

UNIVERSITEIT GENT

FACULTEIT DIERGENEESKUNDE

Academiejaar 2009-2010

De impact van *Taenia solium* op de volksgezondheid in Nepal

door

Brecht DEVLEESSCHAUWER

Promotor: Prof. Dr. Pierre Dorny

Onderzoeksverslag in het kader
van de Masterproef

INHOUDSOPGAVE

Inhoudsopgave	i
Auteursrecht	ii
Lijst van tabellen	iii
Lijst van figuren	iv
Lijst van afkortingen.....	v
SAMENVATTING	1
ALGEMENE INLEIDING: Nepal en de varkenslintworm	3
HOOFDSTUK ÉÉN: Schatting van de ziektelast van cysticercose in Nepal aan de hand van <i>disability-adjusted life years</i>	5
1.1. Inleiding	5
1.2. Materialen en methoden.....	6
1.2.1. Parameters voor DALY-berekening.....	6
1.2.2. Gegevensbronnen	7
1.2.2.1. Prevalentie van epilepsie en behandelingskloof	7
1.2.2.2. Proportie van NCC-gerelateerde epilepsie.....	7
1.2.3. Gegevensbeheer en -verwerking.....	8
1.2.4. Ethisch protocol	8
1.3. Resultaten	8
1.3.1. Gebruikte gegevens.....	8
1.3.2. <i>Disability-adjusted life years</i>	11
1.4. Discussie	12
1.5. Conclusies en aanbevelingen	15
HOOFDSTUK TWEE: De invloed van het Nepalese kastenstelsel op de transmissie van <i>Taenia solium</i>	16
2.1. Inleiding	16
2.2. Materialen en methoden.....	17
2.2.1. Studielocatie en geselecteerde populatie.....	17
2.2.2. Bevraging van de populatie	18
2.2.3. Verzameling van lintwormen en speciesidentificatie	19
2.2.4. Beheer van de gegevens en statistische verwerking	19
2.2.5. Ethisch protocol	19
2.3. Resultaten	19
2.4. Discussie	24
2.5. Conclusies en aanbevelingen	26

HOOFDSTUK DRIE: Antigeendetectie voor de diagnose van <i>Taenia solium</i> cysticercose	28
3.1. Inleiding	28
3.2. Materialen en methoden.....	31
3.2.1. Studiopzet	31
3.2.2. Staalnames en informatieverzameling.....	31
3.2.3. Testprocedures	32
3.2.4. Gegevensbeheer en statistische verwerking.....	33
3.2.5. Ethisch protocol	34
3.3. Resultaten	34
3.3.1. Longitudinale veldstudie	34
3.3.2. Dwarsdoorsnedestudie	38
3.4. Discussie	41
3.5. Conclusies en aanbevelingen	45
 ALGEMENE DISCUSSIE EN CONCLUSIES	 46
 DANKWOORD.....	 48
 REFERENTIES.....	 50
 BIJLAGEN	 57
I. Nepal geografisch, administratief en ecologisch	57
II. Nepal demografisch	58
III. Studielocaties.....	59
IV. Vragenlijst (Engelstalige versie)	60

AUTEURSRECHT

De auteur geeft de toelating deze studie voor consultatie beschikbaar te stellen voor persoonlijk gebruik. Elk ander gebruik valt onder de beperkingen van het auteursrecht, in het bijzonder met betrekking tot de verplichting de bron uitdrukkelijk te vermelden bij het aanhalen van deze studie. Het auteursrecht betreffende de gegevens vermeld in deze studie berust bij de promotor(en). Het oorspronkelijke auteursrecht van de individueel geciteerde studies en eventueel bijhorende documentatie, zoals tabellen en figuren, blijft daarbij gevrijwaard. De auteur en de promotor(en) zijn niet verantwoordelijk voor de behandelingen en eventuele doseringen die in deze studie geciteerd en beschreven zijn.

LIJST VAN TABELLEN

Tabel 1.1. Leeftijds- en geslachtsverdeling van de Nepalese populatie, gebaseerd op de recentste demografische studie (MoHP et al., 2007) en toegepast op de populatieprojectie voor 2009 (UN, 2009)	9
Tabel 1.2. DALY-parameters voor epilepsie (Murray en Lopez, 1996)	9
Tabel 1.3. Epidemiologische parameters voor de DALY-berekening voor epilepsie ten gevolge van NCC in Nepal. De onzekerheid in de basisgegevens wordt weergegeven door de drie scenario's	10
Tabel 1.4. YLD's, YLL's en DALY's per 1.000 inwoners voor <i>T. solium</i> cysticercose in Nepal, per leeftijdscategorie en geslacht, berekend volgens het meest waarschijnlijke scenario (ABC)2	11
Tabel 1.5. Onzekerheidsanalyse van de YLD's, YLL's en DALY's (per 1.000 inwoners) berekend voor <i>T. solium</i> cysticercose in Nepal. De onzekerheid van elke parameter is weergegeven door drie scenario's, waarbij scenario (ABC)2 het meest waarschijnlijke is en de resultaten van scenario (ABC)1 en (ABC)3 de uiterste waarden vormen van de DALY-onzekerheidsanalyse	11
Tabel 1.6. Eén-wegsonzekerheidsanalyse van YLD's, YLL's en DALY's berekend voor <i>T. solium</i> cysticercose in Nepal (per 1.000 inwoners). Elk van de drie meest variabele parameters wordt gevarieerd volgens drie scenario's terwijl de twee andere parameters constant blijven	12
Tabel 2.1. Prevalentie van taeniose bij verschillende bevolkingsgroepen in Nepal.	17
Tabel 2.2. Onderzoek naar taeniose, cysticercose en gerelateerde risicofactoren bij vijf verschillende bevolkingsgroepen in de oostelijke Terai van Nepal: bestudeerde populatie en resultaten bekomen bij bevraging en lintwormidentificatie	22
Tabel 2.3. Onderzoek naar het voorkomen van epilepsie en de geassocieerde risicofactoren bij 1.442 individuen in de oostelijke Terai van Nepal aan de hand van enkelvoudige logistische regressie	23
Tabel 3.1. Verdeling van de proefvarkens (n = 18) over de boeren in een longitudinale veldstudie naar porcine cysticercose in de oostelijke Terai van Nepal.....	35
Tabel 3.2. Maandelijkse serologische resultaten en finale dissectieresultaten van de achttien varkens die deel uitmaakten van de longitudinale veldstudie naar porcine cysticercose in de oostelijke Terai van Nepal (maart 2008 tot maart 2009)	37
Tabel 3.3. Kaste en type epilepsie van de patiënten (n = 144) opgenomen in de dwarsdoorsnedestudie naar NCC in het BPKIHS, Dharan, Nepal (maart 2008 tot mei 2009)	38
Tabel 3.4. Serologische en radiografische resultaten van de patiënten (n = 144) opgenomen in de dwarsdoorsnedestudie naar NCC in het BPKIHS, Dharan, Nepal (maart 2008 tot mei 2009)	39
Tabel 3.5. Verband tussen het resultaat van de Ag-ELISA en het geslacht, de kaste, het type epilepsie en het resultaat van beeldvorming en antistofdetectie van de onderzochte epilepsiepatiënten (n = 144) aan de hand van enkelvoudige logistische regressie	39
Tabel 3.6. Verband tussen de Ag-ELISA-ratio en het resultaat van beeldvorming en antistofdetectie van de onderzochte epilepsiepatiënten (n = 72; n = 93) op basis van multi-pele logistische regressie	40
Tabel 3.7. Verband tussen de Ag-ELISA-ratio en het beeldvormingsresultaat van de onderzochte epilepsiepatiënten (n = 72) aan de hand van enkelvoudige lineaire regressie	40

LIJST VAN FIGUREN

- Figuur 2.1.** PCR-RFLP-patroon van de onderzochte lintwormstalen (banen 1-2, 4-12 en 14), indicatief voor *T. asiatica*. Baan 3 behoort niet tot de onderzochte stalen, MM duidt de moleculaire merkers aan en baan 13 is een positieve controle (*Taenia crassiceps*) 21
- Figuur 2.2.** Evolutie van het percentage personen met actieve epilepsie per leeftijdsgroep van vijf jaar zoals blijkt uit de studie naar het voorkomen van epilepsie in de oostelijke Terai van Nepal (n = 1.442)..... 24
- Figuur 3.1.** PCR-RFLP-patroon van de cysticercen verzameld bij de varkens opgenomen in de longitudinale veldstudie in de oostelijke Terai van Nepal. Banen 580 en 545 zijn indicatief voor *T. hydatigena* (staal 556 niet getoond), banen 581, 583, 582 en 587 zijn aspecifiek en banen 586, 588, 591 en 579 zijn negatief. MM duidt de moleculaire merkers aan en banen 1-2 en 3 zijn *T. saginata* respectievelijk *T. crassiceps* als positieve controles..... 36
- Figuur 3.2.** Ag-ELISA-ratio's van de epilepsiepatiënten met voor NCC indicatieve beeldvormingsbevindingen (n = 29). Stalen met een ratio hoger dan één waren positief 41

LIJST VAN AFKORTINGEN

95%-BI	<i>95%-betrouwbaarheidsinterval</i>
Ag-ELISA	<i>Antigen-detecting enzyme-linked immunosorbent assay</i>
BPKIHS	<i>B.P. Koirala Institute of Health Sciences</i>
CT	<i>Computed tomography</i>
DALY	<i>Disability-adjusted life year</i>
DNA	<i>Deoxyribonucleic acid</i>
EITB	<i>Enzyme-linked immunotransfer blot</i>
GBD	<i>Global burden of disease</i>
HRP	<i>Horse radish peroxidase</i>
MRI	<i>Magnetic resonance imaging</i>
NCC	<i>Neurocysticercose</i>
NZFHRC	<i>National Zoonose and Food Hygiene Research Centre</i>
OD	<i>Optische densiteit</i>
OR	<i>Odds ratio</i>
PBS	<i>Phosphate-buffered saline</i>
PCR	<i>Polymerase chain reaction</i>
RFLP	<i>Restriction fragment length polymorphism</i>
T20	<i>Tween 20</i>
YLD	<i>Years lived with disability</i>
YLL	<i>Years of life lost</i>

“Neglected tropical diseases are a symptom of poverty and disadvantage. Those most affected are the poorest populations often living in remote, rural areas, urban slums or in conflict zones. With little political voice, neglected tropical diseases have a low profile and status in public health priorities.”

- *WHO-definitie van verwaarloosde tropische ziekten* -

SAMENVATTING

Taenia solium, de varkenslintworm, is een verwaarloosde zoönotische parasiet die endemisch is in tal van onderontwikkelde landen en regio's, waaronder Nepal. De normale levenscyclus omvat de mens als eindgastheer en het varken als tussengastheer, maar het klinische belang ervan houdt hoofdzakelijk verband met de accidentele opname van lintwormeieren en de verdere ontwikkeling ervan tot cysticercen in het hersenweefsel van de mens (neurocysticercose; NCC). Hoewel de aanwezigheid van deze parasiet al decennialang wordt gerapporteerd in Nepal, is het eigenlijke belang ervan nog onduidelijk. Sociale evoluties en een toename van de vleesconsumptie zorgen bovendien voor veranderingen in de epidemiologie ervan. De doelstellingen van deze masterproef waren bijgevolg (1) het kwantificeren van de impact van NCC op de volksgezondheid in Nepal; (2) het bestuderen van de invloed van het Nepalese kastenstelsel op de transmissie van de varkenslintworm; en (3) het evalueren van antigeendetectorie voor de diagnose van *T. solium* cysticercose, aangezien immunodiagnostiek een belangrijke bijdrage levert aan epidemiologisch en klinisch onderzoek.

In het eerste hoofdstuk werd op basis van de beschikbare gegevens en gegevens afkomstig uit eigen onderzoek het aantal *disability-adjusted life years* (DALY's) berekend voor *T. solium* cysticercose. Deze DALY-parameter is gebaseerd op de mortaliteit en de morbiditeit van een ziekte en zou het mogelijk maken de ziektelast te vergelijken over de landsgrenzen heen. In Nepal bleken er per jaar en per 1.000 inwoners 2,73 gezonde levensjaren verloren te gaan door NCC-gerelateerde epilepsie, waarvan ruim 80% het gevolg was van voortijdige sterfte. Aan de hand van een scenarioanalyse, gebaseerd op de onzekerheid in de basisgegevens, werd bijkomend berekend dat dit resultaat kon variëren van 0,38 tot 9,19 DALY's per 1.000 inwoners per jaar. Meer betrouwbare basisgegevens en een kritische herziening van de huidige DALY-methodologie zijn echter nodig om een beter beeld te krijgen van de werkelijke ziektelast van *T. solium* cysticercose.

Het tweede hoofdstuk beschrijft een veldstudie uitgevoerd in de oostelijk Terai van Nepal, waarbij verschillende bevolkingsgroepen werden vergeleken voor wat betreft het risico op transmissie van *T. solium* en het voorkomen van lintwormdragers en epilepsiepatiënten. Naarmate de sociale status van de kaste daalde, namen de scholingsgraad en het toiletgebruik af, terwijl de frequentie van varkensvleesconsumptie en het (extensief) houden van varkens toenam. Lintwormdragers werden uitsluitend aangetroffen bij de Dum, een van de laagste kasten in Nepal, maar moleculair onderzoek toonde aan dat alle verzamelde wormen behoorden tot *Taenia asiatica*, een species dat tot dusver nog niet was aangetoond in Nepal. Het voorkomen van epilepsie bleek daarentegen niet te verschillen tussen de bevolkingsgroepen. Deze resultaten tonen aan dat het voorkomen van *Taenia*-lintwormen gerelateerd is aan socioculturele gewoonten en gebruiken, die in Nepal sterk kunnen verschillen naar gelang van de kaste. Verder onderzoek is nodig om duidelijk te maken hoe dit fenomeen, en de mogelijke interactie tussen verschillende *Taenia*-species, de epidemiologie van de varkenslintworm beïnvloedt.

In het laatste hoofdstuk werden twee studies opgezet om het gebruik van antigeendetectie onder veldomstandigheden te evalueren. Achttien varkens werden gedurende een periode van twaalf maanden extensief grootgebracht en maandelijks serologisch opgevolgd. Aan het einde van de studie vond een dissectie plaats van de dieren en werden verzamelde cysticercen onderworpen aan moleculaire speciesidentificatie. Hoewel hierbij geen *T. solium* cysticercen konden worden aangetoond, kon uit deze studie toch worden besloten dat kruisreacties met andere *Taenia*-species en tijdelijk positieve resultaten het gebruik van de huidige antigeendetectietests sterk kunnen limiteren. In een tweede studie werd van 144 epilepsiepatiënten serum onderzocht op de aanwezigheid van circulerende antigenen en *T. solium*-specifieke antistoffen. Hieruit bleek dat een positief antigeenresultaat indicatief was voor NCC, maar niet gerelateerd was aan het type epilepsie, het type NCC of het resultaat van de antistofdetectietest. Om antigeendetectie in epidemiologische studies te kunnen gebruiken, is er nood aan een duidelijk statistisch kader, afgestemd op het doel van de studie.

De verschillende resultaten van deze masterproef tonen aan dat *T. solium* cysticercose in Nepal een reëel, maar mogelijk overschat probleem vormt. De ziektelast van NCC is vermoedelijk echter onevenwichtig verdeeld over de verschillende bevolkingsgroepen, aangezien het vooral de laagste kasten zijn die risico lopen. Ook blijkt de epidemiologie van de varkenslintworm complexer dan gedacht, en dienen de mogelijke interactie met andere species en de mogelijke natuurlijke vaccinatie door een beperkte omgevingscontaminatie verder onderzocht te worden. Hiernaast is er ook een grote nood aan specifiekere tests voor de diagnose van *T. solium* cysticercose en aan verfijndere statistische methoden voor de interpretatie van de resultaten ervan. De ontwikkeling van nauwkeurigere transmissiemodellen kan ten slotte een belangrijk onderdeel worden van het onderzoek naar de varkenslintworm en op termijn een belangrijke rol spelen bij de controle ervan.

ALGEMENE INLEIDING: Nepal en de varkenslintworm

Nepal is een Zuid-Aziatisch ontwikkelingsland, omgeven door de grootmachten China en India. In het noorden wordt het volledig begrensd door de Chinese regio Tibet, in het westen, zuiden en oosten grenst het aan de Indische staten Uttarakhand, Uttar Pradesh, Bihar, West-Bengalen en Sikkim. Administratief wordt het land ingedeeld in verschillende bestuursniveaus. Achtereenvolgens wordt een onderscheid gemaakt tussen 5 ontwikkelingsgebieden, 14 zones, 75 districten en talrijke stedelijke en rurale gemeentes. De geografie en ecologie van Nepal worden gekenmerkt door drie sterk verscheiden gebieden, met de Himalaya in het noorden, het heuvelgebied in het midden en de Terai-laagvlakten in het zuiden (CBS, 2003a; CBS, 2006; bijlage I).

Volgens de meest recente census, uitgevoerd in 2001, zouden er ruim 23 miljoen mensen wonen in Nepal. Met een jaarlijks groeipercentage van 2,25% zou dat aantal in 2009 echter al gestegen zijn tot bijna 28 miljoen. Het grootste deel hiervan woont in de hoofdstad Kathmandu en in de oostelijke en centrale Terai (CBS, 2003a; bijlage II). De bevolking is samengesteld uit een mix van meer dan honderd verschillende etnische groepen, elk met hun eigen religieuze, culturele en sociale gewoonten en gebruiken. Elke dergelijke etnische groep wordt beschouwd als een aparte kaste, waarin vaak nog verschillende subkasten onderscheiden worden. Het kastenstelsel in Nepal is dan ook bijzonder complex en wordt door verschillende auteurs op een verschillende manier ingedeeld. Het Nepalese centrale bureau voor statistiek, dat instaat voor de officiële demografische schattingen, hanteert een systeem waarbij alle kasten in vier grote groepen worden onderverdeeld: het hindoe kastenstelsel, de Newar-bevolkingsgroep, de Janajati of nationaliteiten, en de overige kasten (CBS, 2003b). Binnen het hindoesysteem bestaat er een hiërarchisch onderscheid tussen de verschillende kasten. Bovenaan staan de brahmanen ("priesters"), gevolgd door de chhetri's ("krijgers") en de vaishya's ("handelaars"). Helemaal onderaan staan de zogenaamde onaanraakbaren, dalit of sudra genaamd. Hoewel onderscheid en discriminatie op basis van dit kastenstelsel officieel tot het verleden behoren, ziet men dat de naam waarmee iemand geboren wordt toch nog steeds een grote invloed heeft op het verloop van zijn verdere leven. Het is vooral in de steden en bij de meer ontwikkelde families dat er minder belang wordt gehecht aan dit kastensysteem (Gurung, 2005; Pandey, 2005). De tweede grote groep, de Newari, vindt men vooral in Kathmandu. Deze mensen zijn namelijk de oorspronkelijke bewoners van de hoofdstad. De Janajati zijn een verzameling van etnische groepen die vóór de eenmaking van Nepal niet het hindoesysteem volgden, maar op zich een eigen nationaliteit vormden. Uit het heuvelgebied komen de groepen met Mongoolse trekken, zoals de Rai, Limbu, Tamang, Magar en Gurung. Tot de autochtone bevolking van de Terai behoren onder andere de Tharu. De laatste groep, ten slotte, omvat alle andere, kleinere bevolkingsgroepen, zoals moslims en sikhs (CBS, 2003b).

Net als in vele andere ontwikkelingslanden stijgt ook in Nepal de vraag naar dierlijke proteïnen. Er is namelijk niet alleen een sterke toename van de bevolking, maar ook een relatieve groei van de middenklasse, die zich duurere levensmiddelen zoals vlees kan veroorloven (Joshi et al., 2003). Tijdens de afgelopen tien jaar zijn vooral de pluimvee- en varkenssector sterk gegroeid, met respectievelijk 45 en 34% (FAO, 2003; CBS, 2006). Door deze stijgende vraag naar vlees neemt ook

het risico op voedselgerelateerde ziekten toe. Aangezien de overheid de zelf opgelegde voedselveiligheidsvoorschriften niet toepast en controleert, komen onhygiënische en ongezonde producten dan ook vrij op de markt. Parasitaire, bacteriële en virale zoönosen die endemisch zijn in Nepal, kunnen bijgevolg steeds meer mensen treffen (Joshi et al., 2003).

