ist eine ähnliche Übertragungsquelle möglich. Hierfür wird die Auswertung des Fragebogens weitere Informationen liefern.

- Wie ist die epidemiologische Verteilung der Kinder mit Eosinophilie?

Die Häufung der Fälle in der Zeit um den September zeigte sich sowohl in der Dokumentation der Eosinophilie (siehe Kapitel 5.1), wie auch in der Machbarkeitsanalyse. Bei der Letztgenannten wurde ein zweiter Gipfel im Februar beobachtet. Die Feststellung einer saisonalen Häufung der Eosinophilie-Fälle haben zusätzlich ärztliche Kollegen aus Nepal aus dem klinischen Alltag berichtet. Wie oben beschrieben (siehe Kapitel 5.1) könnte dies einen Hinweis auf eine ursächliche parasitäre Wurmerkrankung geben.

Der Altersgipfel in all den bisher erhobenen Daten liegt höher als der, welcher bei den 2012 untersuchten Kinder aus dem DH ermittelt wurde. Ähnlich viele Patienten weisen ein Alter zwischen fünf und zehn Jahren auf (40,5% in der damaligen Studie, 41% in der Machbarkeitsanalyse). Allerdings sind in den neuen Daten auch ältere Patienten dabei (acht Patienten über dreizehn Jahre, in der damaligen Studie keine) (Shrestha et al., 2012a). In den ersten Ergebnissen der Studie ist die Mehrheit der Eosinophilie-Fälle elf Jahre und älter. Auch in der Studie aus Patan waren die Patienten durchschnittlich jünger als in unseren Daten (Shrestha et al., 2012b). Es ist nicht möglich zu identifizieren, ob dieser Unterschied an einer fehlenden Systematik bei der Erfassung der Daten, an einem Zufall oder tatsächlich an einem Wandel des betroffenen Patientenkollektivs liegt.

Wie in beiden Studien zur Eosinophilie bei Kindern in Nepal aus 2012 (Shrestha et al., 2012a; Shrestha et al., 2012b) wurden in all unseren bisherigen Daten deutlich mehr männliche als weibliche Patienten mit Eosinophilie beschrieben. Eine Querschnittsstudie aus Australien zeigte auf, dass bei gesunden Probanden das männliche Geschlecht im Allgemeinen mit höheren (noch im Normbereich liegenden) Eosinophilen-Werten einhergeht (Hartl et al., 2020). Außerdem scheinen das HES und die primär klonalen Eosinophilien bei Männern häufiger vorzukommen (Chusid et al., 1975; Tefferi, 2005). In der Literatur unterscheidet sich je nach Studie die Geschlechterverteilung von Patienten mit Eosinophilie verschiedener oder unklarer Genese. Diverse Veröffentlichungen, die sich jeweils auf Kinder oder Erwachsene beziehen, zeigten keinen Unterschied zwischen den Geschlechtern (Sade et al., 2007; Belhassen-Garcia et al., 2014; Burris et al., 2019; Wardlaw et al., 2021). Wiederum andere zeigen eine männliche Dominanz der Eosinophilie-Fälle (Schulte et al., 2002; Sreedharanunni et al., 2018). Im Endeffekt ist bisher ungeklärt, weshalb in unseren Daten mehr männliche Eosinophilie-Fälle beobachtet wurden.

- Falls sich parasitäre Wurminfektionen in der Diagnostik herausstellen, wurden diese bereits in Nepal beschrieben und wenn ja, gelten sie als endemisch?

Die bisherigen Daten liefern nur wenig aussagekräftige Ergebnisse. Sowohl *Paragonimus* spp., der bei Konsum von Krabben als wahrscheinlicher Erreger in Frage kommt, als auch beide in der Serologie nachgewiesenen Infektionen *Fasciola hepatica* und *Strongyloides stercoralis* wurden durch Devleeschauwer et al. (2014) als wahrscheinlich endemisch in Nepal gewertet. Gleiches gilt für die in der Serologie positive oder fragliche Infektionen mit *Toxocara* spp., *Strongyloides stercoralis* und

*Trichinella spiralis*. Die zwei letztgenannten gehören zu den STHs und werden mittels PC bei Kindern im Land aktiv bekämpft (WHO, 2022d). Zur Behandlung von *Fasciola hepatica* wird das Anthelminthikum Triclabendazol als einziges durch die WHO (2021) empfohlen. Dieses steht allerdings in Nepal nicht zu Verfügung (Sah et al., 2017). Eine durch die WHO koordinierte MDA, welche die Verfügbarkeit von Medikamenten erleichtert, wird testweise in Bolivien durchgeführt und hat weitere Länder noch nicht erreicht (WHO, 2020).

Eine Infektion mit Filarien war bei vier Serumproben fraglich. Dabei ist die lymphatische Filariasis endemisch in Nepal und wird im Land mittels MDA bekämpft (WHO, 2022d). Die Prävalenz der Erkrankung hat in Nepal in den letzten Jahren abgenommen (Ojha et al., 2017; Cromwell et al., 2020). Vor ein paar Jahren wären möglicherweise mehr solcher Fälle unter den Probanden diagnostiziert worden. Devleesschauwer et al. (2014) werteten die *Dirofilariasis* als möglich endemisch, wohingegen die Onchocerkose in Nepal nicht endemisch ist (WHO, 2020).

Bei allen Probanden mit einem Erregernachweis im Stuhl von mindestens 0,01% konnte auch DNA von *Dicrocoelium dendriticum* und *Spirometra erinaceieuropaei* nachgewiesen werden. Bisher gibt es in der Literatur keine Daten zur *Dicrocoeliasis* in Nepal. Der Nachweis dieses Saugwurms ist umso erstaunlicher, da eine Infektion vom Menschen nur selten beschrieben wurde (Magi et al., 2009). Die Infektion mit *Spirometra* spp., auch Sparganose genannt, wurde als möglich aber nicht wahrscheinlich endemisch in Nepal beschrieben (Devleesschauwer et al., 2014). Zudem wurde auch bei vielen Probanden *Schistosoma mansoni* im Stuhl nachgewiesen, obwohl dieser Parasit in Nepal nicht als endemisch gilt (WHO, 2020).

- Mit welchen Symptomen präsentieren sich die Patienten mit Eosinophilie unklarer Genese?

Die Symptome der Eosinophilie-Fälle aus der Machbarkeitsanalyse waren vielfältig und unspezifisch. Die Mehrheit waren respiratorische Symptome gefolgt von allgemeinen und GIT-Symptomen. Weiterhin zeigte die Hälfte der genannten Kinder freie Flüssigkeit, wobei es sich meistens um einen Pleuraerguss handelte. All diese Ergebnisse ähneln denen der beiden Studien aus 2012 (Shrestha et al., 2012b; Shrestha et al., 2012a). Dies sind sehr unspezifische Hinweise auf Erkrankungen, die ohne weitere Diagnostik für eine Diagnosestellung nicht ausreichen.

- Sind die routinemäßig eingesetzten diagnostischen Mittel, wie das Mikroskopieren, nicht sensitiv genug und wird der Parasit somit nicht erkannt?

Auch wenn die mikroskopische Untersuchung breit verfügbar und kostengünstig ist, bringt dieses Diagnostikum neben einer niedrigen Sensitivität weitere Nachteile mit sich. Manche Parasitenarten lassen sich schwer voneinander unterscheiden. Zudem ist je nach Art nur in einem bestimmten zeitlichen Rahmen nach der Infektion eine Diagnostik möglich (Momcilovic et al., 2019). Auch in unseren Daten wurde trotz negativer Stuhl mikroskopie bei vier Probanden eine Infektion mittels Serologie diagnostiziert. Anders sah es bei Proband 4 aus. Dort wurden bereits unter dem Mikroskop Zysten von *Giardia lamblia* nachgewiesen. Unsere Ergebnisse deuten darauf hin, dass Mikroskopieren allein für eine umfassende parasitäre Diagnostik nicht ausreicht.

## 5.5 Limitationen der Studie

Inspiziert von Dreier et al. (2012) wird im Folgenden auf Limitationen der Studie eingegangen.

### Zufälliger Fehler

Der Stichprobenumfang schränkt komplexe statistische Verfahren ein. Der limitierende Faktor ist die geringe Zahl an potenziellen Probanden. Diese ist einerseits durch den Charakter einer monozentrischen Studie, aber auch durch die relativ seltene Zielgruppe von Kindern mit Eosinophilie zu erklären. Zudem spielen dabei die Ein- und Ausschlusskriterien eine Rolle. Deshalb wurde eine Erweiterung auf die angegliederten Gesundheitseinrichtungen bereits bei der Planung der Studie angedacht. Weitere Studien, welche im Land verteilt durchgeführt würden, könnten die Aussagekraft der Daten verstärken.

### Selektionsbias

Die untersuchten Probanden besuchen alle eine Gesundheitseinrichtung. Somit repräsentiert die Stichprobe nicht die gesamte Bevölkerung im Kindesalter von Nepal. Weiterhin kann eine Eosinophilie auch ohne, oder nur mit wenigen Symptomen einhergehen (Schulte et al., 2002; Makkar et al., 2005). Solche Kinder werden, auch wenn ihre Behandlung im DH stattfindet, von der Studie nicht zwingend erfasst. Zudem kann bei Kindern, bei denen kein Blutbild gemacht wird, keine Eosinophilie festgestellt werden. Aufgrund solcher Selektionsbias kann kein direkter Rückschluss von den

entdeckten Ursachen für die Eosinophilie aus der Studienpopulation auf die Gesamtbevölkerung gemacht werden.

#### Informationsbias

Verschiedene Faktoren erschweren die Datenerhebung der Studie. Das nepalesische Wohnadressensystem ist nicht mit dem deutschen zu vergleichen. Sowohl Straßennamen als auch Hausnummern sind nur vereinzelt vorhanden. Die genauen Angaben zum Wohnort sind somit schwer systematisch zu dokumentieren, was das Ausmachen einer möglichen gemeinsamen Quelle von Parasiten beeinträchtigen kann. Neben unterschiedlichen Sprachen benutzen Nepalesen teilweise einen eigenen Kalender, welcher sich „Bikram Sambas“ nennt. Dieser geht dem in deutschen Breiten verwendeten „gregorianische Kalender“ circa 57 ½ Jahre voraus und deren Monate überschneiden sich relativ mittig. Beide Aspekte können die Kommunikation und somit eine fehlerfreie Datenerhebung erschweren.

Obwohl die Studie prospektiv ist, basiert das Ausfüllen des Fragebogens auf Erinnerungen der Patienten. Da diese bei den Teilnehmern unvollständig oder falsch sein können, kann sich das negativ auf die Studienergebnisse auswirken (Recall-bias) (Dreier et al., 2012). Zudem könnte der Fall eintreten, dass diverse Patienten aus Scham auf manche soziodemographischen Fragen, insbesondere zur Hygiene, nicht wahrheitsgemäß antworten.

Zur systematischen Datengewinnung wurden der Frage- und Untersuchungsbogen entwickelt. Der gesamte Fragebogen wurde auf Nepali übersetzt und von mehreren Kollegen vor Ort auf Richtigkeit und Verständlichkeit überprüft. Die Mitarbeiter der Klinik in Dhulikhel sind daran gewöhnt, mit beiden Kalendern zu arbeiten und sprechen in ihrem medizinischen Alltag sowohl Nepali als auch Englisch. Eine wissenschaftliche Mitarbeiterin wurde vor Ort angestellt, um die Fragebögen auch mündlich mit den Probanden und deren Eltern durchzusprechen und möglichst akkurat auszufüllen.

#### Confounding

Eine Verzerrung durch eventuelle Störfaktoren (Confounder) ist bei Beobachtungsstudien keine Seltenheit (Dreier et al., 2012). Um dem entgegenzuwirken, wurden bereits beim Planen der Studie Matching-Kriterien festgelegt. Im Laufe der Entwicklung von Kindern ändert sich unter anderem deren Ernährung, Verhalten und Immunität, was zu einer unterschiedlichen Morbidität für verschiedenste Erkrankungen führen kann. Zudem scheint das Alter auf die Wurmlast einen Einfluss zu haben (Hotez et al.,

2008). Weiterhin weist die Übertragung gewisser Helminthiasen eine Saisonalität auf (Mas-Coma et al., 2018; Hotez et al., 2008; Qureshi et al., 2016). Deshalb wird ein Gruppen-Matching nach Alter sowie ein saisonales Matching, in dem die Probanden ihr Erstgespräch innerhalb +/- ein Monat haben müssen, versucht einzuhalten (Gehring and Shrestha, 2020).

#### Limitationen der bisherigen Daten

Die Daten aus der Machbarkeitsanalyse sind mit Vorsicht zu betrachten. Es wurden teilweise unterschiedliche Fragebögen durch unterschiedliche Mitarbeiter ausgefüllt, was die Konsistenz der Daten beeinträchtigt. Die Erhebung der Daten erfolgte sporadisch, weshalb keine Aussage bezüglich der Inzidenz der Eosinophilie getroffen werden kann. Außerdem ist die Zahl der Patienten zu gering, um die Fälle mit den Kontrollen sinnvoll vergleichen zu können und signifikante Ergebnisse zu erzielen. Die Erhebung der ersten Daten der Studie konnte nicht so systematisch durchgeführt werden wie ursprünglich geplant. Dies war unter anderem der COVID-19-Pandemie geschuldet.

### **5.6 Herausforderungen**

Wie der Soziologieprofessor Jeroen Huisman (2021) schrieb: „The hardest bit – in my view– is to make a start with new partners“. In der Tat wird die Zusammenarbeit zwischen zwei Kliniken aus sehr unterschiedlichen Ländern meistens vor große Herausforderungen gestellt. Neben den kulturellen und sprachlichen Unterschieden können auch die verschiedenen Arbeitskulturen und die Disparität vom Wohlstand zweier Länder herausfordernd sein. Aspekte wie die räumliche Entfernung zwischen den Kooperationspartnern und der damit einhergehende Zeitunterschied können die Kommunikation erschweren.

Um dem entgegenzuwirken, ist ein regelmäßiger, offener und langjähriger Austausch für beide Kooperationspartner von Vorteil. Wie in der Literatur beschrieben, beruht und schafft dies Vertrauen, welches für solche Zusammenarbeiten unerlässlich ist (Parker and Kingori, 2016; Matenga et al., 2019).

Auch wenn das DH eine privilegierte Situation der Gesundheitsversorgung darstellt, befindet sich das Krankenhaus in einem Land, welches nach wie vor durch Korruption beeinflusst wird. Selbst das Gesundheitswesen bleibt davon nicht ausgenommen

(Sharma, 2010; Giri et al., 2013; Jaishwal, 2020). Eine enge Zusammenarbeit der beiden Partner kann diesem Problem entgegenwirken, beziehungsweise vorbeugen.

Die Antragstellung der Ethik war allgemein komplex. Aufgrund fehlender diagnostischer Methoden (etablierte Serum-ELISA) und Mittel (keine NGS-Maschine) musste biologisches Material über sehr weite Strecken transportiert werden. Dies war bei Beginn des Vorhabens bekannt, erschwerte dennoch die ethische Antragstellung und stellte zudem eine logistische Herausforderung dar. Zudem waren die genauen Angaben zu den ethischen Anforderungen den jeweiligen Institutionen nicht eindeutig zu entnehmen. Insbesondere der mehrfache Austausch mit zwei getrennten Ethikkommissionen erschwerte und verlängerte das Verfahren.

Gleichzeitig erschwerte die COVID-19-Pandemie, die Anfang 2020 die ganze Welt traf, den Start der Studie erheblich. Während des Höchststandes der Pandemie wurde der Betrieb der Kinderklinik im DH auf Notfälle beschränkt. Somit besuchten deutlich weniger Patienten die Kinderklinik und es konnte eine geringere Anzahl an Probanden als geplant rekrutiert werden. Außerdem war das Reisen über einen längeren Zeitraum stark eingeschränkt bis ausgeschlossen, was den direkten wissenschaftlichen Austausch unmöglich machte.

Die Suche nach unbekanntem parasitären Helminthen stellt in sich selbst eine Herausforderung dar. Aufgrund der Komplexität dieser Organismen reicht häufig eine einzige diagnostische Methode nicht aus, um einen parasitären Wurm zu erfassen (Jourdan et al., 2018), geschweige denn mehrere Helminthen gleichzeitig abzudecken. Zusätzlich wirkt sich negativ aus, dass viele parasitäre Würmer zu den vernachlässigten tropischen Krankheiten zählen (WHO, 2020). Diese werden trotz ihres weltweit häufigen Vorkommens verhältnismäßig wenig untersucht. Aus diesen Gründen wurden unterschiedliche diagnostische Methoden in die Studie eingeschlossen. Die bisherigen Ergebnisse zeigen den Vorteil dieses Vorgehens.

## **5.7 Ausblick**

Die Fortführung der Studie ist wichtig, um die Aussagekraft der Daten zu erhöhen und im weiteren Verlauf die Fall- mit der Kontrollgruppe vergleichen zu können. Dies kann eventuell mehr über die Kausalität zwischen den Würmern mit der Eosinophilie sowie über den pathologischen Wert für den Menschen mancher im Stuhl nachgewiesener Erreger aussagen. Dabei ist ein besonderes Augenmerk auf die gute Kommunikation

zwischen beiden Kooperationspartnern zu setzen. Das Einbeziehen der Frage- und Untersuchungsbögen in die Gesamtauswertung wird die Informationsmenge zu den einzelnen Probanden erweitern. Dabei sind Aspekte der Hygiene, des Konsums mancher Nahrungsmittel und der Kontakt mit bestimmten Tieren, die als Erregerreservoir für Würmer dienen können, von besonderem Interesse. Die Zusammenschau der verschiedenen Befunde (Frage- und Untersuchungsbogen, Stuhlmikroskopie, Serologie, NGS des Stuhls) wird im Laufe der Studie mehr Aufschluss über die gestellten Fragen liefern.

Zudem ist die Weiterentwicklung der diagnostischen Methoden der NGS, insbesondere der AS, notwendig (Großbach, 2021). Zusätzlich könnte eine gezielte serologische Analyse diverser Probanden in Betracht gezogen werden, insbesondere wenn die Anamnese bereits Hinweise für einen bestimmten Pathogen liefert. Zum Beispiel könnte auf eine Infektion mit *Paragonimus* spp. bei vorangegangenem Konsum von nicht durchgekochter Krabbe untersucht werden.

Wie es bereits durch zum Beispiel Parfrey et al. (2014) durchgeführt wurde, könnten aufbauend auf die Studie einzelne Umweltfaktoren, wie beispielsweise das von Probanden konsumierte Wasser oder Lebensmittel, mittels NGS untersucht werden. Dies kann zu einem weiteren Aufschluss in Bezug auf die Frage des Ursprungs der Eosinophilie helfen.

Die Studie soll, wie es bereits geplant ist, im weiteren Verlauf auf weitere dem DH angegliederten Gesundheitseinrichtungen ausgeweitet werden. Dabei würden mehr geographische Regionen abgebildet und gerade die ländlich angesiedelten Probanden miteinbezogen werden. Um eine Idee über die Prävalenz der Eosinophilie bei Kindern in Nepal zu erhalten, wäre die Durchführung einer Querschnittsstudie in mehreren pädiatrischen Kliniken sowie in Schulen von großem Interesse.

Durch den Gewinn von neuen Erkenntnissen bleibt ein übergeordnetes Ziel der Studie die Diagnostik, Behandlung und Prävention der pädiatrischen Patienten aus dem DH und im weiteren Sinne der nepalesischen Bevölkerung, zu verbessern. Als Beispiel für die Diagnostik könnten die Serologie und NGS im DH implementiert werden. Der Einsatz von immunochromatographischen Schnelltests, welche sich aktuell noch in Forschung befindenden, wäre eine weitere Möglichkeit (Momcilovic et al., 2019). Als konkretes Beispiel zur Behandlung wäre es sinnvoll die Probanden, bei denen mittels Serologie eine Diagnose gestellt werden kann, entsprechend zu therapieren.

## 6 Zusammenfassung

Die Eosinophilie, eine Erhöhung der eosinophilen Granulozyten im peripheren Blut, ist eine Abweichung der Norm und spricht für eine Reaktion des Körpers auf einen nicht-gesunden Zustand. Bei Kindern liegt meist eine reaktive, sprich sekundäre Eosinophilie vor. In sozioökonomisch ärmeren Ländern wie Nepal sind viele parasitäre Wurminfektionen, fachsprachlich Helminthiasen, endemisch und stellen die häufigste Ursache für eine sekundäre Eosinophilie dar. Fadenwürmer, Bandwürmer und Saugwürmer sind typische Verursacher von parasitäre Wurmerkrankungen. Schätzungsweise ein Viertel der Weltbevölkerung ist davon betroffen. Zudem werden zahlreiche Helminthiasen durch die WHO zu den vernachlässigten tropischen Erkrankungen gezählt. Aspekte wie ein unsicherer WASH-Zugang (Wasser, Sanitäreinrichtung und Hygiene) werden mit parasitären Wurmerkrankungen in Zusammenhang gebracht und spielen in Nepal auch heutzutage eine zentrale Rolle. Die diagnostischen Möglichkeiten zur Untersuchung parasitärer Erkrankungen beschränken sich auf die Anamnese, die körperliche Untersuchung und die lokal verfügbare Labordiagnostik, zu welcher die Stuhlmikroskopie und die Bildgebung gehört.

In Krankenhäusern in Nepal wurde das vermehrte Vorkommen der Eosinophilie mit unklarer Genese bei Kindern festgestellt. Um das Problem näher zu beleuchten, wurde eine Studie zur Untersuchung, der von Eosinophilie betroffenen Kinder entwickelt und gestartet: die Fall-Kontroll-Studie „Evaluation of cause of eosinophilia in children in Dhulikhel hospital and its affiliated health facilities“. Die Studie erfolgte in Zusammenarbeit und Partnerschaft zwischen dem Dhulikhel Hospital (DH) und der Universitätsmedizin Mainz. Dabei wurde angenommen, dass die Eosinophilie bei Kindern im DH durch eine bisher nicht identifizierte Helminthiasis bedingt ist.

Diese Arbeit setzt sich mit der Entwicklung, dem Studienprotokoll sowie ersten Ergebnissen auseinander. Hierfür wurden Kinder aus der pädiatrischen Abteilung des DH mit Eosinophilie sowie Kontrollen rekrutiert. Zur Diagnostik erfolgten das Ausfüllen eines Frage- und eines Untersuchungsbogens, eine Stuhlmikroskopie, eine Serologie sowie eine Stuhl-NGS. Der Beginn der Studie wurde vor zahlreiche Herausforderungen, darunter kulturelle Unterschiede und die COVID-19-Pandemie, gestellt.

In einer Machbarkeitsanalyse der Frage- und Untersuchungsbögen konnte eine Saisonalität sowie ein vermehrtes Vorkommen des männlichen Geschlechts unter den Fällen festgestellt werden. Zudem wurde von den Probanden häufig der Konsum von roher oder nicht durchgekochter Kresse und/oder Süßwasserkrabbe angegeben.

In den bisherigen Laborergebnissen konnte eine Infektion mit *Strongyloides stercoralis* bei einem und mit *Fasciola hepatica* bei drei Eosinophilie-Fällen diagnostiziert werden. In der Metagenomic Shotgun Sequencing wurde bei elf getesteten Probanden, darunter waren alle neun Eosinophilie-Fälle, DNA verschiedener Helminthen nachgewiesen. Jene sind die humanpathogenen Plattwürmer *Schistosoma mansoni*, *Dicrocoelium dendriticum*, *Spirometra erinaceieuropaei*, und die Ordnung der Cyclophyllidea, welche der Klasse der Bandwürmer zugehörig ist. Weiterhin fand man die Würmer *Haemonchus contortus* und *Hymenolepis microstoma*, welche primär Tiere infizieren. Gleichzeitig konnten die wahrscheinlich versehentlich aus der Umwelt aufgenommenen und nicht pathogenen Fadenwürmer *Caenorhabditis* und *Oscheius tipulae* nachgewiesen werden. Die MS-NGS hat den Nachteil, dass ihre Ergebnisse keine Information zur Pathogenität des gefundenen genetischen Materials liefern. Die zwei eingesetzten diagnostischen Untersuchungen scheinen sich bisher gegenseitig zu ergänzen.

Ein Großteil der oben genannten Würmer kann mit einer Eosinophilie einhergehen. Die bisherigen Ergebnisse deuten auf die Richtigkeit der gestellten Hypothese hin. Die Weiterführung der Studie sowie die Auswertung der Frage- und Untersuchungsbögen sind notwendig, um weitere Erkenntnisse zu gewinnen und das übergeordnete Ziel der Studie, die Prävention, Diagnostik und Behandlung von parasitären Wurmerkrankungen betroffener Kinder, zu verwirklichen.

## 7 Literaturverzeichnis

- (2015). 'The Constitution of Nepal'. Retrieved from <https://www.wipo.int/edocs/lexdocs/laws/en/np/np029en.pdf>
- Ackerman, S. J. & Bochner, B. S. (2007). 'Mechanisms of eosinophilia in the pathogenesis of hypereosinophilic disorders'. *Immunol Allergy Clin North Am*, 27(3), pp. 357-75. doi:10.1016/j.iac.2007.07.004
- Ahmad, R. N., et al. (2011). 'Severe eosinophilia in a case of giardiasis'. *Mediterr J Hematol Infect Dis*, 3(1). doi:10.4084/MJHID.2011.009
- Andersen, C. L., et al. (2013). 'Eosinophilia in routine blood samples and the subsequent risk of hematological malignancies and death'. *Am J Hematol*, 88(10), pp. 843-7. doi:10.1002/ajh.23515
- Appleton, C. C. & Gouws, E. (1996). 'The distribution of common intestinal nematodes along an altitudinal transect in KwaZulu-Natal, South Africa'. *Ann Trop Med Parasitol*, 90(2), pp. 181-8. doi:10.1080/00034983.1996.11813042
- Bashiardes, S., Zilberman-Schapira, G. & Elinav, E. (2016). 'Use of Metatranscriptomics in Microbiome Research'. *Bioinform Biol Insights*, 10, pp. 19-25. doi:10.4137/BBI.S34610
- Belhassen-Garcia, M., et al. (2014). 'Relevance of eosinophilia and hyper-IgE in immigrant children'. *Medicine (Baltimore)*, 93(6). doi:10.1097/MD.0000000000000043
- Berman, J. J. (2019). 'Chapter 4 - Eukaryotes' In Berman, J. J. (Ed.), *Taxonomic Guide to Infectious Diseases* (Second ed., pp. 121-168): Academic Press. doi:<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-817576-7.00004-3>
- Bhandari, N., Kausaph, V. & Neupane, G. P. (2011). 'Intestinal parasitic infection among school age children'. *J Nepal Health Res Counc*, 9(1), pp. 30-2. PMID: 22929709.
- Bhosale, N. K. (2022). 'Hymenolepiasis' In Parija, S. C. & Chaudhury, A. (Eds.), *Textbook of parasitic zoonoses* (pp. 385-392). Singapore: Springer Nature Singapore. doi:10.1007/978-981-16-7204-0\_36
- Blair, D. (2014). 'Paragonimiasis' In Toledo, R. & Fried, B. (Eds.), *Digenetic Trematodes* (pp. 115-152). New York: Springer New York. doi:10.1007/978-1-4939-0915-5\_5
- Boers, S. A., Jansen, R. & Hays, J. P. (2019). 'Understanding and overcoming the pitfalls and biases of next-generation sequencing (NGS) methods for use in the routine clinical microbiological diagnostic laboratory'. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 38(6), pp. 1059-1070. doi:10.1007/s10096-019-03520-3
- Booth, M., et al. (1998). 'Associations among multiple geohelminth species infections in schoolchildren from Pemba Island'. *Parasitology*, 116 ( Pt 1), pp. 85-93. doi:10.1017/s003118209700190x
- Burris, D., et al. (2019). 'Pediatric Hypereosinophilia: Characteristics, Clinical Manifestations, and Diagnoses'. *J Allergy Clin Immunol Pract*, 7(8). doi:10.1016/j.jaip.2019.05.011
- Butt, N. M., et al. (2017). 'Guideline for the investigation and management of eosinophilia'. *Br J Haematol*, 176(4), pp. 553-572. doi:10.1111/bjh.14488
- Campbell, E. W. & Beals, C. (1977). 'Striking eosinophilia in sparganosis'. *Postgrad Med*, 62(6), pp. 138-40. doi:10.1080/00325481.1977.11714709
- CDC, Division of Parasitic Diseases and Malaria (2020). 'Parasites - Children'. Retrieved 13.08.2022, from <https://www.cdc.gov/parasites/children.html>
- CDC, Division of Parasitic Diseases and Malaria (2022). 'Parasites'. Retrieved 15.09.2022, from <https://www.cdc.gov/parasites/>