Een van de belangrijkste zoönotische agentia die overgedragen kan worden via varkensvlees is de varkenslintworm, *Taenia solium* (Flisser et al., 2006; Dorny et al., 2009). Als de mens varkensvlees met de larvale tussenstadia van deze parasiet rauw of onvoldoende gebakken eet, kunnen deze zogenaamde cysticercen zich in de dunne darm verder ontwikkelen tot een volwassen lintworm (taeniose). Deze verliest praktisch elke dag enkele graviede segmenten, die met de feces worden uitgescheiden en elk ongeveer 40.000 infectieuze lintwormeitjes bevatten. Aangezien varkens coprofage dieren zijn, kan de cyclus gemakkelijk voltooid worden als ze de kans krijgen feces van een lintwormdrager op te eten. Hoewel de mens de enige eindgastheer is, kan hij ook optreden als accidentele tussengastheer. Lintwormeitjes die opgenomen worden via omgevingscontaminatie of auto- of allo-infectie (waarbij een lintwormdrager zichzelf of personen uit zijn omgeving besmet via hand-anus-mondcontact) kunnen zich namelijk ook bij de mens ontwikkelen tot cysticercen (cysticercose). Deze vertonen een tropisme voor het centrale zenuwstelsel, zodat in dergelijke gevallen van neurocysticercose wordt gesproken (NCC). De gevolgen van deze besmetting hangen af van verschillende factoren, maar NCC is een belangrijke oorzaak van epilepsie, chronische hoofdpijn en andere neurologische stoornissen in endemische gebieden.

De transmissie van de parasiet wordt bevorderd door gebrekkige hygiëne, primitieve varkenshouderij en illegale en ongecontroleerde slachtingen. Het zijn dan ook vooral arme en sociaal achtergestelde bevolkingsgroepen die een belangrijke rol spelen bij het onderhouden van de levenscyclus. Door omgevingscontaminatie met lintwormeieren kan echter iedereen geïnfecteerd worden, waardoor het probleem van NCC nationale proporties kan aannemen (Flisser et al., 2006; Dorny et al., 2009).

In Nepal wordt de aanwezigheid van de parasiet al ruim dertig jaar gerapporteerd (geciteerd door Joshi et al., 2004), maar tot dusver is het onderzoek ernaar beperkt gebleven. De eerste onderzoekers richtten zich voornamelijk op het voorkomen van cysticercen bij slachtvarkens aan de hand van karkasinspectie (Joshi et al., 2008). Later werden ook serologische methoden gebruikt (Pandey, 2007; Devleeschauwer, 2009). Ondertussen zijn ook al verschillende casusstudies gepubliceerd over gevallen van NCC die werden gediagnosticeerd en behandeld in Nepal (Piryani et al., 2007; Shrestha, 2008), maar het globale beeld van de impact op de volksgezondheid blijft onduidelijk. Het was dan ook de bedoeling van deze studie om een schatting te maken van de ziektelast van *T. solium* in Nepal en tevens te onderzoeken welke bevolkingsgroepen een belangrijke rol spelen bij de transmissie ervan. Aangezien serologie een cruciale rol speelt bij dergelijk epidemiologisch onderzoek, werd ook geprobeerd een beter inzicht te verkrijgen in de interpretatie van serologische resultaten.

HOOFDSTUK ÉÉN

Schatting van de ziektelast van cysticercose in Nepal aan de hand van *disability-adjusted life years*

1.1. Inleiding

Om het belang van een bepaalde ziekte of aandoening te kwantificeren, kan de impact ervan op de economie of de volksgezondheid bepaald worden (Praet et al., 2009). De meest gebruikte parameters hiervoor zijn de financiële kosten, de morbiditeit en de mortaliteit van de ziekte. De economische impact bestaat uit de directe kosten van onder andere diagnose en behandeling en de indirecte kosten van eventueel inkomensverlies. In het geval van zoönotische aandoeningen dragen hier ook de verliezen uit de landbouwsector toe bij. Dergelijke economische schattingen kunnen zeer nuttig zijn voor het lokale beleid, aangezien de resultaten ervan, uitgedrukt in lokale valuta, direct afgewogen kunnen worden tegen de nationale economie (Carabin et al., 2006; Rajkotia et al., 2007). Ze geven echter een onvolledig beeld van de globale ziektelast, aangezien niet alle patiënten even sterk bijdragen tot deze parameter. De impact op de volksgezondheid wordt dan ook best weerspiegeld door de morbiditeit en mortaliteit. Deze parameters brengen alle patiënten onder één noemer, waardoor het mogelijk wordt om de ziektelast te vergelijken over de landsgrenzen heen (Bern et al., 1999). Ze vormen aldus een objectieve basis waarop onderzoekers en internationale beleidsmakers zich kunnen baseren om prioriteiten te stellen.

Sinds 1992 beheert de Wereldgezondheidsorganisatie een project dat als doel heeft de impact van ruim 100 ziekten, letsels en risicofactoren wereldwijd in kaart te brengen en te monitoren. In dit "*global burden of disease*"-project wordt een impactparameter gehanteerd die zowel morbiditeit als mortaliteit in rekening brengt. Deze parameter is gebaseerd op het aantal levensjaren dat een patiënt met de ziekte geleefd heeft en het aantal levensjaren dat is verloren door vroegtijdige sterfte, en wordt uitgedrukt in zogenaamde *disability-adjusted life years* of DALY's (Murray, 1994). Hoewel er nog enige discussie bestaat over de gebruikte DALY-methodologie, wordt dit project toch beschouwd als een mijlpaal voor de internationale gezondheidswetenschap (Stein et al., 2007).

De impact van *T. solium* op de volksgezondheid is divers en kan zich uiten in epilepsie en andere neurologische stoornissen, alsook in oculaire, musculaire en myocardiale stoornissen (García et al., 2003). Aangezien neurocysticercose (NCC) de courantste vorm is van humane cysticercose en epilepsie hier het prominentste kenmerk van is, wordt voornamelijk dit symptoom gebruikt om de ziektelast van *T. solium* te kwantificeren (Bern et al., 1999). In een recente studie, toegepast op West-Kameroen, werden voor het eerst de DALY's berekend voor epilepsie ten gevolge van NCC en het valt te verwachten dat dergelijke cijfers in de toekomst ook voor andere landen beschikbaar zullen worden (Praet et al., 2009). Het was dan ook de bedoeling van dit deel van de studie om een preliminaire DALY-berekening te maken voor *T. solium* cysticercose in Nepal. Hiervoor werden de beschikbare gegevens aangevuld met gegevens afkomstig uit eigen onderzoek.

1.2. Materialen en methoden

1.2.1. Parameters voor DALY-berekening

DALY's zijn een maat voor het aantal gezonde levensjaren die verloren zijn door een bepaalde ziekte. Ze omvatten de levensjaren waarin een patiënt geleefd heeft met de ziekte (*YLD*) en de levensjaren die verloren zijn door vroegtijdige sterfte (*YLL*). Deze parameters worden berekend voor verschillende leeftijdscategorieën (index *i*) en finaal gesommeerd tot een globale DALY-waarde.

$$DALY = \sum_i (YLD_i + YLL_i)$$

YLD rekent de periode van verminderde gezondheidstoestand om naar volledig verloren levensjaren. Hiervoor wordt voor elke leeftijdscategorie *i* het product gemaakt van de jaarlijkse incidentie (*I*), de duur in jaren tot herstel of sterfte (*D*) en de ernst van de ziekte. Deze laatste parameter wordt weergegeven door het morbiditeitsgewicht (*disability weight, DW*), een relatief gewicht dat door experts toegekend is aan talrijke ziekten en aangeeft in welke mate de ziekte de levenskwaliteit aantast. Ze kan variëren van nul (volledige gezondheidstoestand) tot één (sterfte) en wordt verhoogd voor patiënten die geen geschikte behandeling krijgen. Deze morbiditeitsfactor is onontbeerlijk om *YLD* rechtstreeks te kunnen vergelijken met *YLL*.

$$YLD = I \times D \times DW$$

Aangezien er in Nepal weinig gegevens beschikbaar zijn over de incidentie van epilepsie ten gevolge van NCC (*I*), werd in deze studie de incidentie geschat uit de prevalentie van epilepsie (*P*), de proportie van epilepsie ten gevolge van NCC (*Pr*) en de gemiddelde duur (*D*) van epilepsie.

$$I = (P \times Pr) / D$$

YLL wordt bepaald door voor elke leeftijdscategorie *i* het product te maken van de jaarlijkse epilepsiegerelateerde mortaliteit (*M*) met de standaardlevensverwachting (*L*) op die leeftijd. Om ziekten in alle landen te kunnen vergelijken op eenzelfde basis, baseert men zich niet op de lokale levensverwachting, maar wel op de standaardlevensverwachting zoals voorgesteld door de ontwikkelaars van de DALY-methode (Murray, 1994). Zo kan worden vermeden dat een ziekte in een land met een lage levensverwachting minder belangrijk geacht zou worden dan in een land met een gemiddelde langere levensduur. De referentietabel is gebaseerd op de hoogst waargenomen nationale levensverwachting, die voor Japanse vrouwen, maar maakt wel een onderscheid tussen mannen en vrouwen.

$$YLL = M \times L$$

Ten slotte worden deze formules nog uitgebreid door een verminderingratio van drie procent en variabele leeftijdsgewichten in te voeren. De verminderingratio is een aanpassing die weerspiegelt dat een levensjaar nu niet dezelfde waarde heeft als een levensjaar in de toekomst. De leeftijdsgewichten geven de variërende sociale waarden weer over de leeftijden heen, waarbij wordt aangenomen dat jongvolwassenen en volwassenen een belangrijkere sociale rol vervullen dan baby's, kinderen en ouderen (Murray, 1994).

1.2.2. Gegevensbronnen

Voor de verdeling van de leeftijden en de geslachten werd gebruik gemaakt van de recentste demografische studie die is uitgevoerd in Nepal (*Nepal Demographic and Health Survey 2006* [MoHP et al., 2007]). De DALY-parameters (morbiditeitsgewichten, leeftijdsgewichten en verminderingratio) en de duur van de aandoening per leeftijdscategorie werden overgenomen uit de basisstudie van Murray en Lopez (1996). Voor de epidemiologische parameters werden overheidsgegevens en nationale en internationale literatuur geraadpleegd en opinies van deskundigen verzameld. Deze informatie werd verder aangevuld met twee eigen studies: een veldstudie en een ziekenhuisstudie.

1.2.2.1. Prevalentie van epilepsie en behandelingskloof

Deze veldstudie maakt deel uit van het tweede hoofdstuk van deze masterproef en zal daar in detail beschreven worden. Kort samengevat werden in Sunsari en Morang, twee districten uit de oostelijke Terai van Nepal, via een huis-aan-huisonderzoek van juli tot oktober 2009 personen met actieve epilepsie opgespoord aan de hand van de negen vragen voorgesteld door Placencia et al. (1992). Deze vragenlijst zou een gevoeligheid hebben van 98% en een specificiteit van 92%. Aan geïdentificeerde epilepsiepatiënten werd gevraagd welke behandeling ze op dat moment kregen, om zo de behandelingskloof of *treatment gap*, het percentage patiënten dat geen geschikte behandeling krijgt, te kunnen bepalen.

1.2.2.2. Proportie van NCC-gerelateerde epilepsie

Dit deel van de studie zal in detail besproken worden in het derde hoofdstuk van deze masterproef. Van maart 2008 tot mei 2009 werd bij patiënten met actieve epilepsie die zich aandienden in het *B.P. Koirala Institute of Health Sciences* (BPKIHS), Dharan, Sunsari district, een serologisch bewijs gezocht van NCC. In het serum van de patiënten werden circulerende cysticercusantigenen opgespoord aan de hand van een *enzyme-linked immunosorbent assay* (Ag-ELISA; Dorny et al., 2004) en werden *T. solium*-specifieke antistoffen gedetecteerd via een *enzyme-linked immunotransfer blot* (EITB; Tsang et al., 1989). Alle patiënten met een positieve antigeentest en wegens de kans op overgankelijke antistoffen slechts 60 procent van de patiënten bij wie enkel de antistofdetectie positief was, werden beschouwd als NCC-positief (Zoli et al., 2003; Praet et al., 2009).

1.2.3. Gegevensbeheer en -verwerking

De berekening van de DALY's gebeurde aan de hand van de sjabloon (Microsoft® Excel 2002), die door de Wereldgezondheidsorganisatie ter beschikking wordt gesteld¹.

Om de betrouwbaarheid van het eindresultaat te kunnen garanderen, vereist de DALY-methode een hoge kwaliteit van de verschillende inputparameters. In de praktijk, en zeker in ontwikkelingslanden, is dit echter niet altijd het geval (Quet et al., 2008). De basisgegevens komen namelijk tot stand via steekproeven van de populatie waarop bepaalde diagnostische tests met imperfecte gevoeligheid en specificiteit uitgevoerd worden. De variabiliteit die hierdoor ontstaat, kan in rekening worden gebracht door een betrouwbaarheidsinterval te berekenen gebaseerd op de verdeling van elke gegevensbron (bijvoorbeeld door Monte Carlo-simulaties; Praet et al., 2009). Anderzijds zal het eindresultaat ook bepaald worden door de veronderstellingen die gemaakt worden in het basismodel. Een onzekerheidsanalyse aan de hand van alternatieve scenario's kan een schatting mogelijk maken van de onzekerheid die op deze manier in het eindresultaat terechtkomt (Havelaar et al., 2002). Wegens de technische complexiteit van de stochastische berekeningen in deze studie werd besloten om de graad van onzekerheid enkel te schatten aan de hand van een onzekerheidsanalyse.

1.2.4. Ethisch protocol

De ziekenhuisstudie werd goedgekeurd door de interne ethische commissie van het BPKIHS (*Institute Protocol Committee*). Voorafgaand aan deze studie werden alle patiënten en de betrokken diensthoofden om hun geïnformeerde toestemming gevraagd. De deelnemers aan de veldstudie kregen een gratis algemeen gezondheidsonderzoek en een coprologisch routineonderzoek aangeboden tijdens een lokaal georganiseerd gezondheidscamp.

1.3. Resultaten

1.3.1. Gebruikte gegevens

Tijdens de veldstudie werd informatie verzameld van 1.442 individuen. Hiervan bleken er 37 (2,57%) in het afgelopen jaar epilepsiesymptomen vertoond te hebben. Slechts twee personen namen op het moment van de ondervraging klassieke anti-epileptische medicijnen, waardoor de behandelingskloof bijna 95% bedroeg.

In de ziekenhuisstudie werd van 93 epilepsiepatiënten serum onderzocht op de aanwezigheid van *T. solium*-specifieke antigenen en antistoffen. Hiervan waren er 19 antigeenpositief (20,4%) en 6 antigeennegatief maar antistofpositief (6,5%). De proportie epilepsiegevallen ten gevolge van NCC werd bijgevolg berekend op 24,3%. Opmerkelijk was dat het grootste deel van de patiënten behoorde

¹ <http://www.who.int/entity/healthinfo/bodreferencedalycalculationtemplate.xls>

tot de sociaaleconomisch best ontwikkelde kasten (de hogere hindoekasten, de heuvel-Janajati en de Newari), terwijl de achtergestelde kasten (de lagere hindoes, de Terai-Janajati en de moslims) relatief ondervertegenwoordigd waren.

De demografische en epidemiologische basisgegevens die gebruikt werden voor de DALY-berekening zijn weergegeven in tabel 1.1, 1.2 en 1.3. Voor de drie meest variabele parameters (prevalentie van epilepsie, proportie van epilepsie ten gevolge van NCC en epilepsiegerelateerde mortaliteit; respectievelijk A, B en C) werden telkens drie scenario's voorgesteld, waarbij het tweede scenario als meest waarschijnlijke werd beschouwd.

Tabel 1.1. Leeftijds- en geslachtsverdeling van de Nepalese populatie, gebaseerd op de recentste demografische studie (MoHP et al., 2007) en toegepast op de populatieprojectie voor 2009 (UN, 2009).

Leeftijdscategorie (jaar)	Populatie		
	Mannelijk	Vrouwelijk	Totaal
0-4	1.971.680	1.868.473	3.840.152
5-14	4.081.239	3.970.505	8.051.744
15-29	3.143.657	4.453.194	7.596.851
30-44	2.068.195	2.615.862	4.684.057
45-59	1.406.373	1.634.914	3.041.287
≥60	1.089.250	1.027.660	2.116.910
Totaal	13.760.393	15.570.607	29.331.000

Tabel 1.2. DALY-parameters voor epilepsie (Murray en Lopez, 1996).

Parameter		Leeftijdscategorie (jaar)	Waarde
Morbiditeitsgewicht van epilepsie	Zonder effectieve behandeling	0-4	0,099
		≥ 5	0,150
	Met effectieve behandeling	0-4	0,041
		≥ 5	0,065
Gemiddelde duur van de aandoening	Voor mannen	0-4	1,4
		5-14	2,0
		15-44	3,6
		45-59	2,8
	Voor vrouwen	≥ 60	1,6
		0-4	1,6
		5-14	3,1
		15-44	5,9
		45-59	6,0
		≥ 60	2,8

Tabel 1.3. Epidemiologische parameters voor de DALY-berekening voor epilepsie ten gevolge van NCC in Nepal. De onzekerheid in de basisgegevens wordt weergegeven door de drie scenario's.

Parameter	Scenario	Waarde	Referentie
Prevalentie van epilepsie (A)	1	0,73%	Rajbhandari, 2003
	2	1,65%	<i>Eigen schatting</i>
	3	2,57%	<i>Eigen onderzoek</i>
Proportie NCC-gerelateerde epilepsie (B)	1	13,4%	Piryani et al., 2007
	2	24,3%	<i>Eigen onderzoek</i>
	3	43,7%	Sharma, 2006
Mortaliteit ten gevolge van epilepsie (C)	1	0,81%	DoHS, 2004
	2	1,80%	DoHS, 2006
	3	2,26%	DoHS, 2008
Behandelingskloof	1,2,3	80%	<i>Eigen schatting</i>

Er zijn uiteenlopende cijfers beschikbaar over de prevalentie van epilepsie in Nepal. Ziekenhuisgegevens geven een zeer laag voorkomen aan ($\leq 0,1\%$; Rajbhandari, 2003; DoHS, 2008), maar werden niet in aanmerking genomen, aangezien ze niet representatief zijn voor de gehele populatie. Rajbhandari (2003) beschrijft een huis-aan-huisstudie uitgevoerd in het Morang district, waarbij 37 van de 4.636 ondervraagde personen (0,73%) bleken te lijden aan gegeneraliseerde aanvallen. Aangezien andere vormen van epilepsie niet in aanmerking werden genomen, wordt in deze studie waarschijnlijk de werkelijke prevalentie onderschat en werd ze bijgevolg als onderste grens voor deze parameter gebruikt. In onze studie werd een prevalentie gevonden van 2,57% (37/1.442). De gebruikte vragenlijst had echter een gevoeligheid van 98% en een specificiteit van 92% (Placencia et al., 1992), waardoor dit resultaat waarschijnlijk een aantal vals positieven omvat. Aangezien de werkelijke prevalentie vermoedelijk tussen beide waarden in ligt, werd het gemiddelde ervan als uitgangsscenario genomen.

De proportie epilepsiegevallen ten gevolge van NCC varieert volgens verschillende retrospectieve studies van ongeveer 10 tot ruim 40% (Piryani et al., 2007; Sharma, 2006). Onze studie vormt hierbij een mediane waarde, waardoor dit resultaat als basisscenario werd beschouwd. De gegevens over de epilepsiegerelateerde mortaliteit zijn afkomstig van de jaarverslagen van het Nepalese ministerie van Gezondheid en Bevolking. De minimale, mediane en maximale waarde van de acht recentste publicaties (2001-2008) werden in deze studie respectievelijk gebruikt als scenario 1, 2 en 3.

De behandelingskloof, ten slotte, werd vastgelegd op 80%. Er valt namelijk te verwachten dat individuen in stedelijke gebieden gemakkelijker toegang hebben tot adequate gezondheidszorg, waardoor resultaten afkomstig uit meer rurale gebieden (zoals onze veldstudie) de eigenlijke behandelingskloof overschatten (Meinardi et al., 2001).

1.3.2. Disability-adjusted life years

De resultaten van de DALY-berekening zijn weergegeven in tabel 1.4, 1.5 en 1.6. Volgens het meest waarschijnlijke scenario zouden er per jaar in Nepal 79.996 gezonde levensjaren verloren gaan door *T. solium* cysticercose (2,73 per 1.000 inwoners). Dit wordt voor nagenoeg 80% veroorzaakt door de impact van voortijdige mortaliteit. De ziektelast is nagenoeg dezelfde voor mannen en vrouwen en is het grootst in de leeftijdsgroep van 5 tot 14 jaar. Opmerkelijk is dat onbehandelde patiënten bijna negen keer zoveel bijdragen tot de verminderde gezondheidstoestand als behandelde patiënten.