- Central Bureau of Statistics, Government of Nepal (2011). 'Nepal Living Standards Survey 2010/11 Volume I and II'. Nepal. Retrieved from <http://www.investnepal.gov.np/portal/index.php?p1=download&f=cmVzb3VyY2VfOTE2MGEyMjhhODUwYzAucGRmOjpOTFNTX1ZvbCAoSSBhbmQgSUkplnBkZg==>
- Central Bureau of Statistics, Government of Nepal (2012). 'National Population and Housing Census 2011'. Kathmandu. Retrieved from <https://censusnepal.cbs.gov.np/Home/Details?tpid=5&tfsid=1>
- Central Bureau of Statistics, Government of Nepal (2014). 'Population Atlas of Nepal 2014'. Kathmandu. Retrieved from <https://cbs.gov.np/catalog/atlas/eAtlasMap.html>
- Chai, J. Y. & Jung, B. K. (2022). 'General overview of the current status of human foodborne trematodiasis'. *Parasitology*, 149(10), pp. 1262-1285. doi:10.1017/S0031182022000725
- Chusid, M. J., et al. (1975). 'The hypereosinophilic syndrome: analysis of fourteen cases with review of the literature'. *Medicine (Baltimore)*, 54(1), pp. 1-27. PMID: 1090795.
- Cromwell, E. A., et al. (2020). 'The global distribution of lymphatic filariasis, 2000–18: a geospatial analysis'. *The Lancet Global Health*, 8(9), pp. e1186-e1194. doi:10.1016/s2214-109x(20)30286-2
- Davoine, F. & Lacy, P. (2014). 'Eosinophil cytokines, chemokines, and growth factors: emerging roles in immunity'. *Front Immunol*, 5. doi:10.3389/fimmu.2014.00570
- Department of Water Resources and Irrigation, Ministry of Energy, Water Resources, and Irrigation, Government of Nepal (2019). 'Irrigation Master Plan 2019'. Retrieved from <https://www.dwri.gov.np/files/document/20210222080845.pdf>
- Devleesschauwer, B., et al. (2014). 'The burden of parasitic zoonoses in Nepal: a systematic review'. *PLoS Negl Trop Dis*, 8(1). doi:10.1371/journal.pntd.0002634
- Dhulikhel Hospital (2022a). 'Department of Pediatrics'. Retrieved 29.06.2022, from <https://dhulikhelhospital.org/our-services/pediatrics/>
- Dhulikhel Hospital (2022b). 'Dhulikhel Hospital Updates - Annual Report 2078'. Retrieved from <https://dhulikhelhospital.org/downloads/>
- Dhulikhel Municipality. (2022). 'Brief Introduction'. Retrieved 29.07.2022, from <https://dhulikhelmun.gov.np/en/node/4>
- Donohue, R. E., Cross, Z. K. & Michael, E. (2019). 'The extent, nature, and pathogenic consequences of helminth polyparasitism in humans: A meta-analysis'. *PLoS Negl Trop Dis*, 13(6). doi:10.1371/journal.pntd.0007455
- Dreier, M., Kramer, S. & Stark, K. (2012). 'Epidemiologische Methoden zur Gewinnung verlässlicher Daten.'. *Public Health*, pp. 409-49. doi:10.1016/b978-3-437-22261-0.00017-4
- Druilhe, A., Létuvé, S. & Pretolani, M. (2003). 'Glucocorticoid-induced apoptosis in human eosinophils: mechanisms of action'. *Apoptosis*, 8(5), pp. 481-95. doi:10.1023/a:1025590308147
- Ehrlich, P. (1879). 'Über die spezifischen Granulationen des Blutes'. In *Archiv für Anatomie und Physiologie: Physiologische Abteilung* (ed.). Retrieved from [https://www.pei.de/SharedDocs/Downloads/DE/institut/veroeffentlichungen-von-paul-ehrlich/1877-1885/1879-spezifische-granulation-des-blutes.pdf?\\_\\_blob=publicationFile&v=2](https://www.pei.de/SharedDocs/Downloads/DE/institut/veroeffentlichungen-von-paul-ehrlich/1877-1885/1879-spezifische-granulation-des-blutes.pdf?__blob=publicationFile&v=2)
- Emery, D. L., Hunt, P. W. & Le Jambre, L. F. (2016). 'Haemonchus contortus: the then and now, and where to from here?'. *Int J Parasitol*, 46(12), pp. 755-769. doi:10.1016/j.ijpara.2016.07.001
- Feher, D. 'Geographische Karte von Nepal'. [www.freeworldmaps.net](http://www.freeworldmaps.net) 2005-2021. Retrieved 14.09.2022, from <https://www.freeworldmaps.net/de/nepal/>

- Félix, M.-A. & Duveau, F. (2012). 'Population dynamics and habitat sharing of natural populations of *Caenorhabditis elegans* and *C. briggsae*'. *BMC Biology*, 10(1), pp. 59. doi:10.1186/1741-7007-10-59
- Felix, M. A. (2006). 'Oscheius tipulae'. *WormBook*. doi:10.1895/wormbook.1.119.1
- Forrester, J. E., et al. (1988). 'Clustering of *Ascaris lumbricoides* and *Trichuris trichiura* infections within households'. *Trans R Soc Trop Med Hyg*, 82(2), pp. 282-8. doi:10.1016/0035-9203(88)90448-8
- Gaire, D., et al. (2017). 'Unresolving Pneumonia with Pleural effusion: Pulmonary Paragonimiasis'. *J Nepal Med Asso*, 56(206), pp. 268-270.
- Gehring, S. & Shrestha, A. (2020). 'Application for ethical approval of research proposal (KUSMS-IRC); Titel: Evaluation of cause of eosinophilia in children in Dhulikhel hospital and its affiliated health facilities'.
- Giri, A., et al. (2013). 'Perceptions of government knowledge and control over contributions of aid organizations and INGOs to health in Nepal: a qualitative study'. *Global Health*, 9. doi:10.1186/1744-8603-9-1
- Gotlib, J. (2017). 'World Health Organization-defined eosinophilic disorders: 2017 update on diagnosis, risk stratification, and management'. *Am J Hematol*, 92(11), pp. 1243-1259. doi:10.1002/ajh.24880
- Government of Nepal, Ministry of Health and Population (2021a). 'NJAR - Progress of the Health and Population Sector, 2020/21'. In *National Joint Annual Review Report*. Kathmandu.
- Government of Nepal, Ministry of Health and Population, Department of Health Services. 'Medical Colleges'. Retrieved 28.06.2022, from <https://dohs.gov.np/hospitals/medical-colleges/>
- Government of Nepal, Ministry of Health and Population, Department of Health Services. (2019/20). 'Annual Report'. Kathmandu. Retrieved from <https://dohs.gov.np/wp-content/uploads/2021/07/DoHS-Annual-Report-FY-2076-77-for-website.pdf>
- Government of Nepal, National Planning Commission (2021b). 'Nepal Multidimensional Poverty Index: Analysis Towards Action'. Nepal. Retrieved from <https://www.unicef.org/nepal/reports/nepal-multidimensional-poverty-index-2021-report>
- Großbach, A. (2021). 'Detection of Intestinal Eukaryotic Parasites by Next-Generation-Sequencing Techniques'. (Master of Science).
- Hanna, R. E. & Hillyer, G. V. (1984). 'Fasciola hepatica and Schistosoma mansoni: immunofluorescent antigen localization and cross-reactivity'. *Exp Parasitol*, 57(1), pp. 1-14. doi:10.1016/0014-4894(84)90055-9
- Hardy, W. R. & Anderson, R. E. (1968). 'The hypereosinophilic syndromes'. *Ann Intern Med*, 68(6), pp. 1220-9. doi:10.7326/0003-4819-68-6-1220
- Hartl, S., et al. (2020). 'Blood eosinophil count in the general population: typical values and potential confounders'. *Eur Respir J*, 55(5). doi:10.1183/13993003.01874-2019
- Hawkes, N. (2017). 'WHO advises blanket anti-worming treatment for children despite lack of benefit'. *BMJ*, 359. doi:10.1136/bmj.j4589
- Henes, J. C., Wirths, S. & Hellmich, B. (2019). 'Differential diagnosis of hypereosinophilia'. *Z Rheumatol*, 78(4), pp. 313-321. doi:10.1007/s00393-018-0587-2
- Hogan, S. P., et al. (2008). 'Eosinophils: biological properties and role in health and disease'. *Clin Exp Allergy*, 38(5), pp. 709-50. doi:10.1111/j.1365-2222.2008.02958.x

- Hooks, K. B. & O'Malley, M. A. (2020). 'Contrasting Strategies: Human Eukaryotic Versus Bacterial Microbiome Research'. *J Eukaryot Microbiol*, 67(2), pp. 279-295. doi:10.1111/jeu.12766
- Hooshyar, H., et al. (2019). 'Giardia lamblia infection: review of current diagnostic strategies'. *Gastroenterol Hepatol Bed Bench*, 12(1), pp. 3-12.
- Hotez, P. J., et al. (2008). 'Helminth infections: the great neglected tropical diseases'. *J Clin Invest*, 118(4), pp. 1311-21. doi:10.1172/JCI34261
- Hughes, R. G., et al. (2004). 'Environmental influences on helminthiasis and nutritional status among Pacific schoolchildren'. *Int J Environ Health Res*, 14(3), pp. 163-77. doi:10.1080/0960312042000218589
- Huisman, J. (2021). 'International Collaboration: Necessary, But Challenging' In van't Land, H., Corcoran, A. & Iancu, D.-C. (Eds.), *The Promise of Higher Education: Essays in Honour of 70 Years of IAU* (pp. 95-97). Cham: Springer International Publishing. doi:10.1007/978-3-030-67245-4\_15
- International Helminth Genomes, C. (2019). 'Comparative genomics of the major parasitic worms'. *Nat Genet*, 51(1), pp. 163-174. doi:10.1038/s41588-018-0262-1
- Jaishwal, C. (2020). 'Corruption in healthcare: It's killing Nepalis'. *The Himalayan Times*. 29.01.2020
- Jeandron, A., et al. (2011). 'Human infections with *Dicrocoelium dendriticum* in Kyrgyzstan: the tip of the iceberg?'. *J Parasitol*, 97(6), pp. 1170-2. doi:10.1645/GE-2828.1
- Jourdan, P. M., et al. (2018). 'Soil-transmitted helminth infections'. *The Lancet*, 391(10117), pp. 252-265. doi:10.1016/s0140-6736(17)31930-x
- Jovel, J., et al. (2022). 'Metagenomics Versus Metatranscriptomics of the Murine Gut Microbiome for Assessing Microbial Metabolism During Inflammation'. *Front Microbiol*, 13. doi:10.3389/fmicb.2022.829378
- Kato, M., et al. (1998). 'Eosinophil infiltration and degranulation in normal human tissue'. *Anat Rec*, 252(3), pp. 418-25. doi:10.1002/(sici)1097-0185(199811)252:3<418::Aid-ar10>3.0.Co;2-1
- Kim, D. W., et al. (2009). '[Incidence and causes of hypereosinophilia (corrected) in the patients of a university hospital]'. *Korean J Lab Med*, 29(3), pp. 185-93. doi:10.3343/kjlm.2009.29.3.185
- Kim, H. J. & Jung, Y. (2020). 'The Emerging Role of Eosinophils as Multifunctional Leukocytes in Health and Disease'. *Immune Netw*, 20(3). doi:10.4110/in.2020.20.e24
- Kim, J. G., et al. (2018). 'Human Sparganosis in Korea'. *J Korean Med Sci*, 33(44). doi:10.3346/jkms.2018.33.e273
- Kim, K.-M., et al. (2014). 'Cause and incidence of eosinophilia in children: a single center study in one year'. *Allergy, Asthma & Respiratory Disease*, 2(5). doi:10.4168/aard.2014.2.5.358
- Kobayashi, S., et al. (2002). 'Incidence of peripheral blood eosinophilia and the threshold eosinophile count for indicating hypereosinophilia-associated diseases'. *Allergy*, 57(10), pp. 950-6. doi:10.1034/j.1398-9995.2002.23479.x
- Konstantinidis, K. T. & Tiedje, J. M. (2007). 'Prokaryotic taxonomy and phylogeny in the genomic era: advancements and challenges ahead'. *Curr Opin Microbiol*, 10(5), pp. 504-9. doi:10.1016/j.mib.2007.08.006
- Kovalszki, A. & Weller, P. F. (2016). 'Eosinophilia'. *Prim Care*, 43(4), pp. 607-617. doi:10.1016/j.pop.2016.07.010
- Kunwar, R., Acharya, L. & Karki, S. (2016). 'Decreasing prevalence of intestinal parasitic infections among school-aged children in Nepal: a systematic review

- and meta-analysis'. *Trans R Soc Trop Med Hyg*, 110(6), pp. 324-32. doi:10.1093/trstmh/trw033
- KUSMS. (2022). 'Kathmandu University School of Medical Sciences'. Retrieved 29.06.2022, from <https://kusms.edu.np/>
- Laforest-Lapointe, I. & Arrieta, M. C. (2018). 'Microbial Eukaryotes: a Missing Link in Gut Microbiome Studies'. *mSystems*, 3(2). doi:10.1128/mSystems.00201-17
- Lai, Y. S., et al. (2019). 'Risk profiling of soil-transmitted helminth infection and estimated number of infected people in South Asia: A systematic review and Bayesian geostatistical Analysis'. *PLoS Negl Trop Dis*, 13(8). doi:10.1371/journal.pntd.0007580
- Law, A. D. & Varma, S. C. (2015). 'Management of hypereosinophilia in tropical settings'. *Med J Armed Forces India*, 71(1), pp. 60-6. doi:10.1016/j.mjafi.2014.11.008
- Leder, K. & Weller, P. F. (2000). 'Eosinophilia and helminthic infections'. *Baillieres Best Pract Res Clin Haematol*, 13(2), pp. 301-17. doi:10.1053/beh.1999.0074
- Liu, Q., et al. (2015). 'Human sparganosis, a neglected food borne zoonosis'. *The Lancet Infectious Diseases*, 15(10), pp. 1226-1235. doi:10.1016/s1473-3099(15)00133-4
- Lohani, U. (2010). 'Man-animal relationships in Central Nepal'. *J Ethnobiol Ethnomed*, 6. doi:10.1186/1746-4269-6-31
- Lohani, U. (2011). 'Traditional Uses of Animals among Jirels of Central Nepal'. *Studies on Ethno-Medicine*, 5(2), pp. 115-124. doi:10.1080/09735070.2011.11886398
- Macnish, M. G., et al. (2003). 'Detection of the rodent tapeworm *Rodentolepis* (=Hymenolepis) microstoma in humans. A new zoonosis?'. *International Journal for Parasitology*, 33(10), pp. 1079-1085. doi:10.1016/s0020-7519(03)00137-1
- Magi, B., et al. (2009). 'Dicrocoelium dendriticum: a true infection?'. *Infez Med*, 17(2), pp. 115-6. PMID: 19602926.
- Makkar, A., et al. (2005). 'A Study of Clinical Profile and Spontaneous Course of Eosinophilia'. *JK Science : Journal of Medical Education & Research*, 7, pp. 199-201.
- Mas-Coma, S., Bargues, M. D. & Valero, M. A. (2018). 'Human fascioliasis infection sources, their diversity, incidence factors, analytical methods and prevention measures'. *Parasitology*, 145(13), pp. 1665-1699. doi:10.1017/S0031182018000914
- Massoud, A., Morsy, T. A. & Haridy, F. M. (2003). 'Treatment of Egyptian dicrocoeliasis in man and animals with Mirazid'. *J Egypt Soc Parasitol*, 33(2), pp. 437-42. PMID: 14964658.
- Matenga, T. F. L., et al. (2019). 'Contemporary issues in north-south health research partnerships: perspectives of health research stakeholders in Zambia'. *Health Res Policy Syst*, 17(1). doi:10.1186/s12961-018-0409-7
- Maxwell, C., et al. (1987). 'The clinical and immunologic responses of normal human volunteers to low dose hookworm (*Necator americanus*) infection'. *Am J Trop Med Hyg*, 37(1), pp. 126-34. doi:10.4269/ajtmh.1987.37.126
- Mehlhorn, H. (2012a). 'Einzeller beim Menschen' In *Die Parasiten des Menschen: Erkrankungen erkennen, bekämpfen und vorbeugen* (7. ed., pp. 15-98). Heidelberg: Spektrum Akademischer Verlag. doi:10.1007/978-3-8274-2271-2\_3
- Mehlhorn, H. (2012b). 'Würmer beim Menschen' In *Die Parasiten des Menschen: Erkrankungen erkennen, bekämpfen und vorbeugen* (7. ed., pp. 99-204). Heidelberg: Spektrum Akademischer Verlag. doi:10.1007/978-3-8274-2271-2\_4

- Ministry of Health and Population, Nepal. 'Nepal Health Facility Registry'. Retrieved 22.07.2022, from <https://nhfr.mohp.gov.np/search>
- Mishra, A., et al. (1999). 'Fundamental signals that regulate eosinophil homing to the gastrointestinal tract'. *J Clin Invest*, 103(12), pp. 1719-27. doi:10.1172/JCI6560
- Mishra, S. R., et al. (2015). 'National health insurance policy in Nepal: challenges for implementation'. *Glob Health Action*, 8. doi:10.3402/gha.v8.28763
- Momcilovic, S., et al. (2019). 'Rapid diagnosis of parasitic diseases: current scenario and future needs'. *Clin Microbiol Infect*, 25(3), pp. 290-309. doi:10.1016/j.cmi.2018.04.028
- Moro, P. & Schantz, P. M. (2009). 'Echinococcosis: a review'. *Int J Infect Dis*, 13(2), pp. 125-33. doi:10.1016/j.ijid.2008.03.037
- Nakamura-Uchiyama, F., Onah, D. N. & Nawa, Y. (2001). 'Clinical features of paragonimiasis cases recently found in Japan: parasite-specific immunoglobulin M and G antibody classes'. *Clin Infect Dis*, 32(12). doi:10.1086/320750
- Narain, K., Devi, K. R. & Mahanta, J. (2005). 'Development of enzyme-linked immunosorbent assay for serodiagnosis of human paragonimiasis'. *Indian J Med Res*, 121(6), pp. 739-46. PMID: 16037618.
- NHRC. (2020a). 'About'. Retrieved 29.06.2022, from <http://nhrc.gov.np/about/>
- NHRC. (2020b). 'Institutional Review Committee (IRC)'. Retrieved 29.06.2022, from <http://nhrc.gov.np/ethics/irc/>
- O'Connell, E. M. & Nutman, T. B. (2015). 'Eosinophilia in Infectious Diseases'. *Immunol Allergy Clin North Am*, 35(3), pp. 493-522. doi:10.1016/j.iac.2015.05.003
- Ojha, C. R., et al. (2017). 'Impact of mass drug administration for elimination of lymphatic filariasis in Nepal'. *PLoS Negl Trop Dis*, 11(7). doi:10.1371/journal.pntd.0005788
- Parfrey, L. W., et al. (2014). 'Communities of microbial eukaryotes in the mammalian gut within the context of environmental eukaryotic diversity'. *Front Microbiol*, 5. doi:10.3389/fmicb.2014.00298
- Parker, M. & Kingori, P. (2016). 'Good and Bad Research Collaborations: Researchers' Views on Science and Ethics in Global Health Research'. *PLoS One*, 11(10). doi:10.1371/journal.pone.0163579
- Peng, X., et al. (2018). 'Incidence of paragonimiasis in Chongqing China: a 6-year retrospective case review'. *Parasitology*, 145(6), pp. 792-796. doi:10.1017/S003118201700172X
- Pullan, R. L., et al. (2014). 'Global numbers of infection and disease burden of soil transmitted helminth infections in 2010'. *Parasit Vectors*, 7. doi:10.1186/1756-3305-7-37
- Qureshi, A. W., Tanveer, A. & Mas-Coma, S. (2016). 'Epidemiological analysis of human fascioliasis in northeastern Punjab, Pakistan'. *Acta Trop*, 156, pp. 157-64. doi:10.1016/j.actatropica.2015.12.023
- Rai, R. & Singh, N. B. (2015). 'Medico-ethnobiology in Rai Community: A Case Study from Baikunthe Village Development Committee, Bhojpur, Eastern Nepal'. *Journal of the Institute of Science and Technology*, 20, pp. 127-132. doi:<https://doi.org/10.3126/jist.v20i1.13935>
- Raj, V. S., et al. (2022). 'Dicrocoeliasis' In Parija, S. C. & Chaudhury, A. (Eds.), *Textbook of parasitic zoonoses* (pp. 267-272). Singapore: Springer Nature Singapore. doi:10.1007/978-981-16-7204-0\_24
- Ravin, K. A. & Loy, M. (2016). 'The Eosinophil in Infection'. *Clin Rev Allergy Immunol*, 50(2), pp. 214-27. doi:10.1007/s12016-015-8525-4
- Rayulu, V. C. & Sivajothi, S. (2022). 'Fasciolosis' In Parija, S. C. & Chaudhury, A. (Eds.), *Textbook of parasitic zoonoses* (pp. 223-233). Singapore: Springer Nature Singapore. doi:10.1007/978-981-16-7204-0\_20

- Richard Scheffler, et al. (2016). 'Health Workforce Requirements For Universal Health Coverage And The Sustainable Development Goals – Background paper N.1 to the WHO Global Strategy on Human Resources for Health: Workforce 2030'. In WHO (ed.) *Human Resources for Health Observer Series n°17*.
- Rosenberg, H. F., Dyer, K. D. & Foster, P. S. (2013). 'Eosinophils: changing perspectives in health and disease'. *Nat Rev Immunol*, 13(1), pp. 9-22. doi:10.1038/nri3341
- Rothenberg, M. E. (1998). 'Eosinophilia'. *N Engl J Med*, 338(22), pp. 1592-600. doi:10.1056/nejm199805283382206
- Sade, K., et al. (2007). 'Eosinophilia: A study of 100 hospitalized patients'. *Eur J Intern Med*, 18(3), pp. 196-201. doi:10.1016/j.ejim.2006.09.031
- Sah, R., Acosta, L. & Toledo, R. (2019). 'A case report of human gastrodiscoidiasis in Nepal'. *Parasitol Int*, 71, pp. 56-58. doi:10.1016/j.parint.2019.03.014
- Sah, R. & Khadka, S. (2017). 'Case series of paragonimiasis from Nepal'. *Oxf Med Case Reports*, 2017(11), pp. 218-222. doi:10.1093/omcr/omx083
- Sah, R., et al. (2017). 'Human fascioliasis by *Fasciola hepatica*: the first case report in Nepal'. *BMC Res Notes*, 10(1). doi:10.1186/s13104-017-2761-z
- Schiefke, I., et al. (2006). 'Einheimische Helminthosen'. [Indigenous helminthiasis]. *Internist (Berl)*, 47(8), pp. 793-4, 796, 798-800. doi:10.1007/s00108-006-1660-5
- Schulte, C., et al. (2002). 'Diagnostic significance of blood eosinophilia in returning travelers'. *Clin Infect Dis*, 34(3), pp. 407-11. doi:10.1086/338026
- Schwartz, J. T. & Fulkerson, P. C. (2018). 'An Approach to the Evaluation of Persistent Hypereosinophilia in Pediatric Patients'. *Front Immunol*, 9. doi:10.3389/fimmu.2018.01944
- Sharma, S. P. (2010). 'Politics and corruption mar health care in Nepal'. *Lancet*, 375(9731), pp. 2063-4. doi:10.1016/s0140-6736(10)60945-2
- Sherchand, J. B., et al. (2003). 'Mapping of lymphatic filariasis in Nepal'. *Filaria J*, 2(1). doi:10.1186/1475-2883-2-7
- Shi, H. Z. (2004). 'Eosinophils function as antigen-presenting cells'. *J Leukoc Biol*, 76(3), pp. 520-7. doi:10.1189/jlb.0404228
- Shim, Y.-S., Cho, S.-Y. & Han, Y.-C. (1991). 'Pulmonary Paragonimiasis: A Korean Perspective'. *Semin Respir Crit Care Med*, 12(01), pp. 35-45.
- Shomali, W. & Gotlib, J. (2022). 'World Health Organization-defined eosinophilic disorders: 2022 update on diagnosis, risk stratification, and management'. *Am J Hematol*, 97(1), pp. 129-148. doi:10.1002/ajh.26352
- Shrestha, A., et al. (2018). 'Intestinal parasite infections and associated risk factors among schoolchildren in Dolakha and Ramechhap districts, Nepal: a cross-sectional study'. *Parasit Vectors*, 11(1). doi:10.1186/s13071-018-3105-0
- Shrestha, S., et al. (2012a). 'Clinical and laboratory profile of children with eosinophilia at Dhulikhel hospital'. *Kathmandu Univ Med J (KUMJ)*, 10(38), pp. 58-62. doi:10.3126/kumj.v10i2.7346
- Shrestha, S., et al. (2012b). 'Clinical profile of children with moderate-to-severe eosinophilia presenting to a tertiary hospital in Nepal'. *Trop Doct*, 42(4), pp. 232-4. doi:10.1258/td.2012.120284
- Shrestha, T. M., et al. (2019). 'Idiopathic Eosinophilic Pleural Effusion Treated Successfully with Corticosteroid Therapy: A Clinical Case Report'. *Cureus*, 11(1). doi:10.7759/cureus.3975
- Singh, T. S., et al. (2009). 'Paragonimus heterotremus infection in Nagaland: A new focus of Paragonimiasis in India'. *Indian J Med Microbiol*, 27(2), pp. 123-7. doi:10.4103/0255-0857.49424

- Sinha, S., Kaur, U. & Sehgal, R. (2022). 'Diagnosis of Parasitic Zoonoses' In Parija, S. C. & Chaudhury, A. (Eds.), *Textbook of parasitic zoonoses* (pp. 59-74). Singapore: Springer Nature Singapore. doi:10.1007/978-981-16-7204-0\_7
- Soares Magalhaes, R. J., et al. (2013). 'Extending helminth control beyond STH and schistosomiasis: the case of human hymenolepiasis'. *PLoS Negl Trop Dis*, 7(10). doi:10.1371/journal.pntd.0002321
- Spencer, L. A., et al. (2009). 'Human eosinophils constitutively express multiple Th1, Th2, and immunoregulatory cytokines that are secreted rapidly and differentially'. *J Leukoc Biol*, 85(1), pp. 117-23. doi:10.1189/jlb.0108058
- Sreedharanunni, S., et al. (2018). 'The Spectrum of Hypereosinophilia and Associated Clonal Disorders - A Real-World Data Based on Combined Retrospective and Prospective Analysis from a Tropical Setting'. *Mediterr J Hematol Infect Dis*, 10(1). doi:10.4084/MJHID.2018.052
- Steinbach, K. H., et al. (1979). 'Estimation of kinetic parameters of neutrophilic, eosinophilic, and basophilic granulocytes in human blood'. *Blut*, 39(1), pp. 27-38. doi:10.1007/BF01008072
- Strunz, E. C., et al. (2014). 'Water, sanitation, hygiene, and soil-transmitted helminth infection: a systematic review and meta-analysis'. *PLoS Med*, 11(3). doi:10.1371/journal.pmed.1001620
- Suzuki, Y., et al. (2010). 'A case of giardiasis expressing severe systemic symptoms and marked hypereosinophilia'. *Parasitol Int*, 59(3), pp. 487-9. doi:10.1016/j.parint.2010.06.006
- Taylor-Robinson, D. C., et al. (2015). 'Deworming drugs for soil-transmitted intestinal worms in children: effects on nutritional indicators, haemoglobin, and school performance'. *Cochrane Database Syst Rev*(7). doi:10.1002/14651858.CD000371.pub6
- Tefferi, A. (2005). 'Blood Eosinophilia: A New Paradigm in Disease Classification, Diagnosis, and Treatment'. *Mayo Clinic Proceedings*, 80(1), pp. 75-83. doi:10.4065/80.1.75
- Tefferi, A., Patnaik, M. M. & Pardanani, A. (2006). 'Eosinophilia: secondary, clonal and idiopathic'. *Br J Haematol*, 133(5), pp. 468-92. doi:10.1111/j.1365-2141.2006.06038.x
- TPH, Swiss Tropical and Public Health Institute. 'Expertise in Parasitology'. Basel, Switzerland. Retrieved 22.09.2022, from <https://www.swisstph.ch/en/activities/diagnostic-centre/expertise-in-parasitology#c36698>
- Tristão-Sá, R., et al. (2002). 'Intestinal nematodes and pulmonary tuberculosis'. *Rev Soc Bras Med Trop*, 35(5), pp. 533-5. doi:10.1590/s0037-86822002000500020
- United Nations, Department of Economic and Social Affairs, Population Division. (2019). 'World Population Prospects 2019, Online Edition. Rev. 1.'. Retrieved from <https://population.un.org/wpp/Download/Standard/Population/>
- Valent, P., et al. (2012). 'Contemporary consensus proposal on criteria and classification of eosinophilic disorders and related syndromes'. *J Allergy Clin Immunol*, 130(3), pp. 607-612 e9. doi:10.1016/j.jaci.2012.02.019
- van Balkum, M., et al. (2018). 'Hypereosinophilia: a diagnostic challenge'. *Neth J Med*, 76(10), pp. 431-436. PMID: 30569889.
- Wang, S. A. (2019). 'The Diagnostic Work-Up of Hypereosinophilia'. *Pathobiology*, 86(1), pp. 39-52. doi:10.1159/000489341
- Wardlaw, A. J., et al. (2021). 'The causes of a peripheral blood eosinophilia in a secondary care setting'. *Clin Exp Allergy*, 51(7), pp. 902-914. doi:10.1111/cea.13889