De uiterste waarden die berekend werden aan de hand van de alternatieve scenario's variëren van 11.004 tot 269.489 DALY's per jaar of 0,38 tot 9,19 per 1.000 inwoners. De één-wegsonzekerheidsanalyse toont aan dat de proportie van NCC-gerelateerde epilepsie en de prevalentie van epilepsie in belangrijke en ongeveer dezelfde mate bijdragen tot de onzekerheid in het eindresultaat.

Tabel 1.4. YLD's, YLL's en DALY's per 1.000 inwoners voor *T. solium* cysticercose in Nepal, per leeftijdscategorie en geslacht, berekend volgens het meest waarschijnlijke scenario (ABC)2.

Leeftijdscategorie (jaar)	YLD's			YLL's			DALY's		
	Man	Vrouw	Totaal	Man	Vrouw	Totaal	Man	Vrouw	Totaal
0-4	0,16	0,16	0,16	2,55	2,55	2,55	2,70	2,72	2,71
5-14	0,61	0,61	0,61	2,69	2,70	2,69	3,30	3,31	3,30
15-29	0,77	0,74	0,75	2,46	2,47	2,46	3,23	3,21	3,22
30-44	0,68	0,65	0,66	1,81	1,84	1,83	2,50	2,49	2,49
45-59	0,53	0,49	0,51	1,17	1,20	1,19	1,69	1,69	1,69
≥ 60	0,32	0,30	0,31	0,48	0,53	0,50	0,79	0,83	0,81
Totaal	0,56	0,57	0,56	2,15	2,17	2,16	2,71	2,74	2,73

Tabel 1.5. Onzekerheidsanalyse van de YLD's, YLL's en DALY's (per 1.000 inwoners) berekend voor *T. solium* cysticercose in Nepal. De onzekerheid van elke parameter is weergegeven door drie scenario's, waarbij scenario (ABC)2 het meest waarschijnlijke is en de resultaten van scenario (ABC)1 en (ABC)3 de uiterste waarden vormen van de DALY-onzekerheidsanalyse.

Scenario	YLD's			YLL's (% DALY's)	DALY's
	Behandeld (% YLD's)	Onbehandeld (% YLD's)	Totaal (% DALY's)		
(ABC)1	0,07 (9,8)	0,16 (90,2)	0,14 (36,7)	0,24 (63,3)	0,38
(ABC)2	0,28 (9,8)	0,64 (90,2)	0,56 (20,7)	2,16 (79,3)	2,73
(ABC)3	0,78 (9,8)	1,78 (90,2)	1,58 (17,2)	7,61 (82,8)	9,19

Tabel 1.6. Eén-wegsonzekerheidsanalyse van YLD's, YLL's en DALY's berekend voor *T. solium* cysticercose in Nepal (per 1.000 inwoners). Elk van de drie meest variabele parameters wordt gevarieerd volgens drie scenario's terwijl de twee andere parameters constant blijven.

Parameter	Waarde	Scenario	YLD's	YLL's	DALY's
Prevalentie van epilepsie	0,73%	A1B2C2	0,25	0,96	1,21
	1,65%	A2B2C2	0,56	2,16	2,73
	2,57%	A3B2C2	0,88	3,37	4,25
Proportie NCC-gerelateerde epilepsie	13,4%	A2B1C2	0,31	1,09	1,50
	24,3%	A2B2C2	0,56	2,16	2,73
	43,7%	A2B3C2	1,02	3,89	4,90
Mortaliteit ten gevolge van epilepsie	0,81%	A2B2C1	0,56	0,97	1,54
	1,80%	A2B2C2	0,56	2,16	2,73
	2,26%	A2B2C3	0,56	2,72	3,28

1.4. Discussie

T. solium, de varkenslintworm, is een zoönotische parasiet die vandaag de dag nog steeds endemisch is in tal van onderontwikkelde landen en regio's. Het belang ervan wordt vaak echter onderschat, wat grotendeels te wijten is aan de onvolledige en verspreide informatie over de gezondheidsimpact ervan (Praet et al., 2009). Het "global burden of disease (GBD)"-project, waarin alle beschikbare gegevens over morbiditeit en mortaliteit worden samengevat in één indicator en uitgedrukt in *disability-adjusted life years* of DALY's, kan dan ook een belangrijke rol spelen bij het onder de aandacht brengen van deze verwaarloosde tropische ziekte (Mathers et al., 2007). Hoewel *T. solium* cysticercose voorlopig nog geen deel uitmaakt van dit project, wordt de impact ervan wel duidelijk via nationale DALY-berekeningen (Praet et al., 2009). In deze studie werd voor het eerst een DALY-berekening gemaakt voor *T. solium* cysticercose in Nepal. Hiervoor werden de beschikbare gegevens aangevuld met gegevens uit eigen onderzoek.

De resultaten van deze studie tonen aan dat er in Nepal jaarlijks 79.996 gezonde levensjaren verloren gaan door NCC-gerelateerde epilepsie (2,73 per 1.000 inwoners). *T. solium* cysticercose zou daardoor verantwoordelijk zijn voor bijna één procent van de totale geschatte ziektelast in Nepal en zou de tweede belangrijkste aandoening zijn binnen de groep van verwaarloosde tropische ziekten, op lymfatische filariase na (WHO, 2009). Opmerkelijk is dat het in deze studie verkregen resultaat hoger ligt dan de schatting die de Wereldgezondheidsorganisatie maakt voor alle oorzaken van epilepsie samen (1,42 DALY's per 1.000 inwoners per jaar; WHO, 2009). Soortgelijke discrepanties werden ook beschreven in andere studies (Ding et al., 2006; Praet et al., 2009) en kunnen waarschijnlijk worden toegeschreven aan een onderschatting van de incidentie van epilepsie door de GBD-studie.

Aangezien in de DALY-filosofie alle patiënten als evenwaardig worden beschouwd, maakt deze methode het mogelijk om de impact van ziekten te vergelijken over de landsgrenzen heen. In West-Kameroen zou *T. solium* cysticercose verantwoordelijk zijn voor 9,0 DALY's per 1.000 personen per

jaar (Praet et al., 2009). De ruim driemaal grotere gezondheidsimpact van de varkenslintworm in deze regio is onder andere het gevolg van de hogere incidentie van NCC-gerelateerde epilepsie, wat een weerspiegeling is van de belangrijker maar relatief minder ontwikkelde varkenshouderij in dat land. Daarnaast is ook de mortaliteit onder epilepsiepatiënten hoger in Kameroen dan in Nepal (2,5% versus 1,8%). Dit verschil wordt algemeen vastgesteld in sub-Saharisch Afrika en zou verklaard kunnen worden door de hogere frequentie van bepaalde infectieuze oorzaken van epilepsie, zoals malaria en onchocercose (Ngoungou en Preux, 2008; Pion et al., 2009).

De epilepsiegerelateerde mortaliteit blijkt zowel in onze studie als in die van Praet en collega's (2009) de belangrijkste bron van DALY's te zijn. Sterfte onder epilepsiepatiënten kan zowel het gevolg zijn van de onderliggende oorzaak van hun aandoening (zoals een hersentumor, cerebrovasculaire ziekte of congenitale afwijking) als van de epilepsieaanvallen zelf (zoals door status epilepticus, een ongeluk tijdens een aanval of een plotse onverwachte dood). Bij gebrek aan specifieke gegevens werd in beide studies de aan NCC-gerelateerde epilepsie te wijten mortaliteit gelijkgesteld aan de gemiddelde epilepsiegerelateerde mortaliteit. Neurocysticercosepatiënten met één of enkele cerebrale cysticercen en uitsluitend epilepsiesymptomen lijken echter een relatief laag sterfterisico te vertonen (DeGiorgio et al., 2002), waardoor het werkelijke aantal YLL's voor NCC-gerelateerde epilepsie vermoedelijk lager ligt dan in deze studies werd berekend. Naarmate meer longitudinale veldstudies uitgevoerd zullen worden, zullen meer specifieke gegevens beschikbaar worden om een betrouwbaardere YLL-schatting mogelijk te maken.

Voor de kwantificatie van de ziektelast van *T. solium* cysticercose in Nepal werden enkel de DALY's berekend voor epilepsie ten gevolge van NCC. Hoewel dit het courantste en meest bestudeerde symptoom is van humane cysticercose, dragen ook andere aandoeningen bij tot de gezondheidsimpact van *T. solium*. Neurocysticercose wordt namelijk ook geassocieerd met chronische hoofdpijn, psychische problemen en oculaire en spinale stoornissen. Verder worden bepaalde zeldzame vormen van NCC (met een hoog aantal cysticercen of specifieke lokalisaties ervan) geassocieerd met hoge sterfte. Zo bleek uit een retrospectieve studie dat slechts 5,4% van de NCC-gerelateerde mortaliteit in Amerika te wijten was aan epilepsie. De belangrijker oorzaken waren obstructieve hydrocefalus, cerebraal oedeem en cerebrale compressie (Sorvillo et al., 2007). Tot slot kunnen cysticercen zich ook ontwikkelen buiten het centrale zenuwstelsel en in zeldzame gevallen een bron zijn van myocarditis. Hoewel deze aandoeningen minder frequent zouden voorkomen dan epilepsie, dient er toch rekening mee te worden gehouden om de volledige ziektelast van *T. solium* cysticercose te kunnen bepalen.

Hoewel de DALY's door de bedenkers worden gepromoot als een basis voor het schatten van de globale ziektelast en voor het toekennen van financiële middelen, is de gebruikte methodologie toch nog aan enige discussie onderhevig. Het gebruik van variabele leeftijdsgewichten en een verminderingsratio werd uitgebreid bediscussieerd door andere auteurs (Anand en Hanson, 1997). In onze studie werden voor deze parameters dezelfde waarden gebruikt als in de studie van Praet et al.

(2009), om zo de vergelijkbaarheid van beide studies te bevorderen. Om de periode van verminderde gezondheidstoestand te kunnen omrekenen naar volledig verloren levensjaren, maakt de DALY-methode gebruik van morbiditeitsgewichten. Deze zijn een maat voor de verminderde levenskwaliteit ten gevolge van functionele beperkingen. Ze houden bijgevolg geen rekening met het algemene welzijn van de patiënt en met de sociale en financiële last die hij ondervindt. Deze factoren spelen echter een belangrijke rol bij epilepsie. In Nepal wordt epilepsie nog vaak beschouwd als een bovennatuurlijke ziekte, waarbij verondersteld wordt dat de patiënt bezeten is door boze geesten (Satischandra et al., 2001). De sociale stigmatisering die dit met zich meebrengt, kan het algemene welzijn van de patiënt sterk schaden, wat zich onder andere kan uiten in een verminderd zelfbeeld en sociale isolatie. Naast dit sociale lijden leiden de terugkerende aanvallen ook vaak tot het stopzetten van de studie of de loopbaan, waardoor de patiënt in een vicieuze cirkel van armoede kan terechtkomen. Aangezien de huidige morbiditeitsgewichten deze factoren verwaarlozen, zijn ze dan ook aan een kritische herziening toe vooraleer de DALY's effectief het doel kunnen dienen dat de bedenkers hadden vooropgesteld.

De YLD's, YLL's en DALY's werden in deze studie op een deterministische wijze berekend. De inherente variabiliteit van de basisgegevens zorgt er echter voor dat deze variabelen een stochastisch karakter hebben. Hoewel het dus correcter was geweest een betrouwbaarheidsinterval te bepalen rond het eindresultaat, viel dit buiten het bereik van deze preliminaire studie. Door te werken met drie verschillende scenario's voor de meest variabele parameters, kon echter wel een zekere schatting worden gemaakt van de onzekerheid van het eindresultaat. Volgens de twee meest extreme scenario's zouden de DALY's gemiddeld variëren van 0,38 tot 9,19 per 1.000 inwoners per jaar. Deze uitersten weerspiegelen de variabiliteit in beschikbare basisgegevens. De berekende DALY's moeten dan ook worden beschouwd als een momentopname, die zal wijzigen naarmate er meer betrouwbare gegevens beschikbaar zullen worden.

Het uitvoeren van een DALY-berekening zet de onderzoeker ertoe aan om een grondige evaluatie te maken van de gegevens die beschikbaar zijn en van de waarde ervan. Tijdens onze studie kon worden vastgesteld dat er in Nepal nog maar weinig onderzoek is verricht naar de epidemiologie van NCC en epilepsie. Tot dusver is er voor de prevalentie van epilepsie nog maar één veldstudie beschreven, terwijl veldgegevens over de mortaliteit ten gevolge van epilepsie nog volledig ontbreken. De discussie van onze veldstudie zal gevoerd worden in hoofdstuk twee, terwijl de bespreking van de gebruikte mortaliteitsgegevens in een hogere paragraaf plaatsvond. De proportie van NCC-gerelateerde epilepsiegevallen werd onderzocht in een beperkt aantal studies, waarbij enkel CT of MRI werden gebruikt om de diagnose van NCC te stellen. Hierbij was het echter niet altijd duidelijk of elke patiënt die zich aandiende met epilepsie een scan onderging, waardoor *selection bias* niet uitgesloten kon worden. Bovendien betekent de visualisatie van een of meerdere cysticercen in de hersenen niet noodzakelijk dat deze ook de bron zijn van de epilepsie. Een elektro-encefalogram kan de oorsprong van de geleidingsstoornis lokaliseren en zo een correlatie mogelijk maken met de lokalisatie van de cysticerc. Tot slot hangt de interpretatie van het beeldvormingsresultaat ook af van

de ervaring van de radioloog, aangezien tuberculoma's en bepaalde tumoren cysticercen kunnen imiteren. In onze studie werden voor het eerst serologische technieken gebruikt om de proportie van NCC-gerelateerde epilepsie te bepalen. Hierbij werd hetzelfde protocol toegepast als dat wat werd beschreven in de studie van Praet et al. (2009), om zo beide resultaten beter te kunnen vergelijken. De interpretatie van deze serologische gegevens zal echter kritisch bediscussieerd worden in het laatste hoofdstuk van deze masterproef. Ten slotte kan nog opgemerkt worden dat elk van deze ziekenhuisstudies een belangrijke *selection bias* met zich meedraagt. Zoals in onze studie is aangetoond, zijn het namelijk vooral de meer ontwikkelde bevolkingsgroepen die bijdragen tot deze resultaten. Aangezien NCC een armoedegebonden aandoening is, kan echter worden vermoed dat de proportie NCC-gerelateerde epilepsie hoger zal zijn in armere bevolkingsgroepen, die minder toegang hebben tot ziekenhuiszorg en geavanceerde diagnostische tests.

1.5. Conclusies en aanbevelingen

Gebaseerd op de beschikbare en eigen gegevens werd berekend dat er in Nepal per jaar en per 1.000 inwoners 2,73 gezonde levensjaren verloren gaan door *T. solium* cysticercose. De geassocieerde mortaliteit bleek hier de belangrijkste oorzaak van te zijn. Aan de hand van twee alternatieve scenario's varieerde dit resultaat van 0,38 tot 9,19 DALY's per 1.000 inwoners.

Aangezien *T. solium* cysticercose een van de belangrijkste zogenaamde verwaarloosde tropische ziekten blijkt te zijn in Nepal, verdient het sterke aanbeveling meer aandacht te besteden aan deze zoönotische aandoening. Gericht epidemiologisch onderzoek met de toepassing van geavanceerde statistische technieken is nodig om betrouwbaardere basisgegevens te genereren, zodat op termijn een betere schatting van de gezondheidsimpact mogelijk wordt. De DALY-methode kan hierbij een belangrijke rol spelen, maar dient verder verfijnd te worden zodat alle aspecten van de gezondheidsimpact in rekening kunnen worden gebracht. Door deze methode in verschillende landen toe te passen, kan op termijn een globaal beeld ontstaan van de ziektelast van de varkenslintworm, zodat deze tropische ziekte uiteindelijk niet langer verwaarloosd dient te worden.

HOOFDSTUK TWEE

De invloed van het Nepalese kastenstelsel op de transmissie van *Taenia solium*

2.1. Inleiding

De typische levenscyclus van *Taenia solium* omhelst bepaalde voorwaarden die sterk gelinkt zijn aan armoede en onderontwikkeling. Varkens moeten vrij kunnen rondlopen en de mogelijkheid hebben feces van lintwormdragers op te eten. Geïnfecteerde varkens moeten vervolgens worden geslacht zonder keuring en controle, waardoor vlees met cysticercen vrij verkocht kan worden (Flisser et al., 2006). Een laatste belangrijke factor is de consumptie van rauw of onvoldoende gekookt varkensvlees door de toekomstige eindgastheer, een factor die hoofdzakelijk verband houdt met culturele voorkeuren (Neghina et al., 2009), hoewel onder bepaalde omstandigheden ook armoede hierbij een bepalende rol kan spelen (Anna Oommen, persoonlijke mededeling).

De transmissie van de varkenslintworm zou volgens een recente studie ook worden beïnvloed door competitie met andere *Taenia*-lintwormen (Conlan et al., 2009). Bij de eindgastheer bestaat namelijk een ruimteafhankelijk verdringingseffect waardoor gelijktijdig aanwezige lintwormen relatief minder ontwikkeld zijn en minder eieren produceren. Ook zou de aanwezigheid van een bepaald species de verdere ontwikkeling van cysticercen van andere species limiteren. In Azië is de mens eindgastheer van drie *Taenia*-species: *T. solium*, *Taenia saginata* of de runderlintworm en *Taenia asiatica* (Ito et al., 2003). De runderlintworm is aanwezig in Nepal (Nkouawa et al., 2009) en heeft er de buffel als voornaamste tussengastheer, aangezien de meeste Nepalezen hindoe zijn en dus geen rundvlees consumeren. *T. asiatica* wordt voornamelijk overgedragen via de consumptie van rauwe varkenslever, maar werd tot dusver nog nooit beschreven in Nepal (Eom et al., 2009). Bij de tussengastheer zou de competitie eerder gebaseerd zijn op een immunologische reactie tegen kruisreagerende epitopen van andere *Taenia*-species, zoals is aangetoond bij het schaap (Conlan et al., 2009). Varkens kunnen in Azië drager zijn van de larvale stadia van *T. solium*, *T. asiatica* en *Taenia hydatigena*.

In Nepal heeft het kastenstelsel gezorgd voor een sociale en economische ongelijkheid tussen de verschillende bevolkingsgroepen (Pandey, 2005). Hoewel iedereen wettelijk gezien gelijkwaardig is, blijken de lagere kasten toch maar moeilijk uit de vicieuze cirkel van armoede, discriminatie, laaggeschooldheid en werkloosheid te geraken. Het zijn dan ook vooral deze mensen die een gebrek aan elementaire voorzieningen, zoals toiletten, vertonen. Daarnaast heeft het kastenstelsel ook een invloed op de relatie met varkens. Binnen het hindoesysteem zijn dit voor de hogere kasten onaanraakbare dieren en mogen ze dus enkel gehouden en gegeten worden door de onaanraakbare kaste, de Dalit. Zo is bekend dat de Dum de traditionele hoeders zijn van de Hurra-varkens, een primitief ras dat autochtoon is in de Terai-regio van Nepal en het noorden van India (Dhaubhadel en Ghimire, 2002). Net als de hogere hindoe kasten beschouwen ook de Newari varkens als onrein. Deze beperkingen zijn echter niet strikt, en vooral bij de meer gegoede families wordt varkensvlees, en vlees van wilde varkens in het bijzonder, tegenwoordig beschouwd als een luxe. Voor de meeste

Janajati zijn varkens wel aanvaardbaar, en moeten ze zelfs worden gebruikt als offer aan hun goden (Abington, 1992; Sapkota, 2008). De wijze waarop het varkensvlees wordt gegeten, kan ook verschillen tussen de kasten onderling, maar hierover is voor Nepal geen informatie beschikbaar. Naast culturele gewoonten hangt de frequentie van consumptie ook af van persoonlijke voorkeur, beschikbaarheid en financiële middelen. Die laatste factor varieert echter voor een deel ook naargelang de kaste waartoe men behoort.

Aangezien de risicofactoren voor transmissie duidelijk verschillen naar gelang van de kaste, kan worden verwacht dat ook de prevalentie van taeniose en cysticercose zal verschillen naar gelang van de kaste, net als het relatieve voorkomen van de verschillende *Taenia*-species. In een beperkt aantal studies werd ook effectief aangetoond dat het aantal lintwormdragers in bepaalde bevolkingsgroepen bijzonder hoog was (tabel 2.1). Deze onderzoekers beschreven echter niet waarom de bestudeerde bevolkingsgroepen een dergelijke hoge prevalentie vertoonden, noch werd nagegaan welke *Taenia*-species voorkwamen. Ook is nog nooit bestudeerd of dergelijke groepen een verhoogde prevalentie van cysticercose en NCC-gerelateerde symptomen vertoonden en of de door hen gehouden varkens een hogere infectiegraad vertoonden.

Tabel 2.1. Prevalentie van taeniose bij verschillende bevolkingsgroepen in Nepal.

Bevolkingsgroep	Kastengroep	Locatie	Prevalentie	Referentie
Magar	Heuvel-Janajati	Tindobate (Syangja district)	50,00% (61/122)	Gaihre, 2000
Sarki	Dalit	Tindobate (Syangja district)	27,59% (16/58)	Gaihre, 2000
Bote	Dalit	Vyash (Tanahun district)	30,65% (19/62)	Thapa, 2000
Darai	Dalit	Vyash (Tanahun district)	10,00% (9/90)	Thapa, 2000
Magar	Heuvel-Janajati	Barangdi (Palpa district)	8,28% (13/157)	Karki, 2003

In dit deel van de studie werd dan ook geprobeerd om na te gaan in welke mate de risicofactoren voor transmissie verschillen tussen de verschillende kasten en wat de gevolgen hiervan zijn, zowel voor het aantal lintwormdragers als het aantal epilepsiepatiënten. De identificatie van bevolkingsgroepen *at risk* kan ons meer inzicht verschaffen in de epidemiologie van de varkenslintworm in Nepal en bijgevolg een belangrijk hulpmiddel zijn bij de controle ervan.

2.2. Materialen en methoden

2.2.1. Studielocatie en geselecteerde populatie

De studie vond plaats van juli tot oktober 2009 in de oostelijke Terai van Nepal, aangezien dit een dichtbevolkt gebied is waar relatief veel varkens worden gehouden (bijlage II). Hier werden in twee districten vier locaties uitgekozen op basis van de aanwezige bevolkingsgroepen en bereikbaarheid. In het Morang district werd Mrigauliya geselecteerd, in het Sunsari district Itahari, Duhabi en Biratnagar (bijlage III).

Mrigauliya is een rurale gemeente die opgedeeld is in negen wijken en volgens de laatste census 12.913 inwoners zou tellen (CBS, 2001). Alle 289 gezinnen binnen wijk drie (1.309 personen) werden opgenomen in de studie. Deze families behoren tot de verschillende hindoekasten en de Janajati. De meeste inwoners van dit gebied zijn economisch actief als landbouwer en varkens worden er voornamelijk gehouden door de Janajati en de lagere hindoekasten. Om sociale en religieuze redenen zijn vooral de lokale zwarte rassen populair (Abington, 1992).

In Itahari, Duhabi en Biratnagar, drie relatief grote steden, werden plaatsen geselecteerd waar de zogenaamde Dum-kaste woont (bijlage III). Deze bevolkingsgroep vormt de allerlaagste kaste in Nepal en wegens de pejoratieve bijklank van hun oorspronkelijke naam noemen ze zich tegenwoordig *Malik* of *Marik*. De meesten van hen zijn landloos en wonen op gronden die hun door de overheid ter beschikking zijn gesteld, vaak langs rivieren of meren. Ze wonen bijna uitsluitend in de Terai (bijlage II) en men vindt ze voornamelijk terug in en rond grote steden, waar ze individueel of in kleine gemeenschappen samenleven (Cox, 1994). De belangrijkste economische activiteit van deze bevolkingsgroep is het maken van allerlei manden uit bamboe. Daarnaast werken velen ook als straatveger of slager in loondienst. Hierdoor verdienen ze relatief meer geld dan de andere Dalit-kasten en kunnen ze zich vaker vlees en alcohol veroorloven. Van de Dum is ook bekend dat ze Hurra-varkens hoeden, en dit op een extensieve manier, waarbij de dieren overdag vrij rondlopen of gehoed worden langs wegen en rivieren (Dhaubhadel en Ghimire, 2002). Een deel van deze varkens wordt vervolgens overgebracht naar Kathmandu, waar ze verkocht worden als wilde varkens ("*bādel*"), hetgeen de waarde ervan bijna verdrievoudigt.

2.2.2. Bevraging van de populatie

Elke studieplaats werd in kaart gebracht en het aantal huishoudens werd bepaald. Vervolgens werd de verantwoordelijke van elk gezin ondervraagd na het ondertekenen van een geïnformeerde toestemming (bijlage IV). In een vragenlijst werden leeftijd, geslacht en scholingsgraad van alle gezinsleden genoteerd en werd gepeild naar eetgewoonten, toiletgebruik, varkenshouderij en kennis van taeniose en porciene cysticercose. Gezinsleden die lintwormsegmenten uitscheidde, werden geïdentificeerd via zelfdiagnose en het herkennen van de worm op foto's. Personen met epilepsiesymptomen werden opgespoord aan de hand van de negen vragen voorgesteld door Placencia en collega's (1992). Deze vragen zouden een sensitiviteit hebben van 98% en een specificiteit van 92%. Bij zowel lintwormdragers als epilepsiepatiënten werd ten slotte gepeild naar activiteit, moment van optreden en eventuele behandeling van hun aandoening.

Naast deze gestructureerde vragenlijst werden ook informele gesprekken gevoerd om sociale, culturele en religieuze factoren te ontdekken die de transmissie van *T. solium* kunnen beïnvloeden.

2.2.3. Verzameling van lintwormen en speciesidentificatie

Personen die beweerden lintwormdrager te zijn, werden behandeld met Niclosamide (Nikta®, 2g) en een purgeermiddel (Bisacodyl, Dulcolax®, 10mg) en werden gevraagd de volledige stoelgang te verzamelen na het uitdrijven van de lintworm. Aanwezige lintwormen en segmenten werden geïsoleerd uit de stoelgang en bewaard op pure ethanol. Het verzamelde materiaal werd in het Instituut voor Tropische Geneeskunde te Antwerpen onderworpen aan speciesidentificatie via de polymerase-kettingreactie met restrictiefragment-lengtepolymorfisme (PCR-RFLP), beschreven door Somers et al. (2007). Kort samengevat wordt hierbij in een eerste stap een deel van het mitochondriale DNA door een specifiek primerpaar (ITM TnR en TaenF) en een polymerase-enzyme geamplificeerd. In een tweede stap knippen twee enzymen (Ddel en HinfI) deze sequentie op speciesspecifieke plaatsen, zodat een restrictiefragmentpatroon ontstaat dat typisch is voor *T. solium*, *T. saginata* of *T. asiatica*.

2.2.4. Beheer van de gegevens en statistische verwerking

Alle informatie verkregen uit de vragenlijsten en de resultaten van lintwormdiagnose werd opgeslagen in Microsoft® Excel 2002 en vervolgens verwerkt met Stata/SE 10.0 (StataCorp®). De gegevens met betrekking tot taeniose, cysticercose en de gerelateerde risicofactoren werden louter descriptief weergegeven per bevolkingsgroep. Het verband tussen het voorkomen van epilepsie en verschillende demografische parameters, varkensvleesconsumptie en taeniose werd berekend aan de hand van enkelvoudige logistische regressie, waarbij de resultaten werden weergegeven als *odds ratios* (OR) met bijhorend 95%-betrouwbaarheidsinterval en een *P*-waarde berekend via de chikwadraattoets. Factoren die gerelateerd waren aan het voorkomen van epilepsie ($P < 0,100$) werden vervolgens samen geanalyseerd in een multivariabel logistisch regressiemodel.

2.2.5. Ethisch protocol

De deelnemers aan deze studie kregen een gratis algemeen gezondheidsonderzoek en een coprologisch routineonderzoek aangeboden tijdens een lokaal georganiseerd gezondheidscamp, waarbij tevens de nodige medicatie gratis ter beschikking werd gesteld. Lintwormdragers werden behandeld met Niclosamide en kregen advies over hoe ze herbesmetting konden voorkomen.

2.3. Resultaten

Tabel 2.2 geeft de kenmerken van de bestudeerde populatie weer en geeft een samenvatting van de resultaten die verkregen werden bij de bevraging en lintwormidentificatie. In Mrigauliya-3 stemden 211 huishoudens (73,0%) ermee in om deel te nemen aan de studie, waardoor informatie werd verzameld van 1.012 personen (77,3%). De etnische groepen konden onderverdeeld worden in vier categorieën met dalende sociale status: hogere hindoekasten, heuvel-Janajati, Terai-Janajati en Dalit. In Itahari,

Duhabi en Biratnagar werden enkel Dum-gezinnen opgenomen in de studie. Van de 87 bezochte huishoudens gaven er 62 (71,3%) toestemming om mee te werken. Deze omvatten in totaal 430 gezinsleden.

De scholingsgraad daalde parallel met de sociale status van de bevolkingsgroep en was bij alle groepen lager bij vrouwen dan bij mannen, wat vooral bij de Dum sterk uitgesproken was (72,0% van de vrouwen was ongeschoold, versus 51,8% in Mrigauliya). Bij de lagere kasten bleek ook het gemiddelde scholingsniveau lager te liggen dan bij de hogere kasten.

De gegevens met betrekking tot toiletgebruik, varkenshouderij en eetgewoonten werden geanalyseerd op het niveau van het huishouden. Bijna 30% van de huishoudens in Mrigauliya had een toilet met septische put, maar deze gezinnen behoorden voornamelijk tot de hogere hindoekasten en de heuvel-Janajati. Families met een toilet maakten hier in hoge mate gebruik van. Van de onderzochte Dum-gezinnen had ruim 30% een toilet, maar meer dan 60% hiervan defeceerde soms toch nog langs wegen of rivieroeveren. Bijna alle toiletten bevonden zich in Itahari, waar een lokale ngo deze had helpen bouwen.

Wat betreft het al dan niet houden van varkens, bleek ook een duidelijk kastenverschil. Geen van de hogere hindoekasten hield varkens, tegenover ruim een kwart van de Dalit-gezinnen, bijna de helft van de Terai-Janajati en zo'n 80% van de heuvel-Janajati. Ongeveer de helft van de Dum-gezinnen bleek op het moment van de studie varkens te houden, maar enige tijd vóór de studie waren alle varkens in Duhabi gestorven aan een ongeïdentificeerde ziekte. Terwijl de boeren in Mrigauliya uitsluitend zwarte varkens hielden, behoorde ruim 40% van de varkens van de Dum tot het Hurra-ras. De meeste gezinnen hielden één of enkele varkens voor vetmesting of om religieuze redenen. De opbrengst van de verkoop ging voornamelijk naar voedsel en schoolgeld voor de kinderen, sommigen gebruikten het om zaden en meststoffen te kopen en een minderheid spaarde dit geld. Bijna alle varkens in Mrigauliya kregen residuen van alcoholfermentatie, *Colocasia*-bladeren en rijstmeel, terwijl de varkens gehouden door de Dum voornamelijk hotel- en keukenafval te eten kregen. Er bleek ook een verschil in de manier waarop de dieren gehouden werden: hokken werden voornamelijk gebruikt door de heuvel-Janajati, aanbinden gebeurde overwegend door de Terai-Janajati, terwijl vrije uitloop vooral door de Dalit werd toegepast en door de Dum in het bijzonder. In Mrigauliya had een minderheid van de varkensboeren ooit al gehoord van cysticercose ("*chamle*" of "*pidke*" in de lokale taal), Bij de Dum was ruim de helft van hen op de hoogte. Geen van de boeren wist dat cysten gepalpeerd kunnen worden in de tong, maar de meeste wisten wel dat ze bij geslachte varkens in de spieren terug te vinden zijn. Sommigen beweerden echter dat de cysten zich in de huid of in de lever bevonden.

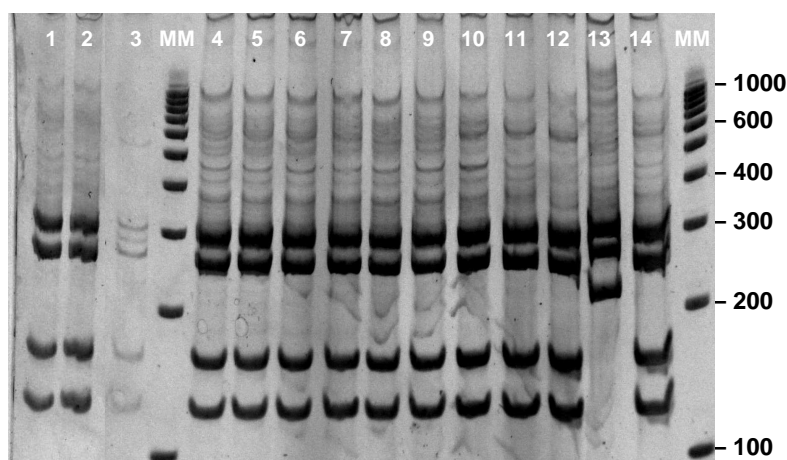
Varkensvlees werd wegens sociale en culturele beperkingen weinig geconsumeerd door de hogere hindoekasten uit Mrigauliya. De frequentie waarmee de andere kasten varkensvlees aten, hing in grote mate af van persoonlijke voorkeur en financiële middelen. Het vlees werd doorgaans gekocht op

lokale markten (“*haat bazaar*”), waar lokale en uit omliggende dorpen aangevoerde dieren werden geslacht. Meestal werden het vlees en de viscera gebakken en vervolgens gekookt, soms werden stukken vlees ook op een spie gestoken en enkele minuten in het vuur gehouden (“*polera*”). Uit de informele gesprekken met de Dum kwamen twee extra factoren naar voren. Alcoholmisbruik kwam vaak voor in deze gemeenschap en ging vaak gepaard met het eten van varkensvlees en -viscera dat slechts korte tijd gebakken of geroosterd werd. Daarnaast werden tijdens bepaalde religieuze gelegenheden (“*puja*”) jonge Hurra-varkens geofferd en vervolgens geroosterd. Volgens sommigen werd hiervan de huid, volgens anderen zelfs de lever of het vlees rauw opgegeten.

In Mrigauliya had de helft van de hogere hindoes en heuvel-Janajati al gehoord van lintwormen, tegenover ongeveer een vijfde van de Terai-Janajati en Dalit. Bij de drie eerste groepen wist bijna 20% dat de parasiet wordt overgedragen via het eten van rauw vlees, terwijl geen van de Dalit-gezinshoofden dit wist te vertellen. Bij de Dum daarentegen kenden bijna alle gezinnen de lintworm en 35% van hen was op de hoogte van de manier van overdracht. Opvallend was ook dat twee Dum-gezinshoofden ons vertelden dat rauwe lever de bron van infectie was.

In totaal werden 61 personen geïdentificeerd die actief proglottiden uitscheiden. Deze bleken allemaal te behoren tot de Dum-kaste. Alle lintwormdragers beweerden wekelijks varkensvlees te eten, de helft van hen at soms “*polera*”. Er was geen significant verschil in voorkomen tussen de geslachten. De gemiddelde leeftijd was 24 en varieerde van 4 tot 60. Gemiddeld scheidde ze al 3 tot 4 jaar proglottiden uit, met een maximum van 20 jaar. Ruim 60% van de dragers verklaarde ooit al een geneesmiddel genomen te hebben, maar vaak ging het om een eenmalige dosis van albendazole, het enige anthelminthicum dat gratis ter beschikking wordt gesteld in de lokale gezondheidsposten.

De compliance van behandeling was behoorlijk (65,7%), maar de behandelde personen waren vaak niet bereid hun stoelgang te verzamelen voor verder onderzoek. Slechts vijftien personen hebben dit gedaan, waarbij in twaalf gevallen lintwormen of segmenten werden teruggevonden. Deze bleken na PCR-RFLP-patroonanalyse allemaal te behoren tot het species *T. asiatica* (figuur 2.1).



Figuur 2.1. PCR-RFLP-patroon van de onderzochte lintwormstalen (banen 1-2, 4-12 en 14), indicatief voor *T. asiatica*. Baan 3 behoort niet tot de onderzochte stalen, MM duidt de moleculaire merkers aan en baan 13 is een positieve controle (*Taenia crassiceps*).

Tabel 2.2. Onderzoek naar taeniose, cysticercose en gerelateerde risicofactoren bij vijf verschillende bevolkingsgroepen in de oostelijke Terai van Nepal: bestudeerde populatie en resultaten bekomen bij bevraging en lintwormidentificatie.

	Mrigauliya				Ith, Duh, Brt ^a
	Hogere hindoes	Heuvel-Janajati	Terai-Janajati	Dalit	Dum
Bevraagde populatie					
Huishoudens (%)	51 (24,2)	24 (11,4)	109 (51,7)	27 (12,8)	62 (100,0)
Gezinsleden (%)	262 (25,9)	114 (11,4)	490 (48,4)	146 (14,4)	430 (100,0)
Gemiddelde gezinsgrootte	5,1	4,8	4,5	5,4	6,9
Gemiddelde leeftijd (range)	30,2 (0-80)	28,4 (1-70)	26,2 (0-85)	23,2 (0-80)	19,5 (0-80)
Scholingsgraad					
Ongeschoold (%)	80 (30,5)	46 (40,4)	248 (50,6)	73 (50,0)	241 (56,0)
Lagere school (%)	46 (17,6)	24 (21,1)	99 (20,2)	53 (36,3)	155 (36,0)
Secundaire school (%)	50 (19,1)	23 (20,2)	96 (19,6)	11 (7,5)	28 (6,5)
SLC ^b (%)	75 (28,6)	19 (16,7)	44 (9,0)	9 (6,2)	6 (1,4)
Universiteit (%)	11 (4,2)	2 (1,8)	3 (0,6)	0 (0,0)	0 (0,0)
Toiletgebruik					
Toilet aanwezig (%)	39 (76,5)	12 (50,0)	9 (8,3)	1 (3,7)	22 (35,5)
Uitsluitend toilet (%)	36 (92,3)	11 (91,7)	6 (66,7)	1 (100,0)	8 (36,4)
Varkenshouders (%)					
Varkens altijd in hok (%)	-	12 (63,2)	4 (7,7)	1 (14,3)	9 (31,0)
Varkens aangeboden (%)	-	5 (26,3)	42 (80,8)	3 (42,9)	2 (6,9)
Varkens soms vrij (%)	-	2 (10,5)	6 (11,5)	3 (42,9)	18 (62,1)
Kent cysticercose (%)	-	6 (31,6)	6 (11,5)	2 (28,6)	18 (62,1)
Eetgewoonten					
Varkensvlees (%)	7 (13,7)	23 (95,8)	81 (74,3)	23 (85,2)	62 (100,0)
Wekelijks (%)	0 (0,0)	9 (39,1)	19 (23,5)	7 (30,4)	62 (100,0)
Soms <i>polera</i> (%)	2 (28,6)	9 (39,1)	10 (12,3)	12 (52,5)	38 (61,3)
Taeniose					
Kennis van lintworm (%)	26 (51,0)	12 (50,0)	30 (18,3)	6 (22,2)	60 (96,8)
Kent overdracht (%)	5 (19,2)	2 (16,7)	4 (20,0)	0 (0,0)	21 (35,0)
Positieve zelfdiagnose (%)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	61 (14,2)
Aantal verzameld (%)	-	-	-	-	12 (19,7)
Species (PCR-RFLP)					<i>T. asiatica</i>
Epilepsiepatiënten (%)	8 (3,1)	2 (1,8)	9 (1,8)	4 (2,7)	14 (3,3)

^a Ith, Duh, Brt = Itahari, Duhabi, Biratnagar

^b SLC = *School Leaving Certificate* (bewijs van beëindiging secundair onderwijs)

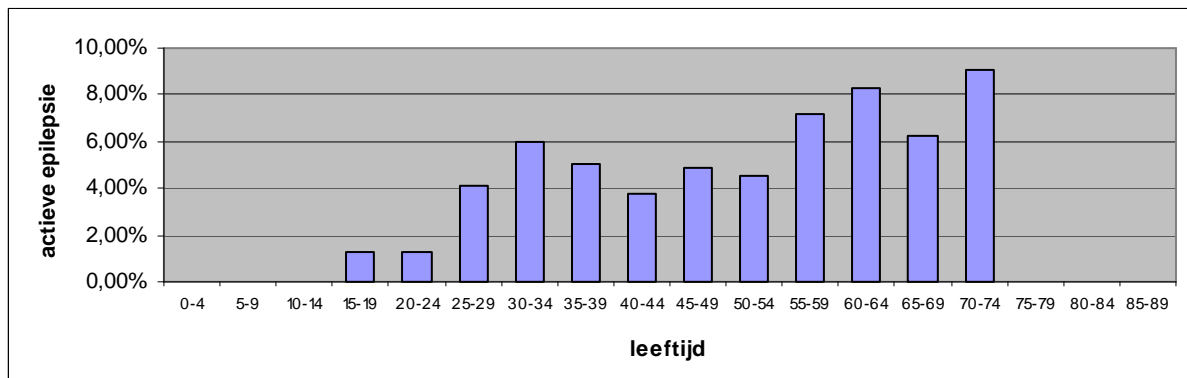
De vragenlijst identificeerde in totaal 37 personen met actieve epilepsiesymptomen (2,6%). Gemiddeld waren deze 39 jaar oud, met een spreiding van 18 tot 70. Bijna 95% verklaarde meerdere aanvallen te hebben gehad en dit gedurende een periode van gemiddeld 5 à 6 jaar. Slechts twee mensen namen klassieke anti-epileptische medicijnen voor hun aandoening, waardoor de zogenaamde *treatment gap* voor epilepsie 95% bedroeg. Bij enkelvoudige regressieanalyse kon geen statistisch significant verschil gevonden worden tussen de verschillende kasten en de eetgewoonten van de bestudeerde populatie. Vrouwen en personen zonder enige scholing bleken daarentegen wel een significant

verhoogde kans op epilepsie te hebben en ook een toenemende leeftijd bleek de kans op epilepsie significant te verhogen ($P < 0,001$) (figuur 2.1). Binnen de Dum-gemeenschap bleek taeniose ten slotte geen verband te houden met het voorkomen van epilepsie (tabel 2.3). In het multivariabele logistische regressiemodel werden vervolgens geslacht, leeftijd, opleiding en de interactie tussen leeftijd en opleiding (zoals voorheen grafisch werd aangetoond; resultaten niet weergegeven) samen getest. Hieruit bleek dat vrouwen een marginaal significant verhoogde kans hadden op epilepsie (OR 2,054 [0,989 – 4,264], $P = 0,053$) en dat een toenemende leeftijd en een gebrek aan opleiding het risico op epilepsie statistisch significant verhoogden (OR 1,077 [1,040 – 1,115], $P < 0,001$; OR 6,270 [1,307 – 30,090], $P = 0,022$).