- Weatherhead, J. E. & Hotez, P. J. (2015). 'Worm Infections in Children'. *Pediatr Rev*, 36(8), pp. 341-52; quiz 353-4. doi:10.1542/pir.36-8-341
- Weller, P. F. & Spencer, L. A. (2017). 'Functions of tissue-resident eosinophils'. *Nat Rev Immunol*, 17(12), pp. 746-760. doi:10.1038/nri.2017.95
- WHO. (2010). 'Health systems financing: the path to universal coverage'. In *The world health report*. Retrieved from <https://apps.who.int/iris/handle/10665/44371>
- WHO. (2019). 'Global Health Expenditure Database'. Retrieved 06.09.2022, from [https://apps.who.int/nha/database/country\\_profile/Index/en](https://apps.who.int/nha/database/country_profile/Index/en)
- WHO. (2020). 'Ending the neglect to attain the Sustainable Development Goals: a road map for neglected tropical diseases 2021–2030.'. Geneva. Licence: CC BY-NC-SA 3.0 IGO.
- WHO. (2021). 'Foodborne trematode infections'. WHO. Retrieved 02.10.2022, from <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/foodborne-trematode-infections>
- WHO. (2022a). 'ICD-11 for Mortality and Morbidity Statistics'. Retrieved 09.08.2022, from <https://icd.who.int/browse11/l-m/en>
- WHO. (2022b). 'World Health Statistics 2022: Monitoring health for the SDGs, sustainable development goals'. Geneva. Licence: CC BY-NC-SA 3.0 IGO.
- WHO. (2022c). 'Preventive chemotherapy'. Retrieved 23.08.2022, from <https://www.who.int/teams/control-of-neglected-tropical-diseases/interventions/strategies/preventive-chemotherapy>
- WHO. (2022d). 'Preventive Chemotherapy (pc) data portal'. Retrieved 06.10.2022, from <https://www.who.int/data/preventive-chemotherapy/>
- WHO. (2022e). 'The global health observatory'. Retrieved 22.08.2022, from <https://www.who.int/data/gho>
- WHO & UNICEF. (2021). 'Progress on household drinking water, sanitation and hygiene 2000-2020: five years into the SDGs.'. Geneva. Retrieved from [https://washdata.org/sites/default/files/2022-01/jmp-2021-washhouseholds\\_3.pdf](https://washdata.org/sites/default/files/2022-01/jmp-2021-washhouseholds_3.pdf)
- Williams, K. W., et al. (2016). 'Hypereosinophilia in Children and Adults: A Retrospective Comparison'. *J Allergy Clin Immunol Pract*, 4(5), pp. 941-947 e1. doi:10.1016/j.jaip.2016.03.020
- Woolhouse, M. E. J. (1998). 'Patterns in Parasite Epidemiology: The Peak Shift'. *Parasitology Today*, 14(10), pp. 428-434. doi:[https://doi.org/10.1016/S0169-4758\(98\)01318-0](https://doi.org/10.1016/S0169-4758(98)01318-0)
- Xiaohong, C., Yiping, X. U. & Meiping, L. U. (2016). '[Clinical characteristics and etiology of children with hypereosinophilia]'. *Zhejiang Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban*, 45(3), pp. 292-6. doi:10.3785/j.issn.1008-9292.2016.05.12

## 8 Anhang

### 8.1 Tabelle mit Eosinophilie vergesellschaftete parasitäre Erkrankungen

Erkrankung	Parasit	Übertragungsweg	Symptome	NTD ? (1)	Endemizität Nepal (2)	Weltweites Vorkommen	Behandlung	Prävention (1)	Eosinophilie; akut/persistierend (3, 4)	Diagnostik
Nematodiasis	Fadenwürmer/ Nematoda									
Angiostrongyloidiasis	<i>Angiostrongylus</i> spp. <i>Angiostrongylus cantonensis</i>	Essen von rohem/ nicht durchgekochten Schnecken (2) Kontakt mit kontaminiertem Boden (1)	Meningitis (5)		möglich	Südostasien, Pazifisches (5)	Keine effektive Behandlung (5)		++/+++ akut	Larven im Liquor, Liquor-PCR (4)
Hakenwürmerkrankheit	Hakenwürmer <sup>2</sup>	Kontakt mit kontaminiertem Boden (1)	Eisenmangelanämie (5)	Ja	PC notwendig für STH (1), wahrscheinlich	weitweit (6)	Albendazol, Mebendazol, Pyrantelpamoat (5)	Zugang zu sauberem Wasser, Verbesserung Sanitäranlage, PC; Albendazol u. Mebendazol für Kinder	+++ bei der Migration, danach +/++; Akut o. pers.	Eier im Stuhl (3)
	-> <i>Ancylostoma duodenale</i> <sup>2</sup> -> <i>Necator americanus</i> <sup>2</sup>			Ja						
Anisakiasis (5)	<i>Anisakis</i> spp.	Essen von rohem/ nicht durchgekochtem Fisch (2), keine Mensch-zu-Mensch-Übertragung (6)	Dermatitis, Husten, unspezifische GI-Symptome (7) Bauchschmerzen, Übelkeit, Erbrechen, Blähungen, Durchfall, Blut u. Schleim im Stuhl, leichtes Fieber (6)	Ja	unwahrscheinlich	v. a. Japan, auch weltweit (6)		Töten des Parasiten durch Kochen o. Einfrieren (6)	++/+++; akut	Eier u. Parasiten im Stuhl (7) Serologie (3)
	<i>Anisakis simplex</i>		Akute Bauchschmerzen (5)				Endoskopische Entfernung der Larven (5)			
Ascariasis	<i>Ascaris</i> spp. <i>Ascaris lumbricoides</i> <sup>2</sup>	Kontakt mit fäkal-kontaminierten Boden (7)	Bauchschmerzen, Löffler Syndrom, Husten, Dyspnoe, Hämoptyse, (7) intestinale u. biliäre Obstruktion (5)	Ja	wahrscheinlich PC notwendig für STH (1)	weltweit (5)	Albendazol, Mebendazol, Ivermectin (8)	Zugang zu sauberem Wasser, Verbesserung Sanitäranlage, PC; Albendazol u. Mebendazol für Kinder	++/+++ bei der Migration, danach +; akut	Eier u. Parasiten im Stuhl (6)



^ Mansonelliasis	<i>Mansonella</i>																			
	-> <i>M. ozzardi</i>	Stich durch Bart- o. Kriebelmücken (15)	Keine (15)																	
	-> <i>M. perstans</i>	Stich durch Bartmücken (15)	Meist keine (15)																	
	-> <i>M. streptocera</i>	Stich durch Bartmücken (15)	Jucken, Lymphadenopathie (15)																	
-> Onchozerkose	<i>Onchocerca volvulus</i>	Stich durch Kriebelmücken (7)	Subkutane Noduli, Dermatitis, Lymphadenitis, Augenerkrankung (7) bis Blindheit (5)	Ja	nicht endemisch (1)	Afrika, Zentral- u. Südamerika (7)	Ivermectin (5)	PC: MDA mit Ivermectin	Akut o. pers.	Mikrofilarien in Hautbiopsie, Augenuntersuchung (7)										
Gnathostomiasis	<i>Gnathostoma spinigerum</i> u. <i>Gnathostoma hispidum</i>	Essen von rohem Fisch, Krebs, Enten- o. Hühnerfleisch (15)	Kutane u. viszerale Larva migrans (5)		möglich	Asien, Mexiko (5)	Albendazol, Ivermectin (5)		Akut o. pers.	Larven in Biopsie, Serologie (4)										
Strongyloidiasis	<i>Strongyloides stercoralis</i> <sup>2</sup>	Kontakt mit kontaminiertem Boden (7)	Häufig asymptomatisch, Bauchschmerzen, Diarrhö, Löffler Syndrom (5), Hautausschlag, Komplikationen: Hyperinfektion u. disseminierte Erkrankung (7)	Ja	PC notwendig für STH (1), wahrscheinlich	Tropen u. gemäßigte Zonen (7)	Albendazol, Ivermectin (5)	Zugang zu sauberem Wasser, Verbesserung Sanitäranlage, PC: Albendazol u. Mebendazol ggf. Ivermectin für Kinder	Persistierend +++; Akut o. persistierend	Eier u. Parasiten im Stuhl (7) Larven im Stuhl (v.a. bei Hyperinfektion), Serologie (3)										
Toxocarinasis	<i>Toxocara</i> spp.				wahrscheinlich	weltweit (4)			+++; Akut o. pers.	Serologie (3)										
	-> <i>Toxocara canis</i> u. <i>Toxocara cati</i> (syn. <i>T. mystax</i> )		Okuläre u. viszerale Larva migrans (5)			weltweit (5)	Mebendazol, Albendazol (5)													
Trichinellosis	<i>Trichinella</i> spp.				wahrscheinlich	weltweit (4)			+++; Akut o. pers.	Serologie (3)										

	-> <i>Trichinella spiralis</i>	Essen von rohem o. ungenügend gekochtem Fleisch (7)	Gastroenteritis, Diarrhö, Bauchschmerzen, Erbrechen, Fieber, Myalgie, bilaterale periorbitale Ödeme Komplikation: Myokarditis (7)			Europa, Asien (7)	Mebendazol, Albendazol (5)			Serum-Muskelenzymerhöhung, Antikörper-nachweis, Larven in Muskelbiopsie (7)
Trichostrongylosis (7), (16)	<i>Trichostrongylus</i> spp. <i>Trichuris trichiura</i> <sup>2</sup>	Kontakt mit kontaminiertem Wasser, rohem Obst u. Gemüse (7)	Asymptomatisch, akute Diarrhö, chronische Kolitis (7)	Ja	PC notwendig für STH (1), wahrscheinlich	Tropen u. Subtropen weltweit (7)	Albendazol, Mebendazol, Ivermectin, Pyrantel-Embonat (8)	Zugang zu sauberem Wasser, Verbesserung Sanitäranlage, PC: Albendazol u. Mebendazol ggf. Ivermectin für Kinder	Maßig (15)	Eier im Stuhl (6)
<b>Zestodiasis</b>	<b>Bandwürmer/Cestoda</b>									
Dipylidiasis (15)	<i>Dipylidium caninum</i>	Einnahme infizierter Flöhe durch Kontakt mit Katzen o. Hunden (15)	Milde GIT-Beschwerden bis Diarrhö (15)			weltweit (15)	Praziquantel (15)			
Echinokokkose	<i>Echinococcus</i> spp.	Fäkal-oral, Mensch als Fehlwirt (keine Mensch zu Mensch Übertragung) (1)	hoch endemisch (1)			weltweit (6)	Albendazole o. Mebendazol, Ggf. chirurgische Intervention (1)	Händewaschen	+++ bei der Infektion, danach oft 0	Serologie, Ultraschall, CT (3)
-> Alveoläre E.	<i>Echinococcus multilocularis</i>		Infiltrative Zysten mit Größenzunahme insb. in Leber, Gewichtsabnahme, Bauchschmerzen, Leberversagen (1)	Ja	möglich	v. a. nördliche Halbkugel (6)	Behandlung schwieriger als die zystische E. (6)	Kontakt zu Füchsen u. deren Kot vermeiden, Entwurmung von Füchsen (6)		
-> Zystische E.	<i>Echinococcus granulosus</i>		Zysten insb. in Leber u. Lunge, Bauch- u. Brustschmerzen, Übelkeit, Erbrechen, chronischer Husten (1)	Ja	wahrscheinlich u. quantifizierbar	v. a. in ländlichen Gegenden (6)	Auch Punktion der Zyste möglich (6)	Entwurmung von Hunden (6), Kontakt mit Hundekot vermeiden	Akut bei Ruptur	Serologie ist hoch sensitiv (6)

Hymenolepis (11, 15)	<i>Hymenolepis</i> spp.	Einnahme von kontaminiertem Wasser, Essen, Erde o. Insekten (6)	Meist asymptomatisch. Diarrhö, Übelkeit, GIT-Beschwerden möglich (6)			weltweit, insb. Tropen u. Subtropen (15)	Praziquantel (15)	Mäßig (15)	Eier im Stuhl (15)
	<i>Hymenolepis nana</i>	Einnahme kontaminiertes Wasser, Erde, Nahrung (6)	Asymptomatisch bis GIT-Beschwerden, Übelkeit, Diarrhö (6)					Variabel (11)	
Sparganose	<i>Spirometra</i> spp.	Essen von Frosch o. Schnecken (4)	Abhängig vom betroffenen Organ (6)	möglich	Asien (4)		Operative Entfernung, ggf. Praziquantel (17)	akut	Erreger in befallenen Gewebe, CT, Liquor-ELISA (4)
Taeniasis (T) Zystizerkose (Z)	<i>Taenia solium</i>	T: Essen von ungenügend gekochtem Schweinefleisch (1) Z: fäkal-oral, Kontakt mit Kot von mit Taeniasis infizierten Menschen (6)	T: meist asymptomatisch. Ggf. Bauchschmerzen, Übelkeit, Erbrechen, Konstipation Z: chronische Kopfschmerzen, Epilepsie, weiter neurol. Symptome (1)	endemisch (1) T: wahrscheinlich Z: wahrscheinlich u. quantifizierbar	weltweit, insb. Ländliche Gegenden (6)		T: Praziquantel o. Niclosamid o. Albendazol Z: Praziquantel u./o. Albendazol, Corticosteroide u./o. Antiepileptika (1)	Z: ++/+++ bei der Infektion, danach +	Eier/Proglottiden im Stuhl, Serologie, Ultraschall, CT (3)
<b>Trematodiasis</b>	<b>Saugwürmer/Trematoda</b>								
Clonorchiasis	<i>Clonorchis sinensis</i> <sup>1</sup>	Essen von rohem Fisch (7)	Fieber Spätkomplikation: Cholangitis, Gallensteine, Pankreatitis (7)	Ja	Ostasien (15)			+++ bei der Invasion, danach +/++; Akut o pers.	Transaminasenerhöhung, Eier u. Parasit im Duodenal-aspirat o. im Stuhl (7), Serologie (4)
Dicrocoeliasis	<i>Dicrocoelium dendriticum</i> <sup>1</sup>	Essen von infizierten Armeisen (6)	Asymptomatisch bis Cholezystitis, Leberabszess, GIT-Beschwerden (6)		Europa, Mittleren Osten, Nordasien, Nordamerika, Nordafrika (4)			akut	Eier im Stuhl (4)
Echinostomiasis	<i>Echinostoma</i> spp. <sup>1</sup>	Essen von Fisch, Mollusken, Amphibien (18)	Bauchschmerzen, Diarrhö, Anämie, Ödeme, Anorexie (18)	wahrscheinlich	Asien (4)			akut	Eier im Stuhl (18)

Fascioliasis	<i>Fasciola</i>	Essen von ungekochter Kresse (7), (19)	Akut o. subakut, Fieber, Bauchschmerzen (7), Hepatitis, Hepatomegalie, biliäre Obstruktion (5)	Ja	wahrscheinlich	weltweit (7)	Triclabendazol (5), (1)	Zugang zu sauberem Wasser, saubere Entsorgung von Fäkalien, PC: MDA mit Triclabendazol	Serologie, Eier o. Parasiten im Stuhl (7)
	-> <i>Fasciola gigantica</i> <sup>1</sup>								
	-> <i>Fasciola hepatica</i> <sup>1</sup>								+++ bei der Invasion, danach +/-
Fasciolopsiasis	<i>Fasciolopsis buski</i> <sup>1</sup>	Essen von ungekochten Wasserpflanzen (20)			wahrscheinlich	Fernost u. Südost Asien (20)			Eier im Stuhl (21)
Gastrodiscoidiasis (22)	<i>Gastrodiscoides hominis</i> <sup>1</sup>	Essen von Wasserpflanzen, Flusskrebs u. weitere (18)	Diarrhö (23), epigastrische Schmerzen (22)			Indien, Vietnam, Philippinen, Thailand, China, Russland (18)	Praziquantel (22), Mebendazol (24)		Eier im Stuhl (22), Wurm in Histologie nach Endoskopie (24)
Nanophyetiasis (15)	<i>Nanophyetus</i> spp. <sup>1</sup>	Essen von infiziertem rohem Fisch (15)	Gering (15)			Russland u. Norden von Amerika (15)	Praziquantel (15)		Eier im Stuhl (15)
Opisthorchiasis (3)	<i>Opisthorchis</i> spp.		Bauchschmerzen, Unwohlsein, Hepatitis, Leberfibrose, Cholangiokarzinom (1)	Ja	wahrscheinlich	Südostasien, frühere Sowjetunion (4)		Zugang zu sauberem Wasser, saubere Entsorgung von Fäkalien	Eier in Stuhl o. Galle (3)
	-> <i>O. felineus</i> <sup>1</sup>						Praziquantel (1)	PC: MDA mit Praziquantel	
	-> <i>O. viverrini</i> <sup>1</sup>								
Paragonimiasis	<i>Paragonimus</i> spp. <sup>1</sup> (häufigste: <i>Paragonimus westermani</i> (25))	Essen von roher o. nicht durchgekochter Krabbe o. Flusskrebs (7) (keine Mensch-zu-Mensch-Übertragung) (6)	Akut, Husten, Bauchschmerzen, Unwohlsein, Pneumonie (7), Hautläsionen (6)	Ja	endemisch in Nepal (25), unklar welche Art endemisch ist (26), wahrscheinlich	Asien (5), Zentral- u. Südamerika (7), Zentral- u. Westafrika (4)	Praziquantel (5), (1)	Zugang zu sauberem Wasser, saubere Entsorgung von Fäkalien, PC: MDA mit Praziquantel	Röntgen-Thorax (7), Eier in Stuhl o. Sputum (3) jeweils spezifisch, aber nicht sensibel (25), ELISA (27)

Schistosomi- asis	Schistosoma spp.	Beim Schwimmen im Süßwasser (7)	Fieber, Darmerkrankung (7)	Ja	nicht endemisch (7)	Praziquantel (6)	Zugang zu sauberem Wasser, saubere Entsorgung von Fäkalien, PC: MDA mit Praziquantel für Risikogruppen	+++ bei der Invasion, danach +/++; Akut o. pers.	Eier u. Parasit im Urin o. im Stuhl (7), Serologie (4)
	-> <i>S. haematobium</i> -> <i>S. japonicum</i>		Hämaturie (7)	Ja					
				Ja	un- wahrscheinlich			Akut o. pers.	
	-> <i>S. mansoni</i>			Ja					
<b>Protozoosen</b>									
Cystoisospor- iasis (syn. Isosporiasis)	<i>Cystoisospora</i> (syn. <i>Isospora</i> ) <i>belli</i>	Einnahme kontaminierter Nahrung o. Wasser (28)	Keine, bis Diarrhö mit Übelkeit u. Erbrechen (28)					Akut: keine Therapie Chronisch: Cotrimoxazol (28)	Oozysten im Stuhl (4)
Dientamoebi- asis	<i>Dientamoeba</i> <i>fragilis</i>	Nicht klar (28), fakultativ pathogen	Diarrhö u. Bauchschmerzen (28)						Amöben im Stuhl (28)
Sarcocystis	<i>Sarcocystis</i> spp.	Essen von rohem o. nicht durchgekochem iniziertem Fleisch (28)	Schwitzen mit Störung von Elektrolytenhaushalt möglich, Diarrhö, Erbrechen u. Bauchschmerzen (28)		wahrscheinlich			+/- akut	Zysten im Stuhl (3), Muskel- biopsie (4)

Tabelle 15 Mit Eosinophilie vergesellschaftete parasitäre Erkrankungen und den zugehörigen Parasiten sowie Übertragungsweg, Symptome, Einteilung als NTD durch die WHO, Endemizität in Nepal, weitweites Vorkommen, Behandlung, Prävention, Stärke und zeitliche Aspekte der Eosinophilie und Diagnostik.

<sup>1</sup> Trematodiasis, welche über die Nahrung übertragen wird (Foodborne Trematodiasis) (29);

<sup>2</sup> Helminthiasis, welche über den kontaminierten Boden übertragen wird, auch Sol-Transmitted Helminthiasis (STH) oder Geohelminthiasis genannt. Die folgenden 3 Erreger Hakenwurm, Ascaris und Trichuris gelten als typische STH, die ähnelnden diagnostiziert und behandelt werden. Strongyloides wird auch über den kontaminierten Boden übertragen wird allerdings anders diagnostiziert und behandelt (1, 8).

Endemizität eingeteilt in unwahrscheinlich, möglich, wahrscheinlich, sowie quantifizierbar und quantifizierbar (2)

PC: präventive Chemotherapie; MDA: Mass drug administration; DEC: Diethylcarbamazin

Eosinophilie: 0 kein, +/- variabel, + mild, ++ moderat, +++ hoch, ? fraglich

u.: und; o.: oder

Die Liste der mit Eosinophilie einhergehenden Erreger ist adaptiert aus (30) und (4). Die Parasiten wurden in folgende Gruppen taxonomisch unterteilt und dort alphabetisch sortiert: der Unterstamm der Nematoda, die Klassen der Cestoda und Trematoda und die Protozoen. Die taxonomische Einordnung sowie die den Parasiten zugehörigen deutschen Erkrankungsnamen wurden von (15) inspiriert.

1. Ending the neglect to attain the Sustainable Development Goals: a road map for neglected tropical diseases 2021–2030. Geneva: World Health Organization; 2020. Licence: CC BY-NC-SA 3.0 IGO.
2. DeVeesechawer B, Ale A, Torgerson P, Praet N, Maertens de Noordhout C, Pandey BD, et al. The burden of parasitic zoonoses in Nepal: a systematic review. *PLoS Negl Trop Dis*. 2014;8(1).
3. van Balkum M, Kluin-Nelemans H, van Hellemond JJ, van Genderen PJJ, Wismans PJ. Hypereosinophilia: a diagnostic challenge. *Neth J Med*. 2018;76(10):431-6.
4. O'Connell EM, Nutman TB. Eosinophilia in Infectious Diseases. *Immunol Allergy Clin North Am*. 2015;35(3):493-522.
5. Tefferi A, Patnaik MM, Pardanani A. Eosinophilia: secondary, clonal and idiopathic. *Br J Haematol*. 2006;133(5):468-92.
6. CDC, Division of Parasitic Diseases and Malaria. *Parasites 2022* [Available from: <https://www.cdc.gov/parasites/>].
7. Ravin KA, Loy M. The Eosinophil in Infection. *Clin Rev Allergy Immunol*. 2016;50(2):214-27.
8. Jourdan PM, Lamberton PHL, Fenwick A, Addiss DG. Soil-transmitted helminth infections. *The Lancet*. 2018;391(10117):252-65.
9. Butcher AR, Parasuramar P, Thompson CS, Grove DI. First report of the isolation of an adult worm of the genus *Brachylaima* (Digenea: Brachylaimidae), from the gastrointestinal tract of a human. *Int J Parasitol*. 1998;28(4):607-10.
10. Gracenea M, Gallego L. *Brachylaimiasis: Brachylaima spp.* (Digenea: Brachylaimidae) Metacercariae Parasitizing the Edible Snail *Cornu aspersum* (Helicidae) in Spanish Public Marketplaces and Health-Associated Risk Factors. *J Parasitol*. 2017;103(5):440-50.
11. Leder K, Weller PF. Eosinophilia and helminthic infections. *Baillieres Best Pract Res Clin Haematol*. 2000;13(2):301-17.
12. Chaudhury A. *Dracunculiasis*. In: Parija SC, Chaudhury A, editors. *Textbook of parasitic zoonoses*. Singapore: Springer Nature Singapore; 2022. p. 427-36.
13. WHO. *Preventive Chemotherapy (pc) data portal 2022* [Available from: <https://www.who.int/data/preventive-chemotherapy/>].
14. Government of Nepal, Ministry of Health and Population, Department of Health Services. *Annual Report Kathmandu; 2019/20*. [Available from: <https://dohs.gov.np/wp-content/uploads/2021/07/DoHS-Annual-Report-FY-2076-77-for-website.pdf>].
15. Mehlhorn H. *Würmer beim Menschen. Die Parasiten des Menschen: Erkrankungen erkennen, bekämpfen und vorbeugen*. 7. ed. Heidelberg: Spektrum Akademischer Verlag; 2012. p. 99-204.
16. Gabriele JA, Rueda MM, Rodriguez CA, Canales M, Sanchez AL. Immune Profile of Honduran Schoolchildren with Intestinal Parasites: The Skewed Response against Geohelminths. *J Parasitol Res*. 2016;2016:1769585.
17. Liu Q, Li M-W, Wang Z-D, Zhao G-H, Zhu X-Q. Human sparganosis, a neglected food borne zoonosis. *The Lancet Infectious Diseases*. 2015;15(10):1226-35.
18. Fried B, Graczyk TK, Tamang L. Food-borne intestinal trematodiasis in humans. *Parasitol Res*. 2004;93(2):159-70.
19. Mas-Coma S, Bargues MD, Valero MA. Human fascioliasis infection sources, their diversity, incidence factors, analytical methods and prevention measures. *Parasitology*. 2018;145(13):1665-99.
20. Toledo R, Álvarez-Izquierdo M, Muñoz-Antoli C, Esteban JG. Intestinal Trematode Infections. In: Toledo R, Fried B, editors. *Digenetic Trematodes*. Cham: Springer International Publishing; 2019. p. 181-213.
21. Nutman TB. Evaluation and differential diagnosis of marked, persistent eosinophilia. *Immunol Allergy Clin North Am*. 2007;27(3):529-49.
22. Sah R, Acosta L, Toledo R. A case report of human gastrodiscoidiasis in Nepal. *Parasitol Int*. 2019;71:56-8.
23. Mas-Coma SB, M.D. & Valero, M.A. Gastrodiscoidiasis, a plant-borne zoonotic disease caused by the intestinal amphistome fluke *Gastrodiscoides hominis* (Trematoda:Gastrodiscidae). *Revista Ibérica de Parasitología*. 2006;66:75-81.
24. Gupte A, Shah C, Koticha A, Shukla A, Kuyare S, Bhatia S. *Gastrodiscoides hominis* infestation of colon: endoscopic appearance. *Gastrointest Endosc*. 2014;79(4):549-50.
25. Sah R, Khadka S. Case series of paragonimiasis from Nepal. *Oxf Med Case Reports*. 2017;2017(11):218-22.
26. Blair D. *Paragonimiasis*. In: Toledo R, Fried B, editors. *Digenetic Trematodes*. New York: Springer New York; 2014. p. 115-52.
27. Narain K, Devi KR, Mahanta J. Development of enzyme-linked immunosorbent assay for serodiagnosis of human paragonimiasis. *Indian J Med Res*. 2005;121(6):739-46.
28. Mehlhorn H. *Einzeiler beim Menschen. Die Parasiten des Menschen: Erkrankungen erkennen, bekämpfen und vorbeugen*. 7. ed. Heidelberg: Spektrum Akademischer Verlag; 2012. p. 15-98.
29. Chai JY, Jung BK. General overview of the current status of human foodborne trematodiasis. *Parasitology*. 2022;149(10):1262-85.
30. Kovalszki A, Weller PF. *Eosinophilia*. *Prim Care*. 2016;43(4):607-17.

## 8.2 Frage- und Untersuchungsbogen

Research member: \_\_\_\_\_ Date of interview (dd/mm/yyyy): \_\_\_\_\_ ID: \_\_\_\_\_

### Evaluation of cause of eosinophilia in children in Dhulikhel hospital and its affiliated health facilities

Thank you for participating in our study. I will read each question aloud and wait for your response. For some questions I will also read some responses aloud, from which you can choose. Please take as long as you need to remember or think about your answer. If you need more clarification, please tell us for further information. All your answers will be kept confidential.

The questions in the Questionnaire are in a "you"-form. If the parent or a relative of the participant answers the questions, they must be changed in "the child"!

The questions, that must be asked to the participant are in **bold**.

If a question wasn't asked, leave the box blank!