Tabel 2.3. Onderzoek naar het voorkomen van epilepsie en de geassocieerde risicofactoren bij 1.442 individuen in de oostelijke Terai van Nepal aan de hand van enkelvoudige logistische regressie.

Parameter	Epilepsie		Statistische significantie	
	Positief (%)	Totaal (%)	Odds ratio (95%-BI) ^a	P-waarde
Kaste				
Dum	14 (3,3)	430 (29,8)	Referentie	–
Hogere hindoes	8 (3,1)	262 (18,2)	0,936 (0,387 – 2,262)	0,883
Heuvel-Janajati	2 (1,8)	114 (7,9)	0,531 (0,119 – 2,369)	0,399
Terai-Janajati	9 (1,8)	490 (34,0)	0,556 (0,238 – 1,298)	0,169
Dalit	4 (2,7)	146 (10,1)	0,837 (0,271 – 2,584)	0,757
Geslacht				
Mannelijk	13 (1,7)	746 (51,7)	Referentie	–
Vrouwelijk	24 (3,5)	696 (48,3)	2,014 (1,017 – 3,987)	0,041
Scholing				
Enige scholing	11 (1,5)	754 (52,3)	Referentie	–
Geen scholing	26 (3,8)	688 (47,7)	2,653 (1,301 – 5,411)	0,005
Varkensvleesconsumptie				
Nooit	9 (2,4)	373 (25,9)	Referentie	–
Minder dan wekelijks	9 (1,9)	476 (33,0)	0,779 (0,306 – 1,984)	0,600
Wekelijks	19 (3,2)	593 (41,1)	1,339 (0,599 – 2,991)	0,475
Nooit "polera"	23 (2,3)	985 (68,3)	Referentie	–
Soms "polera"	14 (3,1)	457 (31,7)	1,322 (0,674 – 2,593)	0,416
Taeniose (Dum)				
Negatief	11 (3,0)	369 (85,8)	Referentie	–
Positief	3 (4,9)	61 (14,2)	1,683 (0,456 – 6,217)	0,430

^a 95%-BI = 95%-betrouwbaarheidsinterval



Figuur 2.2. Evolutie van het percentage personen met actieve epilepsie per leeftijdsgroep van vijf jaar zoals blijkt uit de studie naar het voorkomen van epilepsie in de oostelijke Terai van Nepal (n = 1.442).

2.4. Discussie

De transmissie van humane *Taenia*-lintwormen is sterk gelinkt aan de sociaaleconomische situatie van een bevolking. Naarmate de algemene levensstandaard in ontwikkelingslanden toeneemt, ziet men dat *T. solium* een meer focale distributie vertoont, waarbij vooral rurale en sociaal achtergestelde bevolkingsgroepen de cyclus in stand houden (Somers et al., 2006; Carabin et al., 2009). In Nepal heeft het kastenstelsel verschillende bevolkingsgroepen doen ontstaan die door hun specifieke socioculturele en economische eigenschappen een verschillende bijdrage leveren aan de transmissie ervan. Dit fenomeen wordt eveneens beschreven in India, waar net als in Nepal een opdeling van de bevolking in verschillende kasten bestaat (Prasad et al., 2008a). Hoewel ieder individu in principe vrij is om de keuzes te maken die het wil, ziet men dat de kaste waartoe men behoort toch nog een sterke impact heeft op het alledaagse leven, zeker in de meer landelijke gebieden. Verschillende auteurs hebben dan ook beschreven dat bepaalde bevolkingsgroepen in Nepal een hoge prevalentie van taeniose vertoonden (Gaihre, 2000; Thapa, 2000; Karki, 2003). Het voorkomen van verschillende *Taenia*-species, en de mogelijke interactie ertussen, is echter een factor die niet uit het oog mag worden verloren bij onderzoek naar de epidemiologie van de varkenslintworm (Conlan et al., 2009).

Voor deze studie werd een enquête gehouden bij verschillende bevolkingsgroepen in de oostelijke Terai van Nepal. Tussen deze kasten bleek een duidelijk verschil te bestaan in sociale status en houding ten opzichte van varkens en varkensvlees. Het waren vooral die groepen met een lage scholingsgraad en een gebrek aan sanitaire voorzieningen die frequent (geroosterd) varkensvlees aten en extensief varkens hielden. In het bijzonder waren de Dum sterk gepredisponeerd tot het onderhouden van de levenscyclus van de varkenslintworm. Via zelfdiagnose werden in deze bevolkingsgroep 61 lintwormdragers geïdentificeerd (14,2%), terwijl taeniose in de andere groepen schijnbaar afwezig was. PCR-RFLP-patroonanalyse toonde echter aan dat alle verzamelde lintwormen *T. asiatica* waren, een species dat tot dusver nooit eerder was aangetroffen in Nepal.

Het grote verschil in voorkomen van taeniose tussen de Dum en de Terai-Janajati en Dalit uit Mrigauliya lijkt op het eerste gezicht vreemd, aangezien deze drie groepen in min of meer dezelfde mate at risk zijn. Een prevalentie hangt echter af van zowel de incidentie als de duur van een

aandoening (Bonita et al., 2006). De incidentie van taeniose kon bij de Dum hoger liggen door de hogere graad van alcoholmisbruik, wat vaak gepaard ging met het onachtzaam klaarmaken van varkensvlees en -viscera. Ook het religieuze gebruik om bij bepaalde gelegenheden een jong varken te roosteren en op te eten, kon hiertoe bijdragen. Daarnaast hadden de Dum ook weinig aandacht voor hygiëne en gezondheid, waardoor lintwormdragers vaker onbehandeld bleven. Aangezien de gemiddelde biologische levensduur van een lintworm wordt geschat op een jaar, maar kan oplopen tot meerdere jaren (Conlan et al., 2009), kan een relatief kleine verhoging in incidentie een relatief groot verschil in prevalentie teweegbrengen.

Lintwormdragers werden geïdentificeerd aan de hand van zelfdiagnose, zonder bevestiging via coprologische of serologische technieken. Deze methode is handig om een populatie te screenen en zou een goede schatting van de prevalentie van taeniose opleveren (Flisser et al., 2005). Mensen kunnen uit angst echter hun toestand verborgen houden of om aandacht te zoeken net vals positieve verklaringen afleggen. Daarnaast is het ook mogelijk dat het gezinshoofd niet altijd op de hoogte is van een eventuele lintworminfestatie bij zijn gezinsleden. Ook is het duidelijk dat bij deze methode geen onderscheid kan worden gemaakt tussen de verschillende species. Door de actieve uitscheiding van de proglottiden van *T. saginata* en *T. asiatica* zou hierdoor zelfs een overschatting van de prevalentie van deze species kunnen ontstaan (Ito et al., 2003; Somers et al., 2007). Daarentegen kan met deze methode vaak een groot aantal mensen bereikt worden, aangezien niet altijd iedereen bereid is een feces- of bloedstaal af te geven. Microscopisch routineonderzoek is gemakkelijk uit te voeren, maar is weinig gevoelig, aangezien lintwormeieren slechts intermitterend in de stoelgang terug te vinden zijn. Aangezien alle *Taenia*-eieren morfologisch identiek zijn, laat deze techniek ook geen speciesidentificatie toe (Allan et al., 2003). Andere coprologische technieken detecteren lintwormantigenen, die onafhankelijk van de eiproductie in de feces terechtkomen (Allan en Craig, 2006). Terwijl de eerste coproantigeentests genusspecifiek waren, wordt tegenwoordig ook gewerkt aan speciesspecifieke tests (Deckers et al., 2009; Guezala et al., 2009). Via de detectie van specifiek lintworm-DNA in feces kan de multiplex-PCR van Yamasaki et al. (2004) een onderscheid maken tussen de drie humane *Taenia*-species. Recent werd ook een serologische test voorgesteld die een speciesspecifieke diagnose van taeniose toelaat (Jeon en Eom, 2009). Voor al deze geavanceerde technieken is echter een goed uitgerust laboratorium met ervaren personeel nodig, wat in ontwikkelingslanden niet altijd evident is.

In deze studie werd de aanwezigheid van *T. asiatica* in Nepal voor het eerst aangetoond. Naarmate moleculaire diagnose vaker wordt toegepast, blijken in talrijke Aziatische landen veel gevallen die op morfologische basis als *T. saginata* werden beschouwd, toch te behoren tot het Aziatische *Taenia*-species. Tot op heden werd deze parasiet al teruggevonden in Taiwan, Zuid-Korea, China, Mongolië, Indonesië, Vietnam, Thailand, Laos, Cambodja, de Filippijnen en Japan (Eom et al., 2009). De aanwezigheid van *T. asiatica* in een populatie betekent een bijkomende complicerende factor in de epidemiologie van de varkenslintworm (Conlan et al., 2009). Tot dusver is het echter nog onduidelijk in welke mate deze parasiet kan concurreren met de varkenslintworm en of hij als eventueel dominant

species zelfs zou kunnen beschermen tegen *T. solium*-infectie, en dit zowel bij de mens als bij het varken. Hoewel dit nog nooit is bewezen, zou dit wel kunnen verklaren waarom in de Dum-gemeenschap geen enkele varkenslintworm werd aangetroffen, ook al was deze bevolkingsgroep sterk gepredisponeerd. Daarnaast bestaat er nog discussie of het larvale tussenstadium van *T. asiatica*, *Cysticercus viscerotropica*, zich net als *Cysticercus cellulosae* kan ontwikkelen bij de mens (Galán-Puchades en Fuentes, 2000).

De bevraging naar het voorkomen van epilepsiesymptomen leverde geen statistisch significant verschil op tussen de verschillende bevolkingsgroepen, de frequentie van varkensvleesconsumptie en het al dan niet roosteren ervan. Dit zou verklaard kunnen worden door de schijnbare afwezigheid van de varkenslintworm in de onderzochte populaties. Een toenemende leeftijd en een gebrek aan enige scholing bleken daarentegen wel het risico op epilepsie significant te verhogen. Ook bleek epilepsie vaker voor te komen bij vrouwen, hoewel dit verschil niet significant kon worden aangetoond. Uit een recent overzichtsartikel blijkt echter dat de prevalentie van epilepsie doorgaans een bimodaal patroon volgt met een piek bij kinderen en bij ouderen en dat het voorkomen van epilepsie niet zou verschillen tussen de geslachten (Mac et al., 2007). De resultaten uit onze studie zouden mogelijk verklaard kunnen worden door het relatief vaak voorkomen van psychosociale oorzaken van epileptiforme aanvallen. Aangezien vrouwen vaker lijden onder emotionele spanningen, angst en depressie, zullen zij vaker als positief beschouwd worden in onze vragenlijst (Kohrt en Worthman, 2009; Karterud et al., 2010). Ook mensen zonder enige opleiding en ouderen zouden vaker te maken kunnen hebben met psychosociale problemen. Bovendien is het mogelijk dat vrouwen, ongeschoolde individuen en ouderen minder vaak een degelijke behandeling krijgen, waardoor de duur van hun aandoening relatief langer zal zijn ten opzichte van andere personen. Jammer genoeg was het in deze studie niet mogelijk de personen met epilepsiesymptomen aan een neurologisch onderzoek of elektro-encefalogram te onderwerpen, waardoor vals positieve gevallen niet uitgesloten konden worden. De kans hierop is reëel, aangezien de negen vragen van Placencia et al. (1992) slechts een specificiteit bleken te hebben van 92,1%. Daar epilepsie doorgaans aan een lage prevalentie voorkomt (< 1%; Mac et al., 2007), kan een beperkt aantal vals positieven toch aanleiding geven tot een heel lage positief voorspellende waarde, met een sterke overschatting van de werkelijke prevalentie en een verkeerde risicoanalyse tot gevolg.

2.5. Conclusies en aanbevelingen

De transmissie van *Taenia*-lintwormen wordt sterk bepaald door socioculturele voorkeuren, waardoor bepaalde species in een gegeven populatie een competitief voordeel kunnen hebben. In Nepal hebben de verschillende kasten elk hun eigen sociale en culturele gewoonten en gebruiken. De prevalentie van de verschillende species kan dan ook verschillen tussen de diverse etnische groepen. Verder onderzoek is nodig om in kaart te brengen welke bevolkingsgroepen een verhoogd risico op taeniose vertonen en identificatie van de aanwezige species zal hierbij onontbeerlijk zijn. Op termijn maakt dit gerichte behandeling mogelijk, wat uiteindelijk de gehele populatie ten goede zal komen.

Ontwikkelingsorganisaties die werken met sociaal achtergestelde kasten zouden zich bewust moeten zijn van dit probleem en aandacht moeten besteden aan het voorkomen van lintwormen in hun doelgroepen. Verder kan ook de overheid een bijdrage leveren aan de controle van de varkenslintworm door taeniacide geneesmiddelen ter beschikking te stellen in de gezondheidsposten.

Aangezien mensen en varkens in Azië door drie *Taenia*-lintwormen geparasiteerd kunnen worden, zijn speciesspecifieke diagnostische tests van groot belang. Het verdient dan ook aanbeveling eenvoudige en goedkope tests te ontwikkelen die een onderscheid kunnen maken tussen de mogelijke species zonder aan gevoeligheid en specificiteit in te boeten. De mogelijke competitieve interactie tussen deze species dient zeker verder onderzocht te worden. Veldgegevens over kruisimmunititeit kunnen accurate epidemiologische modellen helpen ontwikkelen, die een belangrijke bijdrage kunnen leveren aan onze kennis van de varkenslintworm en de controle ervan.

HOOFDSTUK DRIE

Antigeendetectie voor de diagnose van *Taenia solium* cysticercose

3.1. Inleiding

Immunodiagnostische tests spelen vaak een belangrijke rol bij epidemiologische studies naar humane en porciene cysticercose en kunnen een interessant hulpmiddel zijn bij de klinische omkadering van cysticercosepatiënten. De meeste tests maken gebruik van specifieke antigeen-antistofreacties om de aanwezigheid van cysticercen of de blootstelling eraan aan te tonen. Ze kunnen worden gebruikt om in serum, cerebrospinale vloeistof of zelfs urine immunogene bestanddelen of metabolieten van de parasiet te detecteren of de specifieke antistoffen die de gastheer tegen deze antigenen gevormd heeft (Deckers en Dorny, 2010). Recent is ook een test ontwikkeld die niet gebaseerd is op de humorale maar wel op de cellulaire immuniteit. Deze test gaat de proliferatie na van lymfocyten na contact met cystevloeistof (Prasad et al., 2008b).

Antigeendetectietesten onderscheiden zich van antistofdetectietesten doordat ze specifiek de aanwezigheid van levende cysticercen kunnen aantonen. Circulerende antigenen verdwijnen namelijk snel na het afsterven van de cysticerc (Nguekam et al., 2003a), terwijl antistoffen nog ruim een jaar aanwezig kunnen blijven (Garcia et al., 1997). Antigeendetectie kent bijgevolg een meerwaarde bij epidemiologisch onderzoek naar actieve cysticercose en is de test bij uitstek voor prevalentiestudies naar porciene cysticercose, aangezien enkel levende cysticercen infectieus zijn. Verder is het ook een goedkoop hulpmiddel bij de opvolging van medicamenteus behandelde cysticercosepatiënten (Garcia et al., 2000; Nguekam et al., 2003b). Door de link tussen de totale cystemassa en de resulterende systemische antigeenconcentratie kan kwantitatieve antigeenbepaling bovendien een idee geven van het aantal cysticercen en hun grootte. Zo zijn hoge antigeenniveaus bij patiënten met hydrocefalus indicatief voor obstructieve cysticercose ten gevolge van groeiende ventriculaire of subarachnoïdale cysticercen (Garcia et al., 2002; Fleury et al., 2007; Rodriguez et al., 2009). Bij epilepsiepatiënten kunnen hoge antigeenniveaus wijzen op multipole cysticercose, een situatie waarbij behandeling met anthelmintica tegenaangewezen is (Garcia et al., 2000). Ten slotte zou antigeendetectie ook bij varkens gebruikt kunnen worden om de infectiegraad te kwantificeren en zo het risico op transmissie te kunnen bepalen (Deckers et al., 2008).

De twee meest gebruikte en gevalideerde antigeendetectietests zijn *sandwich enzyme-linked immunosorbent assays* (Ag-ELISA's) die de circulerende parasitaire antigenen capteren tussen twee monoklonale antistoffen. De HP10 Ag-ELISA werd ontwikkeld voor de diagnose van *Taenia saginata* cysticercose en detecteert via IgM-antistoffen een repetitief epitoom dat aanwezig is op oppervlakteglycoproteïnen en excretie-secretieproducten van *Cysticercus bovis* (Harrison et al., 1989). Aangezien dit HP10-epitoom ook is aangetoond op metabolieten en in de cystevloeistof van *Cysticercus cellulosae*, kan deze test ook gebruikt worden voor de diagnose van *Taenia solium* cysticercose. Tot nu toe werd de HP10 Ag-ELISA reeds gevalideerd voor gebruik op humaan en

porcien serum en humane cerebrospinale vloeistof (Fleury et al., 2007; Krecek et al., 2008). De B158/B60 Ag-ELISA is gebaseerd op de Ag-ELISA ontwikkeld door Brandt en collega's (1992) voor de detectie van circulerende excretie-secretieproducten van *C. bovis*. De performantie van deze test werd verbeterd door het isotype van de gebruikte monoklonale antistoffen te veranderen van IgM naar IgG. Hierbij bleek de combinatie van IgG B158C₁₁A₁₀ en B60H₈A₄ als capterende respectievelijk detecterende antistof de beste resultaten op te leveren (Van Kerckhoven et al., 1998). Om immunocomplexen te dissociëren en zo de gevoeligheid van de test te verhogen, werd nadien een voorbereidende stap ingevoerd waarbij de serumstalen werden behandeld met trichloorazijnzuur (Dorny et al., 2000). De B158/B60 Ag-ELISA bleek door kruisreactie ook geschikt voor de diagnose van *T. solium* cysticercose en werd tot nu toe gevalideerd voor gebruik op porcien serum (Dorny et al., 2004; Krecek et al., 2008) en humaan serum, cerebrospinale vloeistof en urine (Erhart et al., 2002; Prado-Jean et al., 2007; Castillo et al., 2009). Naast deze twee *sandwich* ELISA's werden nog andere microplaat-ELISA's ontwikkeld voor de detectie van *T. solium* antigenen (Espindola et al., 2002; Gomes et al., 2007), net als andere testformats, zoals een *dipstick dot*-ELISA (Ginbar, 2008) en urine-agglutinatie-test (Parija et al., 2004). Deze tests bleken echter meer vals negatieve resultaten op te leveren dan de conventionele antigeendetectietests. De nitrocellulosemembraangebonden *dot*-ELISA ontwikkeld voor de diagnose van *T. saginata* cysticercose vertoonde daarentegen wel een behoorlijke performantie voor *T. solium* cysticercose, maar dit werd niet verder verkend (Draelants et al., 1995). Recent werd het gebruik beschreven van *nanobodies*, zwareketenantistoffen geproduceerd door haaien en kameelachtigen, voor de ontwikkeling van een speciesspecifieke antigeendetectietest. Verdere studies zijn echter nodig om deze methodologie te optimaliseren (Deckers et al., 2009).

Hoewel antigeendetectie een veel gebruikt en nuttig instrument is voor epidemiologisch en klinisch onderzoek, moeten de resultaten toch met de nodige voorzichtigheid worden geïnterpreteerd. Net als bij elke diagnostische test bestaat namelijk de mogelijkheid op vals negatieve en vals positieve resultaten en zijn de gevoeligheid en specificiteit van deze methode dus lager dan 100%. De antigenen die gedetecteerd kunnen worden, komen vrij in de circulatie door turn-over van somatische cellen of door excretie en secretie van metabolieten. De kinetiek van deze antigenen bepaalt mee vanaf wanneer infecties als positief zullen worden beschouwd en hoe lang na het afsterven van de cysticercen vals positieve resultaten mogelijk zijn. Zo kan de HP10 Ag-ELISA bij varkens lichte infecties detecteren vanaf twee maanden na infectie, zware infecties kunnen al vanaf vier weken een positief signaal geven (Sciutto et al., 1998). De B158/B60 Ag-ELISA zou daarentegen al vanaf twee weken na infectie cysticercen kunnen detecteren, zelfs bij een lage infectiegraad (Nguekam et al., 2003a). De kinetiek van de circulerende antigenen zou bovendien ook verschillen naar gelang van de leeftijd van de dieren. Jonge dieren zouden namelijk sneller een positief signaal geven en hogere antigeenniveaus bereiken, wat verklaard zou worden door een minder efficiënte immunrespons op jongere leeftijd (Deckers et al., 2008). Beide tests zouden één tot drie maanden na het afsterven van de cysticercen negatief worden (Garcia et al., 2000; Nguekam et al., 2003a; Sikasunge et al., 2008). Vals positieve resultaten zijn verder ook mogelijk door de aanwezigheid van transiënte antigenen, gevormd door cysticercen die zich niet hebben kunnen ontwikkelen tot infectieuze larven (Nguekam et

al., 2003a; Deckers et al., 2008). Immuuncomplexvorming tijdens het verloop van de infectie zou ten slotte verantwoordelijk zijn voor een daling in vrije antigeenconcentratie en kan dan ook de gevoeligheid van tests die hier geen rekening mee houden, zoals de HP10 Ag-ELISA, beperken (Sciutto et al., 1998). Naast het kinetische profiel van de *T. solium* cysticercen kunnen de testresultaten ook beïnvloed worden door kruisreacties met andere parasieten. Zowel *Cysticercus tenuicollis* als *Cysticercus viscerotropica*, de larvale stadia van *Taenia hydatigena* en *Taenia asiatica*, zijn in staat om bij het varken vals positieve resultaten te veroorzaken (Ito en Craig, 2003) en ook *Echinococcus granulosus*, een verwant lintwormspecies, zou licht positieve reacties kunnen induceren (Pierre Dorny, persoonlijke mededeling). Het is nog onduidelijk of *C. viscerotropica* zich ook bij de mens kan ontwikkelen en aanleiding kan geven tot kruisreacties (Galán-Puchades en Fuentes, 2000). Ten slotte wordt het testresultaat ook in belangrijke mate bepaald door de laborant die de test uitvoert. De B158/B60 Ag-ELISA tracht deze invloed te minimaliseren door een interne controle tijdens elke test, maar enige variatie is toch niet uit te sluiten (persoonlijke observatie).

Bij epidemiologische studies kunnen de gevoeligheid en specificiteit gebruikt worden om de schijnbare prevalentie, zoals blijkt uit de testresultaten, om te rekenen naar de werkelijke prevalentie. Om deze testkarakteristieken te kunnen bepalen, is echter een gouden standaard nodig, een test met een gevoeligheid en specificiteit van 100%. Voor cysticercose is dit de dissectie van het volledige individu, wat bij varkens om ethische en logistieke redenen niet altijd mogelijk is en bij mensen uitgesloten is. In dergelijke gevallen kan als alternatief een Bayesiaans statistisch kader worden gebruikt om de performantie van de test te bepalen (Dorny et al., 2004). Zo bleek de HP10 Ag-ELISA voor porcine cysticercose een gevoeligheid te hebben van 55% en een specificiteit van 83%, terwijl de gevoeligheid en de specificiteit van de B158/B60 Ag-ELISA minstens 76% en 84% zouden bedragen (Krecek et al., 2008). Voor de diagnose van humane actieve cysticercose wordt een gevoeligheid en specificiteit van 85% en 92% beschreven voor de HP10 Ag-ELISA en van 94% en 100% voor de B158/B60 Ag-ELISA. Deze cijfers werden echter berekend aan de hand van andere onvolmaakte tests als "gouden standaard" en weerspiegelen mogelijk niet de werkelijke testkarakteristieken (Garcia et al., 2002; Erhart et al., 2002). Hoewel gevoeligheid en specificiteit onafhankelijk zijn van de prevalenties in de respectievelijke populaties, zijn ze toch niet onafhankelijk van de populatie waarin en het moment waarop ze bepaald werden. Zo kan de prevalentie van kruisreagerende species of de infectiegraad van *T. solium* cysticercen variëren tussen verschillende populaties. Om deze problemen te verhelpen, kan de werkelijke prevalentie worden berekend via Bayesiaanse modellen, waarbij expertopinions gebaseerd op de specifieke situatie in rekening kunnen worden gebracht (Berkvens et al., 2006).

Wanneer antigeendetectie gebruikt wordt voor de diagnose van neurocysticercose (NCC) bij individuele patiënten, moet naast de hoger beschreven mogelijke misclassificaties ook rekening worden gehouden met het feit dat cysticercen zich ook buiten het centrale zenuwstelsel kunnen bevinden. Uit veldstudies blijkt dat NCC voorkomt bij 6% tot 89% van de antigeenpositieve individuen (Somers et al., 2006; Nguekam et al., 2003c; Erhart et al., 2002). De grote variatie in deze proporties is mogelijk te wijten aan het beperkte aantal personen dat in deze studies een CT-scan onderging. Als

antigeendetectie echter wordt gevalideerd voor de detectie van actieve NCC bij geconfirmeerde NCC-patiënten, blijkt de betrouwbaarheid toch behoorlijk te zijn (Garcia et al., 2002; Erhart et al., 2002).

In dit laatste deel van de masterproef werden twee studies opgezet om de verschillende toepassingen van antigeendetectie te exploreren onder Nepalese omstandigheden. In een eerste proef werd de B158/B60 Ag-ELISA gebruikt om de incidentie van porcine cysticerose en de kinetiek van de circulerende antigenen na te gaan onder veldomstandigheden. De tweede proef had als doel de proportie NCC-positieve epilepsiepatiënten na te gaan en de bepalende factoren voor seropositiviteit en antigeenniveau te bestuderen.

3.2. Materialen en methoden

3.2.1. Studieopzet

De longitudinale veldstudie naar porcine cysticerose vond plaats in de oostelijke Terai van Nepal, een gebied waar relatief veel varkens worden gehouden en frequent varkensvlees wordt gegeten (bijlage II). Gebieden waar varkens op een vrije basis worden gehouden, werden geïdentificeerd en twee dorpen werden geselecteerd voor deze studie: Itahari (Sunsari district) en Mrigauliya (Morang district) (bijlage III). De lokale varkenshouders werden geïnformeerd over onze studie en gevraagd naar hun medewerking. Op de plaatselijke veemarkt werden één maand oude biggen gekocht, individueel geormerkt en willekeurig verdeeld over de boeren die bereid waren mee te werken. Deze varkens werden vervolgens gedurende een periode van twaalf maanden extensief grootgebracht.

De dwarsdoorsnedestudie naar humane cysticerose werd uitgevoerd in het *B.P. Koirala Institute of Health Sciences* (BPKIHS), een ziekenhuis in Dharan, Sunsari district (bijlage III). Alle poliklinische en gehospitaliseerde patiënten die zich tijdens de studieperiode aandienden met epilepsie werden geëvalueerd voor deelname aan de studie. De gehanteerde exclusiecriteria waren een leeftijd jonger dan één jaar en koortsstuipen, intoxicaties, meningo-encefalitis en hoofdtrauma als oorzaak van de aanvallen. Bijkomend werden serumstalen verzameld van patiënten die zich niet aandienden met epilepsie, met als doel een patiënt-controle-onderzoek uit te voeren.

3.2.2. Staalnames en informatieverzameling

Bij de varkens die deel uitmaakten van de longitudinale veldstudie werd op maandelijks basis een serumstaal verzameld. Hiervoor werden de dieren in dorsale positie in bedwang gehouden, waarna met 3 of 5 ml-spijten en een naald bloed werd genomen uit de vena cava cranialis. Het serum werd vervolgens afgescheiden via manuele en elektrische centrifuges, overgebracht in Eppendorf-tubes en bewaard bij -20°C. Deze stalen werden regelmatig overgebracht naar het laboratorium van het NZFHRC², waar de serologische tests werden uitgevoerd. Aan het einde van de twaalf maanden

² National Zoonoses and Food Hygiene Research Centre

durende studie werden de dieren op humane wijze geslacht en werd een nauwgezette dissectie uitgevoerd, waarbij in de spieren en ingewanden gezocht werd naar cysticercen. Deze werden bewaard in pure ethanol en overgebracht naar het laboratorium van het Instituut voor Tropische Geneeskunde te Antwerpen voor moleculaire speciesidentificatie.

Epilepsiepatiënten die voldeden aan de criteria en toestemming gaven tot medewerking, werden onderworpen aan een vragenlijst over hun persoonlijke gegevens (leeftijd, geslacht en kaste) en de voorgeschiedenis van hun aanvallen. Vervolgens werd de patiënten gevraagd een CT- of MRI-scan van het hoofd te laten uitvoeren. De radioloog van dienst interpreteerde deze beelden, maakte de diagnose van NCC en bepaalde het NCC-type. Van alle patiënten werd ten slotte op een aseptische manier veneus bloed verzameld aan de hand van een Venoject®-vacuainersysteem, waarna het afgescheiden serum, bewaard in plastic testtubes bij -20°C, werd overgebracht naar het laboratorium van het NZFHRC. Van de personen die tot de controlegroep behoorden, werd op een soortgelijke manier serum verzameld.

3.2.3. Testprocedures

De B158/B60 Ag-ELISA werd uitgevoerd volgens het door Dorny en collega's (2004) gewijzigde testprotocol. Nunc MaxiSorp™ 96 MicroWell™ polystyreen testplaten werden gecoat met 100 µl capterende monoklonale antistof B158C₁₁A₁₀, opgelost in carbonaatbuffer (pH 9,6) aan een concentratie van 5 µg/ml. Deze reactie vond plaats onder licht schudden en bij een temperatuur van 37°C. Na 30 minuten werd de plaat vijfmaal gewassen met wasvloeistof (een fosfaatgebufferde zoutoplossing met 0,05% Tween-20; PBS-T20), waarna aan elke well 150 µl PBS-T20 met 1% pasgeboren-kalfsserum (blokbuffer) werd toegevoegd om de resterende vrije plaatsen af te blokken. Na 15 minuten incuberen werd 100 µl serum, voorbehandeld met 5% trichloorazijnzuur (Dorny et al., 2000), toegevoegd en werd de plaat onder licht schudden 15 minuten geïncubeerd bij 37°C. Na vijf wasbeurten werd 100 µl van de tweede antistof, B60H₈A₄, gebonden aan biotine en opgelost in blokbuffer aan 1,25 µg/ml, toegevoegd aan de wells. Opnieuw gebeurde de incubatie bij 37°C op een licht schuddende plaat en werd de plaat na 15 minuten vijfmaal gewassen. Vervolgens werd 100 µl conjugaat, een duizendvoudige verdunning van streptavidine-gelabelde mierikswortelperoxidase (*horse radish peroxidase*; HRP) in blokbuffer, toegevoegd en werd de plaat onder soortgelijke voorwaarden geïncubeerd. Na vijf wasbeurten werd 100 µl substraatoplossing, ortho-fenyleendiamine met waterstofperoxide, toegevoegd en werd de plaat gedurende 15 minuten in een donkere ruimte bij kamertemperatuur en zonder te schudden geïncubeerd. De enzymatische reactie werd ten slotte gestopt door aan elke well 50 µl zwavelzuur (4N) toe te voegen. De optische densiteit (OD) van de verschillende wells werd vervolgens gelezen door een spectrofotometer bij een golflengte van 492 nm (maximale absorptie) en 655 nm (achtergrond). Stalen werden als positief beschouwd wanneer de gemiddelde OD van de in duplo geteste serumstalen groter was dan de *cut-off* van elke afzonderlijke test, bepaald aan de hand van het gemiddelde en de standaarddeviatie van acht negatieve controlestalen.

Voor de detectie van circulerende *T. solium*-specifieke antistoffen werd gebruik gemaakt van de *enzyme-linked immunotransfer blot* (EITB) ontwikkeld door Tsang en collega's (1989). Kort samengevat werden eerst zeven cysticercantigenen (glycoproteïnen met een moleculair gewicht van 13, 14, 18, 21, 24, 42-39 en 50 kDa) gescheiden door natriumdodecylsulfaat-polyacrylamide-gelelektroforese (SDS-PAGE) en overgebracht op een polyvinylideenfluoridemembraan via elektrotransfer. Na blokken met blokbuffer (PBS met 5% magere melkpoeder) en wassen met PBS werd deze membraan vervolgens verknipt in smalle strips en blootgesteld aan de serumstalen. Gedurende één uur werd elke strip met een honderdvoudige verdunning van serum in blokbuffer bij kamertemperatuur op een kantelende plaat geïncubeerd. Na 30 minuten wassen met PBS werd aan elke well een duizendvoudige verdunning van HRP-gelabeld *protein G* in blokbuffer toegevoegd en werd op een soortgelijke manier geïncubeerd. Opnieuw werd 30 minuten gewassen met PBS, waarna het substraat werd toegevoegd, diaminobenzidine opgelost in een tris-gebufferde zoutoplossing (pH 7,6) met waterstofperoxide. Deze detectiereactie werd ten slotte gestopt met PBS na 15 minuten incuberen. Stalen met minstens één specifieke band werden als antistofpositief beschouwd.

De polymerasekettingreactie (PCR) met restrictiefragment-lengtepolymorfisme (RFLP) voor de speciesbepaling van de verzamelde cysticercen uit de veldproef werd uitgevoerd volgens Somers et al. (2007). Wegens de mogelijke aanwezigheid van *T. hydatigena* werd naast Ddel en HinfI een derde restrictie-enzyme gebruikt, HpaI (New England Biolabs® Inc), dat een specifiek restrictiepatroon voor deze parasiet kan doen ontstaan.

3.2.4. Gegevensbeheer en statistische verwerking

Alle informatie en testresultaten werden bewaard in Microsoft® Excel 2002, waarna de beschrijvende statistiek en de data-analyse werden uitgevoerd in Stata/SE 10.0 (StataCorp®).

In de longitudinale veldproef werd de cumulatieve incidentie berekend als het aantal varkens dat tijdens de studieperiode positief werd, gedeeld door het aantal varkens *at risk* bij het begin van de studie. De incidentie van porcine cysticercose werd bepaald door het aantal positieve testresultaten te delen door de som van het aantal maanden waarin elk varken risico liep op infectie (Bonita et al., 2006). Dieren die een positieve test gaven, werden voor de rest van de studieperiode niet langer als *at risk* beschouwd, ongeacht de volgende testresultaten, en dit wegens de mogelijkheid van een interfererende immunrespons. Per maand werd bijkomend de seroprevalentie bepaald door het aantal positieve reacties te delen door het totale aantal varkens dat die maand werd getest.

Bij de dwarsdoorsnedestudie werd de proportie NCC-positieve epilepsiepatiënten afzonderlijk berekend op basis van de radiologische en serologische resultaten. De radiologische proportie werd berekend door het aantal patiënten dat een voor NCC indicatief CT- of MRI-beeld vertoonde te delen door het aantal patiënten dat een radiografisch onderzoek onderging. De serologische proportie werd bepaald volgens Zoli et al. (2003) en Praet et al. (2009). Alle antigeenpositieve patiënten en 60% van

de antistofpositieve maar antigeennegatieve patiënten werden als NCC-positief beschouwd, en de serologische proportie werd bijgevolg berekend door dit aantal te delen door het aantal patiënten dat zowel een antigeen- als antistofdetectietest onderging. De determinerende factoren voor seropositiviteit en antigeenniveau werden bepaald aan de hand van regressieanalyse. Het verband tussen het resultaat van de Ag-ELISA en de continue variabele leeftijd en de categorische variabelen geslacht, kaste, EITB-resultaat, beeldvormingsresultaat en -bevindingen werd berekend via logistische regressie, waarbij de resultaten werden weergegeven als een *odds ratio* met bijhorend 95%-betrouwbaarheidsinterval. *P*-waarden werden berekend aan de hand van de chikwadraattoets of *Fisher's exact test*. Bijkomend werd de ratio, als maat voor het antigeenniveau, aan de hand van lineaire regressie afgetoetst aan de bevindingen van de CT- of MRI-scan. Aan de hand van de *skewness/kurtosis*-test werd hiervoor eerst nagegaan of de ratio normaal verdeeld was. De regressieresultaten werden vervolgens weergegeven als correlatiecoëfficiënten met bijhorende 95%-betrouwbaarheidsintervallen en *P*-waarden. Variabelen die bij de enkelvoudige logistische of lineaire regressie een *P*-waarde hadden kleiner dan 0,1 werden nadien in een overeenkomstig multivariabel model her-test.

In het patiënt-controle-onderzoek werd epilepsie beschouwd als ziekte en een positieve antigeendetectietest als blootstellingsfactor. Het attributieve risico van de populatie werd hierbij berekend door het attributieve risico van de blootstellingsgroep, berekend op basis van de *odds ratio*, te vermenigvuldigen met de proportie antigeenpositieve epilepsiepatiënten.

3.2.5. *Ethisch protocol*

De varkens die in de veldproef waren opgenomen, werden op een diervriendelijke manier gehouden en kregen de nodige medische zorgen, zoals vaccinaties en navelbreukoperaties, door de dierenarts van het NZFHRC. De varkenshouders kregen voer om hun dieren te onderhouden en kregen zelf de mogelijkheid om tijdens een lokaal georganiseerd gezondheidskamp een algemeen klinisch onderzoek en gratis medicatie te verkrijgen.

In de ziekenhuisstudie werd van alle deelnemende patiënten, alsook van het hoofd van de behandelende dienst, een geïnformeerde toestemming verkregen. De proef zelf was goedgekeurd door de interne ethische commissie van het BPKIHS (*Institute Protocol Committee*).

3.3. Resultaten

3.3.1. *Longitudinale veldstudie*

Deze proef werd gestart in maart 2008 en beëindigd in maart 2009. In totaal werden achttien één maand oude biggen verdeeld over acht boeren, van wie er zeven in Mrigauliya woonden en één in Itahari (tabel 3.1). De dertien mannelijke dieren werden gecastreerd op een leeftijd van drie maanden.