1. Socio-demographic data (01-34)		
QN	Questions	Responses
01	Sex	<input type="radio"/> Male <input type="radio"/> Female
02	Age	____ ____  Years and ____ ____  Months
03	<b>What is your caste/ethnic group origin?</b>	<input type="radio"/> Chhetri <input type="radio"/> Tharu <input type="radio"/> Newar <input type="radio"/> Rai <input type="radio"/> Brahmin <input type="radio"/> Tamang <input type="radio"/> Kami <input type="radio"/> Other: _____ <input type="radio"/> Magar <input type="radio"/> Yadav
04	<b>What is the name of the village/city you live in?</b>  <i>If village, what is the closest city?</i>	_____ _____
05	<b>In what area do you live?</b> (deduce from question 04)	<input type="radio"/> Urban <input type="radio"/> Rural
06	<b>In which Province do you live?</b> (deduce from question 04)	<input type="radio"/> Koshi (No. 1) <input type="radio"/> Bagmati (No. 3) <input type="radio"/> Rapti (No. 5) <input type="radio"/> Janaki (No. 2) <input type="radio"/> Gandaki (No. 4) <input type="radio"/> Karnali (No. 6) <input type="radio"/> Sudurpashchim (No. 7)
07	<b>In which development region do you currently live?</b> (deduce from question 04)	<input type="radio"/> Eastern Dev. Region <input type="radio"/> Western Dev. Region <input type="radio"/> Far-Western Dev. Region <input type="radio"/> Central Dev. Region <input type="radio"/> Mid-Western Dev. Region
08	<b>In which physiographic region do you currently live?</b> (deduce from question 04)	<input type="radio"/> High Mountain <input type="radio"/> Mid-Hill <input type="radio"/> Terai <input type="radio"/> Mid-Mountain <input type="radio"/> Siwalik
09	<b>What is your religion?</b>	<input type="radio"/> Hindu <input type="radio"/> Islam <input type="radio"/> Christianity <input type="radio"/> Other: _____ <input type="radio"/> Buddhism <input type="radio"/> Kirat <input type="radio"/> No religion
10	<b>What is your mother tongue?</b>	<input type="radio"/> Nepali <input type="radio"/> Tharu <input type="radio"/> Newar <input type="radio"/> Maithili <input type="radio"/> Tamang <input type="radio"/> Other: _____ <input type="radio"/> Bhojpuri <input type="radio"/> Magar
11	<b>What kind of house are you living in?</b>	<input type="radio"/> Concrete house with cemented floor <input type="radio"/> Mud house with uncemented floor
12	<b>How many persons live in your Household?</b>	<input type="radio"/> 2 <input type="radio"/> 4 <input type="radio"/> 6 <input type="radio"/> 8 <input type="radio"/> 3 <input type="radio"/> 5 <input type="radio"/> 7 <input type="radio"/> more
13	<b>What is your Source of drinking water? (more than one tick is possible)</b>	<input type="radio"/> Tap/Piped water <input type="radio"/> Uncovered well/kuwa <input type="radio"/> Mineral water bottle <input type="radio"/> Tube well/hand pump <input type="radio"/> Covered well/kuwa <input type="radio"/> Other: _____ <input type="radio"/> Stone Spout <input type="radio"/> Water jar
14	<b>What is your Source of cooking water? (more than one tick is possible)</b>	<input type="radio"/> Tap/Piped water <input type="radio"/> Uncovered well/kuwa <input type="radio"/> Other: _____ <input type="radio"/> Tube well/hand pump <input type="radio"/> Covered well/kuwa <input type="radio"/> Stone Spout <input type="radio"/> Water jar
15	<b>Is your water supply in- or outside your house?</b>	<input type="radio"/> Inside <input type="radio"/> Outside
16	<b>Do you boil or filter your water before you drink it?</b>	<input type="radio"/> Mostly <input type="radio"/> Sometimes <input type="radio"/> Rarely <input type="radio"/> Never
17	<b>What fuel do you usually use for cooking?</b>	<input type="radio"/> Firewood <input type="radio"/> Cow dung <input type="radio"/> Kerosene <input type="radio"/> Liquefied petroleum gas <input type="radio"/> Bio-gas <input type="radio"/> Other: _____
18	<b>Do you have a refrigerator in your Household?</b>	<input type="radio"/> Yes <input type="radio"/> No

Research member: \_\_\_\_\_ Date of interview (dd/mm/yyyy): \_\_\_\_\_ ID: \_\_\_\_\_

19	What is your individual diet?	<input type="radio"/> Omnivore <input type="radio"/> Vegan <input type="radio"/> Other: _____ <input type="radio"/> Vegetarian
20	Did you change your individual diet in the past 2-4 weeks? If yes, what did you change?	<input type="radio"/> Yes <input type="radio"/> No What? _____
21	Do you eat raw or undercooked meat -in general? -in the past 2-4 weeks? What kind?	<input type="radio"/> Yes <input type="radio"/> No <input type="radio"/> Yes <input type="radio"/> No
22	Do you eat raw or undercooked freshwater crab -in general? -in the past 2-4 weeks?	<input type="radio"/> Yes <input type="radio"/> No <input type="radio"/> Yes <input type="radio"/> No
23	Do you eat raw or undercooked freshwater aquatic plants (e.g. watercress) -in general? -in the past 2-4 weeks?	<input type="radio"/> Yes <input type="radio"/> No <input type="radio"/> Yes <input type="radio"/> No
24	Do you eat mud?	<input type="radio"/> Mostly <input type="radio"/> Sometimes <input type="radio"/> Rarely <input type="radio"/> Never
25	How do you wash hands?	<input type="radio"/> Tap water <input type="radio"/> Water from the Stone Spout <input type="radio"/> River <input type="radio"/> Water from the Tube well/hand pump <input type="radio"/> Water from the well <input type="radio"/> Other: _____ <input type="radio"/> Rain Water
	Do you use soap?	<input type="radio"/> Mostly <input type="radio"/> Sometimes <input type="radio"/> Rarely <input type="radio"/> Never
26	How do you wash yourself?	<input type="radio"/> Tap water <input type="radio"/> Water from the Stone Spout <input type="radio"/> River <input type="radio"/> Water from the Tube well/hand pump <input type="radio"/> Water from the well <input type="radio"/> Other: _____ <input type="radio"/> Rain Water
	Do you use soap?	<input type="radio"/> Mostly <input type="radio"/> Sometimes <input type="radio"/> Rarely <input type="radio"/> Never
27	How frequently do you clip your fingernails? Every...	<input type="radio"/> 1 week <input type="radio"/> 2 week <input type="radio"/> 3 week <input type="radio"/> 4 week <input type="radio"/> >4 week
28	Where do you wash your clothes?	<input type="radio"/> Washing machine                      By hand with: <input type="radio"/> Water from the Stone Spout <input type="radio"/> Rain Water <input type="radio"/> Tap water <input type="radio"/> Water from the Tube well/hand pump <input type="radio"/> Water from the well <input type="radio"/> River <input type="radio"/> Water from the Tube well/hand pump <input type="radio"/> Water from the well <input type="radio"/> Other: _____
29	Do you have a Toilet inside your house?	<input type="radio"/> Yes <input type="radio"/> No
	If No, how many families share the Toilet?	<input type="radio"/> 1 (private) <input type="radio"/> 2-3 <input type="radio"/> more
30	What type of Toilet do you have at home?	<input type="radio"/> Flush toilet (public sewerage) <input type="radio"/> Ordinary toilet <input type="radio"/> No Toilet <input type="radio"/> Flush toilet (septic tank)
31	Do you usually wear shoes when you are out of the house?	<input type="radio"/> Mostly <input type="radio"/> Sometimes <input type="radio"/> Rarely <input type="radio"/> Never
32	Do you have contact to animals?	<input type="radio"/> Often <input type="radio"/> Sometimes <input type="radio"/> Rarely <input type="radio"/> Never Animals: _____
33	Do you live with animals in your household?	<input type="radio"/> Yes <input type="radio"/> No Animals: _____
34	Do you stay/swim in water?	<input type="radio"/> Often <input type="radio"/> Sometimes <input type="radio"/> Rarely <input type="radio"/> Never
	If yes, what type (lake, river, pond, ...)? What is its name?	Type + Name: _____

Research member: \_\_\_\_\_ Date of interview (dd/mm/yyyy): \_\_\_\_\_ ID: \_\_\_\_\_

2. Present symptoms (35-39) (only from the medical history)		
QN	Question and filters	Responses
35	Chief complaint and Duration -until admission/ the interview	
	-from admission to interview (if not on the same day)	
36	Do you have any pain?	<input type="radio"/> None <input type="radio"/> Joint/ Bone/ Back <input type="radio"/> Other: _____ <input type="radio"/> Body ache <input type="radio"/> Head
37	Do you have gastrointestinal symptoms?	<input type="radio"/> None <input type="radio"/> Nausea <input type="radio"/> Vomiting _____ x <input type="radio"/> Abdominal pain <input type="radio"/> Diarrhoea ( $\geq 4$ x per day) <input type="radio"/> Constipation <input type="radio"/> Abdominal distension <input type="radio"/> Other: _____
38	Do you have any respiratory symptoms?	<input type="radio"/> None <input type="radio"/> Noisy breathing <input type="radio"/> Haemoptysis <input type="radio"/> Cough <input type="radio"/> Sputum <input type="radio"/> Chest pain <input type="radio"/> Shortness of breath Details: _____
39	Do you have any cardiovascular symptoms?	<input type="radio"/> None <input type="radio"/> Paroxysmal nocturnal <input type="radio"/> Other: _____ <input type="radio"/> Shortness of breath                      Dyspnea <input type="radio"/> Palpitations
3. Medical history (40-51)		
QN	Question and filters	Responses
40	Do you have fever? (only from the medical history)	<input type="radio"/> Yes <input type="radio"/> No Fever for _____ days
41	Did you lose weight in the last 3 months? (only from the medical history)	<input type="radio"/> Yes <input type="radio"/> No How much (kg): _____
42	Were you specially tired?	<input type="radio"/> Yes <input type="radio"/> No
43	Did you have poor appetite since the symptoms began?	<input type="radio"/> Yes <input type="radio"/> No
44	Have you already received any Medication because of the current disease?	<input type="radio"/> Antibiotics: _____ <input type="radio"/> Antiparasitic/ Antihelminthic: _____ <input type="radio"/> Other: _____ <input type="radio"/> Pain Medication: _____
45	Where did you get your medication from? Location?	_____
46	Did you take them regularly/as indicated by your doctor?	<input type="radio"/> Yes <input type="radio"/> No
47	Vaccines up to date according to the EPI? According to...	<input type="radio"/> Up to date <input type="radio"/> Not up to date <input type="radio"/> No information <input type="radio"/> The vaccination card <input type="radio"/> The parent/relative
48	When did you get your last deworming treatment (Albendazole)?	<input type="radio"/> < 6 Months <input type="radio"/> > 6 Months Date: _____
49	Do you have any known allergies?	<input type="radio"/> Yes <input type="radio"/> No What allergy? _____ Since when? _____
50	Do you have any chronic diseases?	<input type="radio"/> No <input type="radio"/> Tb. If yes, please elaborate: _____ <input type="radio"/> Others: _____ _____ Elaborate: _____ _____
51	Does a relative/ close friend of you have/had similar Symptoms? -in the past -currently	<input type="radio"/> Yes <input type="radio"/> No <input type="radio"/> Yes <input type="radio"/> No

Research member: \_\_\_\_\_ Date of interview (dd/mm/yyyy): \_\_\_\_\_ ID: \_\_\_\_\_

4. Physical examination and measurements (52-71)		The parameters, that must be surveyed are in bold.	
QN	Question and filters	Responses	
52	Was the Patient admitted or came to the OPD?	<input type="radio"/> Admitted, DOA: _____	<input type="radio"/> OPD
53	Pallor	<input type="radio"/> No	<input type="radio"/> Mild/Moderate Pale <input type="radio"/> Severely Pale
54	Is there any cutaneous finding? If yes, localisation?	<input type="radio"/> None <input type="radio"/> Rash <input type="radio"/> Urticaria	<input type="radio"/> Jaundice <input type="radio"/> Other: _____ <input type="radio"/> Subcutaneous nodules Localisation: _____
55	Is there a Lymphadenopathy? If yes:	<input type="radio"/> Yes Localisation: _____ Approximate size: _____	<input type="radio"/> No
56	Does the child have any joint swelling?	<input type="radio"/> Yes	<input type="radio"/> No
57	Dehydration (Turgor, Tears, Mucous membrane)	<input type="radio"/> Yes	<input type="radio"/> No
58	Are there any respiratory signs?	<input type="radio"/> None	<input type="radio"/> Crackles <input type="radio"/> Wheezing <input type="radio"/> Other: _____
59	Are there any cardiovascular signs? Localisation?	<input type="radio"/> None Localisation: _____	<input type="radio"/> Oedema <input type="radio"/> Other: _____
60	Does the child have Hepato- or Splenomegaly?	<input type="radio"/> No	<input type="radio"/> Hepatomegaly <input type="radio"/> Splenomegaly
61	Does the child have any free fluid? If yes:	<input type="radio"/> Yes <input type="radio"/> Pleural <input type="radio"/> Pericardial	<input type="radio"/> No <input type="radio"/> Ascitic
62	Are there any signs for Meningitis or Encephalitis?	<input type="radio"/> None <input type="radio"/> Neck Stiffness	<input type="radio"/> Convulsion <input type="radio"/> Other: _____
63	Height/Length	_____ . _____ cm	
64	Weight	_____ . _____ kg	
65	Body temperature	_____ . _____ °C	
66	Respiratory rate	_____ Breaths/minute	
67	Saturation of O2 in room air	_____ %	
68	Pulse rate	_____ Beats/minute	
69	_____ cm / _____ kg Weight for height/length:	<input type="radio"/> No malnutrition	
	_____ months / _____ kg Weight for age:	<input type="radio"/> Mild malnutrition	
	BMI ( $\geq 5 Y$ ): $\frac{kg}{m^2} =$	<input type="radio"/> Moderate malnutrition	
70	What is the working Diagnosis?	<input type="radio"/> UTI	<input type="radio"/> Anaemia
		<input type="radio"/> RTI	<input type="radio"/> GTI
		<input type="radio"/> Sepsis	<input type="radio"/> Allergy
71	What is the prescribed Medication after the visit?	<input type="radio"/> Antibiotics: _____	<input type="radio"/> Antiparasitic/Anthelmintic _____
		<input type="radio"/> Pain Medication: _____	<input type="radio"/> Parasitic infection _____
		_____	<input type="radio"/> Malignoma _____
		<input type="radio"/> Other: _____	<input type="radio"/> Other: _____

Research member: \_\_\_\_\_ Date of interview (dd/mm/yyyy): \_\_\_\_\_ ID: \_\_\_\_\_