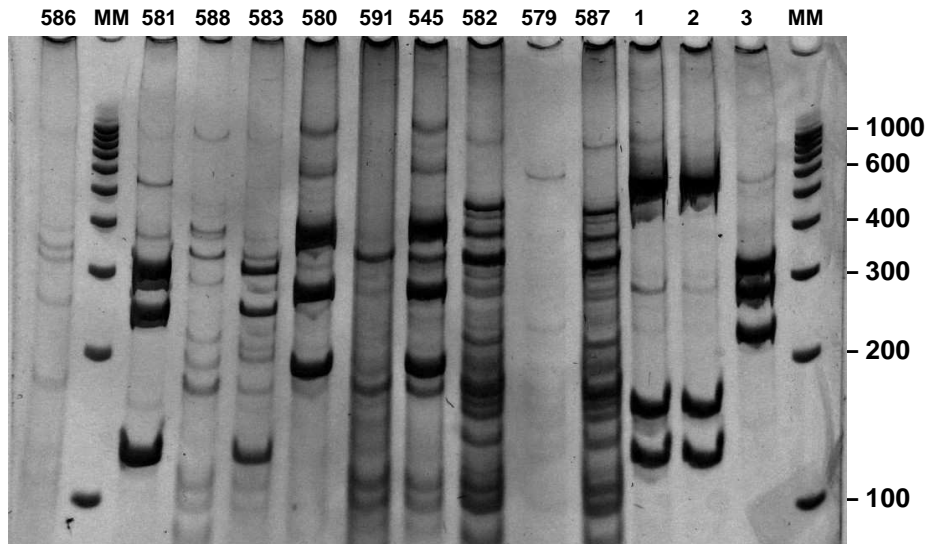
Twee varkens stierven vroegtijdig (590 en 592) en twee andere dieren werden geslacht vóór de leeftijd van twaalf maanden (580 en 589). Alle overige varkens werden aan het einde van de twaalf maanden durende studieperiode geslacht.

Tabel 3.1. Verdeling van de proefvarkens (n = 18) over de boeren in een longitudinale veldstudie naar porcine cysticercose in de oostelijke Terai van Nepal.

Varkenshouder	Locatie	Kaste	Varkens (geslacht)
1	Mrigauliya-3, Chaudhary Tole	Terai-Janajati	556 (M), 592 (M)
2	Mrigauliya-3, Jhagar Tole	Dalit	545 (M)
3	Mrigauliya-3, Jhagar Tole	Dalit	555 (M)
4	Mrigauliya-3, Jhagar Tole	Dalit	560 (M)
5	Mrigauliya-3, Jhagar Tole	Dalit	587 (M)
6	Mrigauliya-3, Ufrauliya	Heuvel-Janajati	579 (V), 582 (M), 585 (M)
7	Mrigauliya-3, Ufrauliya	Heuvel-Janajati	583 (V), 588 (M), 591 (M)
8	Itahari-7, Gaisar	Terai-Janajati	580 (V), 581 (V), 584 (V), 586 (M), 589 (M), 590 (M)

In tabel 3.2 wordt een overzicht gegeven van de maandelijkse serologische resultaten en de resultaten van de finale dissectie en PCR-RFLP. Veertien varkens vertoonden tijdens het verloop van de studie minstens één positief signaal (cumulatieve incidentie 77,8 per 100 varkens per jaar). De incidentie bedroeg 14 positieve gevallen per 100 varkensmaanden of, anders gezegd, een varken werd seropositief na gemiddeld 7,14 maanden. Opmerkelijk is dat twaalf van de veertien positieve dieren slechts één of twee opeenvolgende maanden positief waren, terwijl de twee overige een continue seropositiviteit vertoonden. Tevens waren drie varkens positief in de eerste maand van de studie, maar negatief in de volgende maand. De maandelijkse seroprevalentie varieerde tijdens de studieperiode van 5,6% (1/18, maand 2) tot 35,3% (6/17, maanden 7 en 8).

Aan het einde van de studie waren van zestien varkens dissectieresultaten beschikbaar. Bij vijf ervan werden geen cysticercen teruggevonden en bij acht andere werd materiaal verzameld dat bij PCR-RFLP-analyse een negatief of aspecifiek resultaat opleverde (figuur 3.1). Slechts drie van deze achttien negatieve dieren waren ook steeds seronegatief (555, 585 en 586), terwijl de vijftien overige dieren minstens één maand een positief signaal hadden vertoond. Bij drie varkens werden cysticercen aangetroffen op de lever en in de buikholte, waarvan bevestigd werd dat het om *T. hydatigena* ging (figuur 3.1). Twee hiervan hadden een continu positief antigeenresultaat vertoond (556 en 580), terwijl het derde dier enkel de eerste maand seropositief was (545).



Figuur 3.1. PCR-RFLP-patroon van de cysticercen verzameld bij de varkens opgenomen in de longitudinale veldstudie in de oostelijke Terai van Nepal. Banen 580 en 545 zijn indicatief voor *T. hydatigena* (staal 556 niet getoond), banen 581, 583, 582 en 587 zijn aspecifiek en banen 586, 588, 591 en 579 zijn negatief. MM duidt de moleculaire merkers aan en banen 1-2 en 3 zijn *T. saginata* respectievelijk *T. crassiceps* als positieve controles.

Tabel 3.2. Maandelijks serologische resultaten en finale dissectieresultaten van de achttien varkens die deel uitmaakten van de longitudinale veldstudie naar porciene cysticercose in de oostelijke Terai van Nepal (maart 2008 tot maart 2009).

Varken	B158/B60 Ag-ELISA-ratio ^a												Dissectie en PCR-RFLP
	Md1	Md2	Md3	Md4	Md5	Md6	Md7	Md8	Md9	Md10	Md11	Md12 ^b	
545	<u>2,50</u> **	0,60	0,58	0,46	0,49	0,56	0,58	0,67	0,77	0,83	0,65	0,10	<i>T. hydatigena</i> in lever
555	0,78	0,44	0,84	0,65	0,68	0,60	0,69	0,71	0,61	0,60	0,54	0,13	Autopsie negatief
556	0,73	0,81	<u>1,04</u> *	≥3 ***	≥3 ***	≥3 ***	≥3 ***	≥3 ***	≥3 ***	≥3 ***	≥3 ***	≥3 ***	<i>T. hydatigena</i> in buikholte
560	0,64	0,56	0,66	0,60	0,70	<u>1,23</u> *	0,64	≥3 ***	<u>1,11</u> *	0,53	0,99	0,15	Autopsie negatief
579	0,29	0,77	0,73	0,66	0,68	0,74	<u>1,36</u> **	0,62	0,74	0,67	0,62	0,32	PCR negatief
580	0,27	0,86	0,96	0,59	<u>2,00</u> **	≥3 ***	≥3 ***	≥3 ***	–	–	–	–	<i>T. hydatigena</i> in lever
581	0,74	0,77	0,72	0,76	<u>1,37</u> **	0,78	<u>2,02</u> **	0,67	0,59	<u>1,20</u> *	<u>1,16</u> *	0,16	PCR aspecifiek
582	0,50	0,90	0,85	0,65	0,65	0,73	0,61	<u>1,76</u> *	0,84	0,60	0,65	0,19	PCR aspecifiek
583	≥3 ***	0,68	0,79	0,58	0,54	0,57	≥3 ***	0,87	0,81	0,57	0,55	0,16	PCR negatief
584	0,68	<u>1,11</u> *	≥3 ***	0,72	0,49	0,56	0,61	0,59	0,51	0,57	0,60	0,43	Autopsie negatief
585	0,59	0,92	0,70	0,53	0,58	0,52	0,56	0,56	0,68	0,54	0,55	0,14	Autopsie negatief
586	0,62	0,62	0,58	0,58	0,50	0,60	0,58	0,71	0,76	0,56	0,52	0,51	PCR aspecifiek
587	0,63	0,58	0,87	<u>1,00</u> *	0,59	0,58	0,71	<u>1,61</u> **	0,54	0,46	0,52	0,06	PCR aspecifiek
588	0,43	0,68	<u>1,14</u> *	0,52	0,55	0,58	0,54	0,58	0,87	0,65	0,67	0,39	PCR negatief
589	<u>1,01</u> *	0,87	0,81	<u>1,04</u> *	0,74	0,77	0,99	0,82	0,83	<u>1,70</u> *	–	–	Autopsie negatief
590	0,90	0,75	0,70	0,74	0,64	0,62	0,62	<u>2,36</u> **	–	–	–	–	<i>Gestorven aan vergiftiging</i>
591	0,60	0,68	0,67	0,53	0,55	0,66	<u>1,81</u> *	0,58	0,64	0,54	0,50	0,06	PCR negatief
592	0,78	0,62	0,90	–	–	–	–	–	–	–	–	–	<i>Gestorven aan tetanus</i>
% positief	16,7	5,6	16,7	17,6	17,6	17,6	35,3	35,3	13,3	20,0	14,3	7,1	

^a Serumstalen met een ratio lager dan 1 waren negatief, stalen met een ratio tussen 1 en 1,2 werden beschouwd als licht positief (*), stalen met een ratio tussen 1,2 en 3 als positief (**) en stalen met een ratio hoger dan 3 als sterk positief (***).

^b De ratio's van de twaalfde maand waren gemiddeld lager wegens een relatief hogere *cut-off* in vergelijking met de vorige maanden.

3.3.2. Dwarsdoorsnedestudie

Van maart 2008 tot mei 2009 werd informatie verzameld van 144 patiënten die voldeden aan de criteria en toestemming gaven tot deelname aan de studie (tabel 3.3). Vierentachtig van hen waren mannen (58%) en 60 waren vrouwen (42%). Hun leeftijd varieerde van 1 tot 75 jaar en bedroeg gemiddeld 27,7 jaar. Ruim drie kwart van de patiënten behoorde tot de sociaaleconomisch best ontwikkelde kasten – de hogere hindoekasten, de heuvel-Janajati en de Newari. De Terai-Janajati en de Dalit maakten beiden ongeveer tien procent van de studiegroep uit en een minderheid van de patiënten was moslim. Van 66 patiënten (45,8%) was informatie beschikbaar over het type epilepsie. Twee derde van hen had primair gegeneraliseerde aanvallen, bijna een vijfde had eenvoudig partiële aanvallen en een beperkt aantal patiënten had status epilepticus, secundair gegeneraliseerde of complex partiële aanvallen.

Tabel 3.3. Kaste en type epilepsie van de patiënten (n = 144) opgenomen in de dwarsdoorsnedestudie naar NCC in het BPKIHS, Dharan, Nepal (maart 2008 tot mei 2009).

Parameter	Aantal	%
Kaste	144	100,0
Heuvel-Janajati	50	37,0
Hogere hindoekasten	44	32,6
Terai-Janajati	15	11,1
Dalit	14	10,4
Newari	8	5,9
Moslams	4	3,0
Andere	9	6,3
Type epilepsie	66	45,8
Primaire generalisatie	44	66,7
Eenvoudig partieel	13	19,7
Status epilepticus	5	7,6
Secundaire generalisatie	3	4,6
Complex partieel	1	1,5

Tabel 3.4 vat de serologische en radiografische resultaten samen van de epilepsiepatiënten opgenomen in deze studie. In totaal testte 16,0% van de patiënten positief met Ag-ELISA en 11,8% van de onderzochte patiënten had *T. solium*-specifieke antistoffen. Van 93 patiënten (64,6%) was er zowel een antigeen- als antistofresultaat beschikbaar. Hiervan waren er 19 (20,4%) antigeenpositief en 6 (6,45%) antigeennegatief maar antistofpositief. De serologische proportie NCC-gerelateerde epilepsiegevallen bedroeg hierdoor 24,3%. De helft van de patiënten onderging een CT- of MRI-scan, waarvan er 29 (40,3%) bevindingen vertoonden die indicatief waren voor NCC. Hierbij kwamen enkelvoudige en multipale laesies in gelijke mate voor (11/29; 37,9%) en werden verkalkte granulomen gezien bij bijna een kwart van de radiopositieve patiënten (7/29; 24,1%).

Tabel 3.4. Serologische en radiografische resultaten van de patiënten (n = 144) opgenomen in de dwarsdoorsnedestudie naar NCC in het BPKIHS, Dharan, Nepal (maart 2008 tot mei 2009).

Test	Aantal	%	Positief	%
Ag-ELISA	144	100,0	23	16,0
EITB	93	64,6	11	11,8
Beeldvorming	72	50,0	29	40,3
Enkelvoudige laesie	29	20,1	11	37,9
Multipele laesies	29	20,1	11	37,9
Verkalkt granuloom	29	20,1	7	24,1

De gemiddelde leeftijd van de antigeenpositieve epilepsiepatiënten bedroeg 27,0 jaar, terwijl negatieve patiënten gemiddeld 27,9 jaar oud waren ($P = 0,828$). Regressieanalyse toonde ook geen significant verschil aan tussen de geslachten, de kasten en de verschillende vormen van epilepsie. Een positieve antigeentest hield daarentegen wel op significante wijze verband met een positief EITB-testresultaat en een voor NCC indicatief beeldvormingsresultaat, hoewel er geen significant verschil werd gevonden tussen de verschillende radiografische bevindingen (tabel 3.5). In het multivariabele model met het beeldvormings- en EITB-testresultaat bleek een positieve antigeentest enkel significant geassocieerd te zijn met een NCC-indicatief beeldvormingsresultaat (tabel 3.6).

Tabel 3.5. Verband tussen het resultaat van de Ag-ELISA en het geslacht, de kaste, het type epilepsie en het resultaat van beeldvorming en antistofdetectie van de onderzochte epilepsiepatiënten (n = 144) aan de hand van enkelvoudige logistische regressie.

Parameter	Ag-positief (%)	Odds ratio (95%-BI) ^a	P-waarde
Geslacht			
Mannelijk	15/84 (17,9%)	<i>Referentie</i>	–
Vrouwelijk	8/60 (13,3%)	0,708 (0,279 – 1,795)	0,466
Kaste			
Heuvel-Janajati	6/50 (12,0%)	<i>Referentie</i>	–
Hogere hindoekasten	8/44 (18,2%)	1,630 (0,518 – 5,129)	0,404
Terai-Janajati	4/15 (26,7%)	2,667 (0,640 – 11,113)	0,221 ^b
Dalit	1/14 (7,1%)	0,564 (0,062 – 5,120)	1,000 ^b
Newari	1/8 (12,5%)	1,048 (0,109 – 10,062)	1,000 ^b
Moslims	1/4 (25,0%)	2,444 (0,218 – 27,452)	0,436 ^b
Type epilepsie			
Primaire generalisatie	9/44 (20,5%)	<i>Referentie</i>	–
Eenvoudig partieel	1/13 (7,7%)	0,324 (0,037 – 2,831)	0,426 ^b
Status epilepticus	1/5 (20,0%)	0,972 (0,096 – 9,799)	1,000 ^b
Secundaire generalisatie	0/3 (0,0%)	–	1,000 ^b
Complex partieel	0/1 (0,0%)	–	1,000 ^b

Beeldvorming

Negatief	3/43 (7,0%)	<i>Referentie</i>	–
Positief	9/29 (31,0%)	6,000 (1,461 – 24,640)	0,013
<i>Enkelvoudige laesie</i>	4/11 (36,4%)	<i>Referentie</i>	–
<i>Multipele laesies</i>	3/11 (27,3%)	0,656 (0,108 – 4,003)	1,000 ^b
<i>Verkalkt granuloom</i>	2/7 (28,6%)	0,700 (0,090 – 5,431)	1,000 ^b

EITB

Negatief	14/82 (17,1%)	<i>Referentie</i>	–
Positief	5/11 (45,5%)	4,047 (1,082 – 15,135)	0,044 ^b

^a 95%-BI = 95%-betrouwbaarheidsinterval

^b *P*-waarde berekend aan de hand van een tweezijdige *Fisher's exact test*

Tabel 3.6. Verband tussen de Ag-ELISA-ratio en het resultaat van beeldvorming en antistofdetectie van de onderzochte epilepsiepatiënten (n = 72; n = 93) op basis van multipele logistische regressie.

Parameter	<i>Odds ratio</i> (95%-BI) ^a	<i>P</i> -waarde
Beeldvorming		
Negatief	<i>Referentie</i>	–
Positief	9,643 (1,534 – 60,625)	0,016
EITB		
Negatief	<i>Referentie</i>	–
Positief	2,800 (0,361 – 21,727)	0,325

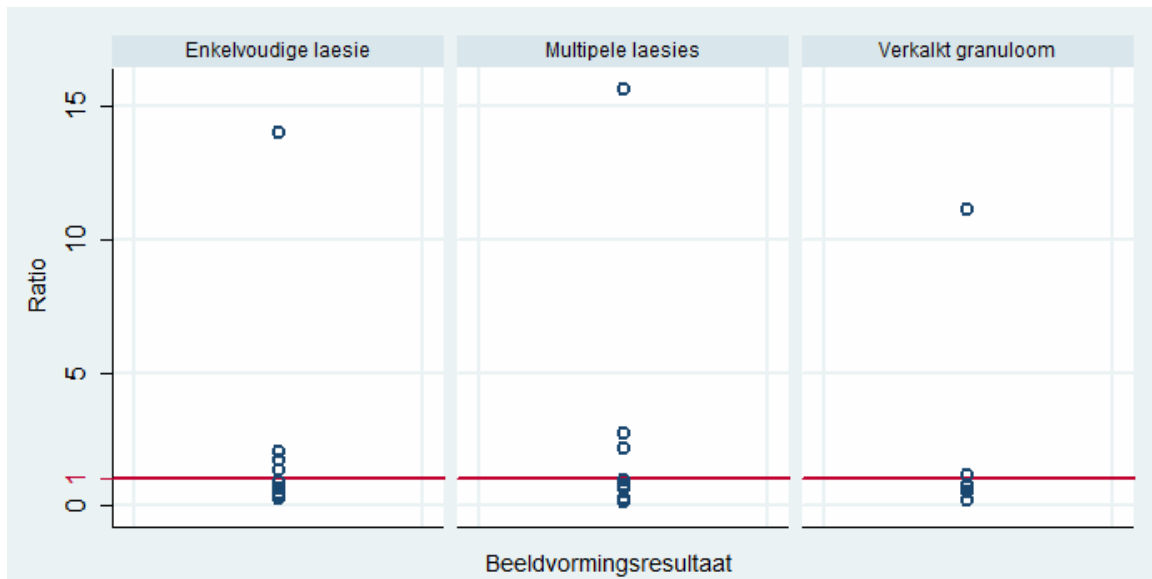
^a 95%-BI = 95%-betrouwbaarheidsinterval

De *skewness/kurtosis*-test toonde aan dat de Ag-ELISA-ratio normaal was verdeeld ($P < 0,001$). Patiënten met een voor NCC indicatief beeldvormingsresultaat bleken gemiddeld een significant hogere ratio te hebben dan patiënten met een negatief beeldvormingsresultaat. Er kon echter geen significant verschil worden gevonden in antigeenratio tussen de verschillende CT- of MRI-bevindingen (tabel 3.7). Uit figuur 3.2 blijkt bovendien dat hoge antigeenratio's voorkwamen bij zowel enkelvoudige, multipele als verkalkte laesies.

Tabel 3.7. Verband tussen de Ag-ELISA-ratio en het beeldvormingsresultaat van de onderzochte epilepsiepatiënten (n = 72) aan de hand van enkelvoudige lineaire regressie.

Parameter	Gemiddelde ratio	Regressiecoëfficiënt (95%-BI) ^a	<i>P</i> -waarde
Beeldvorming			
Negatief	0,547	<i>Referentie</i>	–
Positief	2,157	1,610 (0,379 – 2,841)	0,011
<i>Enkelvoudige laesie</i>	2,074	<i>Referentie</i>	–
<i>Multipele laesies</i>	2,237	0,164 (-3,631 – 3,958)	0,929
<i>Verkalkt granuloom</i>	2,163	0,045 (-1,999 – 2,089)	0,964

^a 95%-BI = 95%-betrouwbaarheidsinterval



Figuur 3.2. Ag-ELISA-ratio's van de epilepsiepatiënten met voor NCC indicatieve beeldvormingsbevindingen (n = 29). Stalen met een ratio hoger dan één waren positief.

Voor het patiënt-controle-onderzoek was een controlegroep beschikbaar van 39 personen die allen opgenomen waren in de pediatrie afdeling. De gemiddelde leeftijd bedroeg 7,3 jaar en de geslachtsverhouding was 2:1. Aangezien de controlegroep vastlag, werd een groep epilepsiepatiënten samengesteld met soortgelijke eigenschappen. Deze patiëntengroep bestond uit 44 individuen met een gemiddelde leeftijd van 8,3 jaar en een geslachtsverhouding van 1,6:1. In de controlegroep was één individu antigeenpositief (2,6%), terwijl in de patiëntengroep zeven individuen positief waren (15,9%). De *odds ratio* werd hierdoor berekend op 7,189 (95%-betrouwbaarheidsinterval 0,839 – 332,303) en het attributieve risico van de populatie op 13,7%.