5. Lab results (72-85)									
Date									
		QN1	QN2	QN3	QN4	QN5	QN6	QN7	QN8
QN	Parameter	Result							
72	RBC Mio/ $\mu$ l								
73	WBC $10^3/\mu$ l								
74	Differential Neutrophilic count in %								
75	Differential Eosinophilic count in %								
76	Differential Basophilic count in %								
77	Absolute Eosinophilic count in /mm <sup>3</sup> (out of 73 and 75)								
78	Thrombocytes $10^3/\mu$ l								
79	Haemoglobin in g/dl								
80	Erythrocyte sedimentation rate in mm/hour								
81	Miscellaneous 1: _____								
82	Miscellaneous 2: _____								
83	Miscellaneous 3: _____								
84	Miscellaneous 4: _____								
85	Miscellaneous 5: _____								

6. Further examination (86-97)		
QN	Question and filters	Responses
86	Uristix pathological	<input type="radio"/> Yes <span style="float: right;"><input type="radio"/> No</span> If yes, describe: _____
87	Peripheral smear Examination positive	<input type="radio"/> Yes <span style="float: right;"><input type="radio"/> No</span> Detail: _____
88	Bone-marrow examination positive	<input type="radio"/> Yes <span style="float: right;"><input type="radio"/> No</span> Detail: _____
89	Chest X-ray (several ticks possible)	<input type="radio"/> Normal <span style="margin-left: 100px;"><input type="radio"/> Bilateral pleural effusion</span> <span style="margin-left: 100px;"><input type="radio"/> Cardiomegaly</span> <input type="radio"/> Right pleural effusion <span style="margin-left: 100px;"><input type="radio"/> Bilateral pulmonary infiltrates</span> <span style="margin-left: 100px;"><input type="radio"/> Other: _____</span> <input type="radio"/> Left pleural effusion
90	Mantoux-Test positive Gene Xpert positive	<input type="radio"/> Yes <span style="float: right;"><input type="radio"/> No</span> <input type="radio"/> Yes <span style="float: right;"><input type="radio"/> No</span>

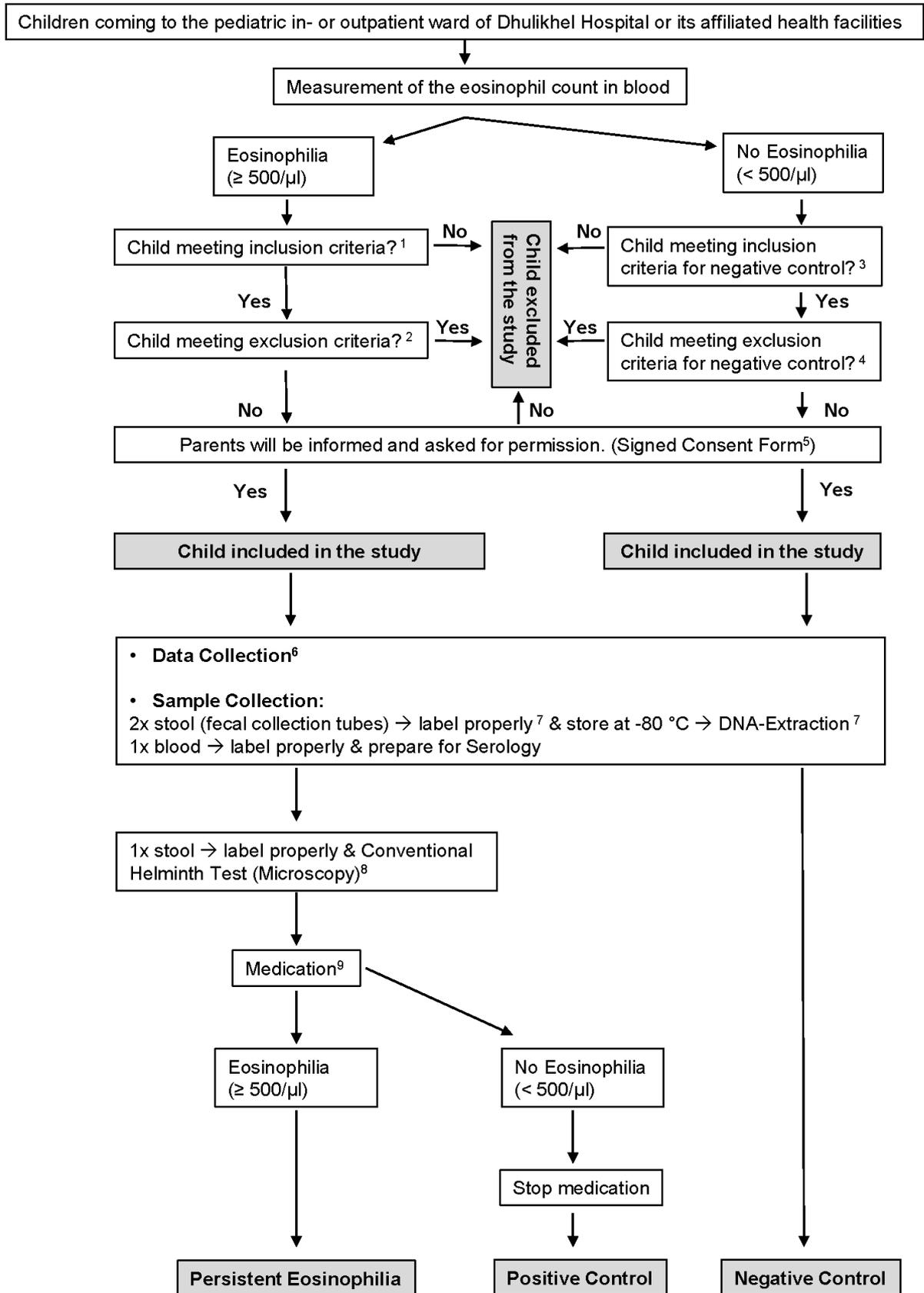
Research member: \_\_\_\_\_ Date of interview (dd/mm/yyyy): \_\_\_\_\_ ID: \_\_\_\_\_

91	Stool sample for parasites, ova, cysts (microscope)  If yes, describe	Parasites: <input type="radio"/> Yes _____ <input type="radio"/> No Ova: <input type="radio"/> Yes _____ <input type="radio"/> No Cysts: <input type="radio"/> Yes _____ <input type="radio"/> No
92	Did you collect 2 Stool samples for DNA extraction	<input type="radio"/> Yes _____ <input type="radio"/> No Date: _____ Label of the sample: _____
93	Did you collect 1 Blood sample for Serology	<input type="radio"/> Yes _____ <input type="radio"/> No Date: _____ Label of the sample: _____
94	Findings in Echocardiography?	<input type="radio"/> Yes _____ <input type="radio"/> No Describe: _____ _____ _____ _____
95	Findings in Abdominal Ultrasound? If yes, in which organ, describe! (several ticks possible)	<input type="radio"/> Yes _____ <input type="radio"/> No  <input type="radio"/> Vessels <input type="radio"/> Spleen <input type="radio"/> Bladder <input type="radio"/> Uterus <input type="radio"/> Pancreas <input type="radio"/> Right Kidney <input type="radio"/> Lymph nodes <input type="radio"/> Ovary <input type="radio"/> Liver <input type="radio"/> Left Kidney <input type="radio"/> Intestine <input type="radio"/> Prostate <input type="radio"/> Gallbladder <input type="radio"/> Other Describe: _____ _____ _____ _____
96	Findings in fluid analysis? If yes, in which fluid: Eosinophil count: Describe:	<input type="radio"/> Yes _____ <input type="radio"/> No <input type="radio"/> Pleural fluid <input type="radio"/> Pericardial fluid <input type="radio"/> Ascitic fluid <input type="radio"/> >50% <input type="radio"/> 10-50% <input type="radio"/> <10% <input type="radio"/> No eosinophils Describe: _____ _____ _____
97	Miscellaneous (e.g. Gastric fluid):	Describe: _____ _____ _____

7. In case of admission: discharge data (98-101)		
QN	Question and filters	Responses
98	Date of discharge or death	____ ____  ____ ____  ____ ____  Day      Month      Year
99	Duration of hospital stay	____ ____  Days
100	Discharge diagnosis	_____ _____ _____
101	In hospital outcome	<input type="radio"/> Alive <input type="radio"/> Dead

Abbildung 5: Frage- und Untersuchungsbogen, die für die Studie entwickelt wurden.

### 8.3 Workflow



**1. Inclusion criteria for the patient group (positive control and persistent eosinophilia):**

- patient admitted to the in- or outpatient pediatric ward
- eosinophilia (count  $\geq 500 \mu\text{L}$ )
- Symptomatic<sup>10</sup> or asymptomatic

**2. Exclusion criteria for the patient group (positive control and persistent eosinophilia):**

- Moribund patient
- Asthma, Allergy, Cancer known as being the cause of the eosinophilia

**3. Inclusion criteria for the negative control group:**

- patient admitted to the in- or outpatient pediatric ward for minor health issues

**4. Exclusion criteria for the negative control group:**

- eosinophilia (count  $\geq 500 \mu\text{L}$ )
- Moribund patient
- helminth or other parasitic treatment, steroids in the past 6 weeks

**5. See document "Consent Form"**

**6. See document "Questionnaire" and document "Further examination"**

**7. See document "Protocol: DNA-Extraction from stool"**

**8. Microscopy**

- Using formalin-ether concentration technique

**9. Medication:**

The study will try to stick to the following schema for the management and treatment of the patients with eosinophilia:

- a. Albendazole + Ivermectin 1 Dose (3-5 days) followed by Data collection<sup>6</sup> and CBC
- b. If eosinophilia persisting: Diethylcarbamazine (DEC) (1-2 weeks) followed by Data collection<sup>6</sup> and CBC
- c. If eosinophilia persisting: Praziquantel (3 days) followed by Data collection<sup>6</sup> and CBC
- d. If eosinophilia persisting: Steroids (4-6 weeks) followed by Data collection<sup>6</sup> and CBC
- e. If eosinophilia persisting: further Steroid treatment followed by Data collection<sup>6</sup> and CBC

**10. One or more of the following symptoms [1]:**

- constitutional symptoms (fever, weight loss, fatigue, body ache, poor appetite, pallor)
- gastrointestinal symptoms (abdominal pain, abdominal distension, nausea, vomiting, diarrhea)
- respiratory symptoms (cough, shortness of breath, chest pain, noisy breathing)
- cardiovascular symptoms (shortness of breath due to a cardiac cause, edema, palpitation, paroxysmal nocturnal dyspnea)

[1] Shrestha S, Timila D, Karki U, Shrestha A, Bhandary S. Clinical profile of children with moderate-to-severe eosinophilia presenting to a tertiary hospital in Nepal. *Tropical doctor*. 2012;42(4):232-4.

## 8.4 Informationsblatt

### INFORMATION SHEET

#### ENGLISH VERSION

This sheet contains information about a research study regarding **Eosinophilia in children**. Eosinophilia means that some of the normal blood cells are present in too high numbers. The team of doctors at the Dhulikhel Hospital started to search for the reason for this high cell count in children. It may be the result of a worm infection, but so far, they don't know for sure. If a parasite can be identified, the children can get a proper treatment. Also, if the source of the parasite can be identified, further contamination can be avoided.

Whether a child had an infection with worms or not, the parents or legal guardian and the child can support the search for the reason of this disease by agreeing to let the child participate. The participation is completely voluntary. If a child does not participate, the treatment at the hospital will not be affected. The agreement to participate can be withdrawn at any time, with no consequences and no effect on the treatment of the child. Personal data from the children and parents who took part, also those who stopped taking part, are guaranteed to be not available for the public. Only the members of the research team have access to the data, limited to the time period of this study. Additionally, the data will be pseudonymized, meaning that the data are stored in a safe way. Everything which connects to the personal data underlies the medical confidentiality.

The parents or the legal guardian and the child will be asked some questions, the child will receive a physical examination and stool as well as blood samples will be obtained. If further examinations are done, these data will also be collected. Drawing blood may cause minor pain, but there will be no other impairment from participation. Samples will be specifically tested with additional methods and will therefore be sent to collaborating hospitals. The samples will be labelled with a pseudonymization-code, so that no personal data about the child will be transferred.

If participants or their parents or legal guardian wish, the research team in Nepal may contact them in order to report the results of the blood test.

It may be helpful for the research, if the child will undergo the steps explained above more than once. If this generates any issue e.g. supplementary travel costs, the family will be supported on a case-by-case basis.

*Abbildung 7: Informationsblatt für die Teilnehmer der Studie*

## **8.5 Einwilligungserklärung**

### **INFORMED CONSENT**

#### **ENGLISH VERSION**

You are asked to let your child participate in a research study regarding Eosinophilia. This means that some of the normal blood cells are present in too high numbers. The team of doctors at the Dhulikhel Hospital started to search for the reason for this high cell count in children. It may be the result of a worm infection, but so far, we don't know for sure.

Whether your child had an infection with worms or not, you can support our search for the reason of this disease by agreeing to let your child participate. If you decide for participation, please sign this document after reading the following.

Your participation and the participation of your child is completely voluntary. If your child does not participate, the treatment at the hospital will not be affected. You can withdraw your agreement and stop to participate at any time, with no consequences and no effect on the treatment of your child. Personal data from those children and parents who took part, also those who stopped taking part are guaranteed to be not available for the public. Only the members of the research team have access to your data, limited to the time period of this study. Additionally, your data will be pseudonymized, meaning that your data are stored in a safe way. Everything which connects to your personal data underlies the medical confidentiality.

You and your child will be asked some questions, your child will receive a physical examination and stool as well as blood samples will be obtained. If further examinations are done these data will also be collected. Drawing blood may cause minor pain, but there will be no other impairment from participation. Samples will be specifically tested with additional methods and will therefore be sent to collaborating hospitals. The samples will be labelled with your pseudonymization-code, so that no personal data about your child will be transferred.

If you wish, the research team in Nepal may contact you in order to report the results of your blood test. It may be helpful for the research, if your child will undergo the steps explained above more than once. If this generates any issue e.g. supplementary travel costs, you will be supported on a case-by-case basis.

Consent

I have had the chance to reflect the information given, ask questions and the answers provided were satisfactory.

I have understood the above information. I recognize that the participation is voluntary and that I am free to withdraw at any time, without giving any reason, without my medical care or legal rights being affected.

I would like to get the results of the analysis of my blood sample.

\_\_\_\_\_  
Signature of Parent or legal guardian

\_\_\_\_\_  
Signature of Patient if over 7 years old

\_\_\_\_\_  
Signature of research member taking the consent

\_\_\_\_\_  
Date

*Abbildung 8: Einwilligungserklärung für die Studie*

## 9 Danksagung

## 10 Tabellarischer Lebenslauf