3.4. Discussie

In de eerste studie van dit laatste hoofdstuk werd in Nepal voor het eerst getracht de incidentie van porcine cysticercose na te gaan onder veldomstandigheden. Hiervoor werden achttien één maand oude biggen verdeeld onder lokale varkenshouders en gedurende een periode van twaalf maanden grootgebracht met vrije uitloop. De dieren deden aldus dienst als verklikkers of *sentinels* voor een mogelijke omgevingscontaminatie met *T. solium*-eieren en gaven zo een indirect beeld van het risico dat de lokale bevolking loopt op cysticercose (Gonzalez et al., 1994). Het gebruik van *sentinel*-varkens om de incidentie van porcine cysticercose te bepalen werd tot dusver nog maar in een beperkt aantal studies toegepast. In Peru werd in een studieperiode van negen maanden op basis van antistofdetectie een cumulatieve incidentie van 55 gevallen per 100 dieren gevonden (Gonzalez et al., 1994). Ngowi en collega's (2008) berekenden in Tanzania een incidentie van 69 gevallen per 100 varkensjaren aan de hand van de B158/B60 Ag-ELISA. In tegenstelling tot deze studies werden de varkens in onze studie maandelijks serologisch opgevolgd, zodat ook de kinetiek van circulerende antigenen onder veldomstandigheden kon worden bestudeerd.

De resultaten van de finale dissectie en de speciesbepaling van het verzamelde materiaal toonden echter aan dat onze studie er niet in geslaagd is de vooropgestelde doelstellingen te verwezenlijken. Bij drie van de achttien *sentinel*-varkens werd aan het einde van de studie namelijk *T. hydatigena* teruggevonden, terwijl geen enkel varken geïnfecteerd bleek te zijn met *T. solium* cysticercen. Dit kan er vermoedelijk op wijzen dat er in de geselecteerde locaties geen actieve transmissie plaatsvond van *T. solium*, wat ondersteund wordt door de bevindingen uit het tweede hoofdstuk van deze masterproef, waarin geen lintwormdragers geïdentificeerd konden worden in Mrigauliya. Ook werden in de stoelgang van de varkenshouders geen lintwormeieren teruggevonden (resultaten niet weergegeven). Een andere mogelijke verklaring zou echter zijn dat *T. hydatigena* in deze plaatsen een selectief voordeel zou hebben ten opzichte van *T. solium* (Conlan et al., 2009). In Mrigauliya en Itahari hadden honden, de enige eindgastheren van *T. hydatigena*, namelijk de mogelijkheid om vrij rond te lopen en te defeceren in de nabije omgeving van de varkens. Net als op de meeste plaatsen in Nepal werden varkens en herkauwers, de tussengastheren van *T. hydatigena*, geslacht zonder veterinaire toezicht (Joshi et al., 2003), waardoor honden gemakkelijk toegang hadden tot slachtafval en eventuele cysticercen. Zoals aangetoond in het vorige hoofdstuk van deze masterproef waren in Mrigauliya de risicofactoren voor *T. solium* taeniose daarentegen in mindere mate aanwezig. Mogelijk ontstond hierdoor een relatief grotere omgevingscontaminatie met *T. hydatigena*-eieren, waardoor *C. tenuicollis* zich preferentieel kon ontwikkelen ten koste van *C. cellulosae*.

Deze studie heeft aangetoond dat kruisreacties een reëel probleem kunnen vormen bij antigeendetectietests voor de diagnose van *T. solium* cysticercose. Het was dan ook niet mogelijk besluiten te trekken over de incidentie of de kinetiek van *C. cellulosae*-antigenen. Aangezien *C. tenuicollis* zich op de serosa van de lever of in de buikholte bevindt, eventueel vastgehecht aan het omentum of het mesenterium (Wilson, 2005), kan de cysticerc geleidelijk in volume toenemen en aanleiding geven tot hoge antigeenconcentraties, wat zich uit in een hoge Ag-ELISA-ratio, zoals blijkt uit de resultaten van varkens 556 en 580. In een vorige studie werd bij 401 slachtvarkens in de Kathmanduvlei aan de hand van de B158/B60 Ag-ELISA een prevalentie gevonden van 18,2% (Devleeschauwer, 2009). Bij nadere inspectie van de ELISA-resultaten blijkt dat 38 van de 73 positieve stalen (52,1%) een ratio hadden die hoger was dan 3. Indien wordt aangenomen dat deze gevallen effectief vals positief waren – er werd bij karkasinspectie namelijk nooit een massale infestatie met *C. cellulosae* vastgesteld, dan zou dit betekenen dat de prevalentie van *T. solium* cysticercose slechts 8,7% zou bedragen. De reden waarom in onze huidige studie het derde *T. hydatigena*-positieve varken (545) buiten de eerste maand geen positief signaal vertoont, is echter niet duidelijk, hoewel menselijke fouten hierbij niet uit te sluiten zijn.

Een andere belangrijke bevinding in deze studie is het frequente voorkomen van tijdelijk positieve reacties. Slechts twee varkens vertoonden een continue positieve antigeentest, terwijl de twaalf overige positieve dieren één of maximum twee opeenvolgende maanden positief reageerden. Volgens Deckers et al. (2008) zouden deze tijdelijke antigeenresponsen te wijten zijn aan het voortijdig afsterven van zich ontwikkelende cysticercen, die toch al antigeen kunnen vrijstellen. Het frequente

voorkomen van dit fenomeen in onze veldstudie in vergelijking met experimentele infectieproeven zou mogelijk te verklaren zijn door een lage graad van omgevingscontaminatie met *Taenia*-eieren, waardoor een frequente maar beperkte infectie zou optreden, die echter onvoldoende sterk is om het immuunsysteem volledig te omzeilen. In welke mate dit fenomeen als een soort van natuurlijke vaccinatie een invloed zou hebben op de immunrespons van de dieren, is nog onduidelijk, hoewel uit onze resultaten blijkt dat de helft van de tijdelijk positieve dieren nadien geen positief signaal meer vertoonde. Een gevolg van deze redenering is echter ook dat onder veldomstandigheden een positief antigeenresultaat niet noodzakelijk bewijst dat het varken infectieuze cysticercen in zich draagt en een risico vormt, wat de interpretatie van prevalentiestudies bijkomend bemoeilijkt. Verder vertoonden verschillende varkens in onze studie een positieve reactie in de eerste maand van staalname. Het is aangetoond dat biggen al vanaf twee weken na infectie een positieve reactie kunnen vertonen (Nguekam et al., 2003a; Deckers et al., 2008), maar de mogelijkheid op vals positieve reacties valt ook hier niet uit te sluiten. Een andere hypothese zou de overdracht van maternale antigenen zijn, hoewel dit in tegenstelling tot de passieve transfer van maternale antistoffen (Gonzalez et al., 1999) nog nooit is aangetoond voor cysticercose.

De tweede studie van dit laatste hoofdstuk had als doel de proportie NCC-positieve epilepsiepatiënten na te gaan in Nepal. De serologische proportie NCC-patiënten zou volgens Zoli et al. (2003) en Praet et al. (2009) kunnen worden bepaald door de som te maken van de proportie antigeenpositieve patiënten en 60% van de proportie patiënten die enkel antistofpositief waren. In onze studie werd de serologische proportie derhalve berekend als 24,3%. De berekening van Zoli et al. (2003) is gebaseerd op de bevindingen van Garcia et al. (2001), die aantoonde dat ongeveer 40% van de antistofpositieve personen na één tot drie jaar opnieuw seronegatief werd, wat werd toegeschreven aan een voorbijgaande antistofrespons na blootstelling aan *T. solium*-eieren zonder verdere ontwikkeling of aan een vroegtijdig afsterven van ontwikkelde cysticercen. Hierbij wordt echter voorbijgegaan aan het feit dat ook antigeendetectie vals positieve resultaten kan opleveren en dat in beide tests ook vals negatieve resultaten mogelijk zijn. Beide tests kunnen bovendien geen onderscheid maken tussen de verschillende mogelijke locaties van de cysticercen, en leveren dus niet noodzakelijk een bewijs van neurocysticercose. De betrouwbaarheid van deze eenvoudige berekening kan dan ook sterk in vraag worden gesteld. In ons patiënt-controle-onderzoek werd bijkomend berekend dat 13,7% van de epilepsiegevallen in de populatie gelinkt zou zijn aan de aanwezigheid van circulerende antigenen. Hoewel deze benadering voorheen reeds werd gebruikt om op basis van serologische resultaten de proportie van NCC-gerelateerde epilepsiegevallen te bepalen (Carabin et al., 2006; Secka et al., 2010), is het duidelijk dat de vermelde beperkingen van serologisch onderzoek ook hier blijven gelden. Tot dusver bestaat er nog geen duidelijke werkwijze om serologische resultaten te gebruiken voor de diagnose van NCC of de het bepalen van de proportie NCC-positieve epilepsiepatiënten, wat huidig epidemiologisch onderzoek sterk kan limiteren.

Uit de resultaten van de CT- en MRI-scans bleek dat 40,3% van de onderzochte patiënten verdacht was van NCC. De grote discrepantie tussen de radiografische en serologische proporties kan worden

verklaard door de hoger beschreven beperkingen van de gebruikte berekeningen, maar vermoedelijk ook door *selection bias* en vals positieve beeldvormingsresultaten. Slechts de helft van de patiënten heeft namelijk een CT- of MRI-scan ondergaan, waarbij het niet duidelijk was wat de beslissingscriteria daarvoor waren. Verder zijn foutieve interpretaties door de radioloog niet uit te sluiten, aangezien het verschil tussen neoplasieën, tuberculoma's, schimmelgranulomen, hydatide cysten en NCC niet steeds gemakkelijk te maken is (Garg, 2004). Ten slotte is het ook belangrijk te vermelden dat de diagnose van NCC, zij het serologisch of radiografisch, niet noodzakelijk bewijst dat dit de oorzaak is van de epileptische aanvallen. Verder onderzoek is echter nodig om het belang hiervan te kunnen inschatten.

De resultaten van deze dwarsdoorsnedestudie werden vervolgens gebruikt om het verband te bestuderen tussen een positieve antigeendetectietest en verschillende sociologische en klinische parameters. Hierbij werd geen significant verschil gevonden tussen de geslachten, de leeftijden en de kasten waartoe de patiënten behoorden. Ook bleek een positief resultaat geen verband te houden met een bepaald type epilepsie. Dit is opmerkelijk, aangezien wordt vermoed dat cysticercen voornamelijk partiële aanvallen, al dan niet met secundaire generalisatie, zouden veroorzaken (Takayanagui en Odashima, 2006). Naast de mogelijke problemen die kunnen optreden bij de antigeendetectietest, kan dit ook verklaard worden door misclassificaties door de behandelende artsen of door toevalseffecten, aangezien het type epilepsie slechts gekend was voor een beperkt aantal patiënten. Net als in de studie van Prado-Jean et al. (2007) werd in onze studie wel een sterk verband gevonden tussen een positieve antigeendetectietest en een voor NCC indicatief radiologisch beeld, maar niet tussen het resultaat van de antigeen- en antistofdetectietest. Dit zou kunnen worden toegeschreven aan de hogere gevoeligheid van de B158/B60 Ag-ELISA voor de detectie van enkelvoudige laesies in vergelijking met de EITB en de lagere gevoeligheid ervan voor de detectie van gedegeneerde en verkalkte cysticercen (Dorny et al., 2003). In onze studie werd echter zowel op basis van de binaire uitkomst van de Ag-ELISA als op basis van de Ag-ELISA-ratio geen significant verschil aangetoond tussen de verschillende beeldvormingsbevindingen. Een gebrek aan informatie over het exacte stadium van de cysticercen, samen met toevalseffecten wegens een te kleine steekproef, hebben hier vermoedelijk een rol bij gespeeld.

In ons patiënt-controle-onderzoek werd ten slotte berekend dat epilepsiepatiënten een ruim zeven maal hogere *odds* hebben op een positief antigeenresultaat dan personen zonder epilepsie. Prado-Jean et al. (2007) vonden met dezelfde Ag-ELISA in een meer uitgebreide studie uitgevoerd in Burundi een *odds ratio* voor seropositiviteit van 2,9 (95%-betrouwbaarheidsinterval 2,1 – 4,3). Hoewel de prevalentie van epilepsie in beide studiepogingen laag werd geacht (< 10%), kunnen de berekende *odds ratios* toch nog steeds een beduidende overschatting zijn van de relatieve risico's – die wegens de aard van de studies niet berekend konden worden, en mogen zij dan ook niet als dusdanig worden geïnterpreteerd.

3.5. Conclusies en aanbevelingen

Hoewel antigeendetectie een interessante bron van informatie kan zijn voor epidemiologisch en klinisch onderzoek, is het gebruik van de huidige tests onder praktijkomstandigheden toch niet steeds eenvoudig. Kruisreacties kunnen namelijk een reële bron van misinterpretaties zijn, ook al wordt hier in vele studies tegenwoordig nog maar weinig rekening mee gehouden. Daarnaast blijken ook tijdelijk positieve resultaten onder veldomstandigheden de interpretatie van de testresultaten te bemoeilijken. In epidemiologische studies moeten de resultaten dan ook worden geïnterpreteerd met een kritische geest, gebaseerd op de verschillende mogelijke vals positieve en vals negatieve resultaten, en worden verwerkt met de geschikte statistische modellen, zoals de Bayesiaanse. Antigeendetectie kan verder ook een nuttig hulpmiddel zijn onder klinische omstandigheden, hoewel in onze studie geen verband kon worden aangetoond tussen het antigeenniveau en het aantal cysticercen of hun locatie. Een positief resultaat bleek indicatief te zijn voor NCC en epilepsie, maar niet conclusief.

Om de huidige moeilijkheden te verhelpen, is er nood aan tests met een verhoogde specificiteit en gevoeligheid die een onderscheid kunnen maken tussen intra- en extraneuronale cysticercose en tevens een aanduiding kunnen geven van het stadium van de cysticercen. Verder dienen statistische methoden te worden ontwikkeld om een betere interpretatie van de antigeendetectieresultaten mogelijk te maken, afhankelijk van het doel waarvoor de test werd gebruikt – de detectie van actieve cysticercose, neurocysticercose of NCC-gerelateerde epilepsie.

ALGEMENE DISCUSSIE EN CONCLUSIES

Een van de uitgangspunten van deze masterproef was het gebrek aan eenduidige informatie over het belang van de varkenslintworm in Nepal. De verschillende studies die we uitgevoerd hebben, tonen aan dat *Taenia solium* cysticercose een reëel probleem vormt in dit land, maar dat het belang ervan misschien wordt overschat door de huidige literatuur. Bij grondige evaluatie van de beschikbare cijfers bleek namelijk dat deze niet steeds vrij waren van diagnostische problemen, *selection bias* of statistische onvolkomenheden. Anderzijds bleek uit onze studies ook dat het risico op transmissie van *T. solium* verschilt naar gelang van de kaste en dat het vooral de lagere kasten zijn die gepredisposeerd zijn. Aangezien het directe contact met lintwormdragers als voornaamste bron van infectie wordt beschouwd, kan worden vermoed dat ook neurocysticercose relatief vaker zou voorkomen bij deze bevolkingsgroepen. Door hun lagere sociaaleconomische status hebben zij echter minder toegang tot ziekenhuiszorgen, waardoor zij minder vaak zullen voorkomen in ziekenhuisgegevens en hun situatie dus langer verborgen en verwaarloosd kan blijven. Daarnaast leveren zij ook een belangrijke bijdrage aan de algemene omgevingscontaminatie, waardoor zij dus een belangrijke doelgroep vormen voor controleprogramma's. Er is dan ook nood aan eerlijke en statistisch correcte studies om de broodnodige basisgegevens te genereren die de basis kunnen vormen voor talrijke secundaire studies, zoals impactbepalingen en controlestudies. Een verbeterde DALY-berekening kan het bovendien mogelijk maken om op termijn een globaal beeld te krijgen van de impact van deze parasiet.

Naast de gegevens die specifiek van toepassing zijn op Nepal, werden in deze masterproef ook verschillende hypothesen gegenereerd over de epidemiologie van de varkenslintworm in het algemeen. In meerdere studies werd gewezen op de mogelijke interactie tussen de verschillende *Taenia*-species, een fenomeen dat tot dusver nog maar weinig is bestudeerd. Kruisreacties zijn echter een gekend verschijnsel bij serologische tests, waardoor het bestaan van een zekere graad van kruisimmunitet zeker niet ondenkbaar is. Uit onze longitudinale studie naar porcine cysticercose bleek daarnaast de tijdelijke circulatie van cysticercantigenen relatief frequent voor te komen. Indien wordt aangenomen dat dit veroorzaakt wordt door een vroegtijdig afgebroken ontwikkeling van cysticercen, dan rijst de vraag of dit ook een invloed zou hebben op de immunstatus van de dieren onder veldomstandigheden. Een beperkte omgevingscontaminatie zou dan namelijk dienst kunnen doen als een soort van natuurlijke vaccinatie. Ten slotte werd ook nog de mogelijkheid geopperd van de passieve transfer van lintwormantigenen, wat de interpretatie van antigeendetectie bijkomend zou bemoeilijken. Het verdient aanbeveling deze hypothesen te onderzoeken onder verschillende omstandigheden, aangezien de epidemiologie van de varkenslintworm sterk kan verschillen naar gelang van de continenten. Hoewel het zwaartepunt van het wetenschappelijke onderzoek naar *T. solium* zich in Latijns-Amerika bevindt, mogen de culturele en sociale verschillen tussen de bevolkingen, de verschillende mogelijke lintwormspecies en de genetische variabiliteit binnen dezelfde species namelijk niet uit het oog verloren worden.

Tot slot maakte deze masterproef het ook duidelijk dat het onderzoek naar de varkenslintworm momenteel nog gelimiteerd wordt door een gebrek aan verfijnde hulpmiddelen. Uit elke studie kwam naar voor dat de huidige antigeendetectietests onvoldoende specifiek zijn om een eenvoudige interpretatie van de resultaten mogelijk te maken. De ideale test kan het onderscheid maken tussen de verschillende lintwormspecies en kan tevens een idee geven van het stadium van de cysticercen en hun locatie. Zolang deze test echter nog niet bestaat, moeten onderzoekers rekening houden met de beperkingen van de huidige tests, wat jammer genoeg niet steeds gebeurt. Tevens kan worden opgemerkt dat ook de EITB, die als referentietest wordt beschouwd voor antistofdetectie, toch met de nodige omzichtigheid moet worden toegepast, aangezien er maar weinig informatie bestaat over mogelijke kruisreacties met andere lintwormspecies. Verder is er nood aan een duidelijk statistisch kader voor de interpretatie van serologische resultaten, aangepast aan het doel waarvoor de tests gebruikt werden. De Bayesiaanse statistiek biedt hierbij het meeste potentieel, zoals reeds is aangetoond in studies naar de bepaling van testkarakteristieken en prevalenties. Tot slot kunnen alle nieuwe inzichten in de epidemiologie van de varkenslintworm gebruikt worden om meer verfijnde transmissiemodellen op te stellen, die dan gebruikt kunnen worden om de resultaten van prevalentie- en incidentiestudies te evalueren of om het effect van mogelijke controleprogramma's te voorspellen. Hoewel er momenteel nog maar weinig aandacht aan wordt geschonken, zijn wij van mening dat modellering een belangrijk onderdeel kan worden van het onderzoek naar de varkenslintworm en dat het op termijn een belangrijke bijdrage kan leveren aan de controle ervan.

DANKWOORD

Drie jaar geleden stapte ik na een les parasitologie naar professor Vercruyse met de vraag of ik misschien zou kunnen meewerken aan een van zijn projecten in het buitenland. Voorheen was ik al tweemaal in Nepal geweest, en dat was voldoende om doorverwezen te worden naar professor Dorny en bijgepraat te worden over de varkenslintworm in Nepal en India. Toen was de wereld van de parasitologie nog onbekend terrein voor mij, maar na ruim zes maanden tussen de wormen kon ik niet anders dan gefascineerd te geraken door al die mooie reisgenoten. Bedankt om mij deze kans te geven en bedankt voor het vertrouwen dat jullie al die tijd in mij hebben gehad! Dit onderzoek was de mooiste periode uit mijn universitaire loopbaan, en de nachtmerries over lintwormen heb ik er dan ook met plezier bijgenomen.

Professor Dorny, voor u wil ik nog enkele afzonderlijke woorden van dank uitspreken. Ik kon altijd bij u terecht voor hulp en nuttige adviezen en u stond altijd klaar om te luisteren naar mijn soms vreemde ideeën. Ik heb u leren kennen als een onderzoeker die niet uit het oog verliest wie de mensen zijn over wie zijn onderzoek gaat, en dat heb ik altijd heel erg geapprecieerd.

Zonder centen geen vliegtickets, dus ook een woordje van dank aan VLIR, BIOS en het Floribert Jurionfonds, die dit mee mogelijk gemaakt hebben!

Dankzij deze masterproef heb ik veel kunnen bijleren, maar ook veel nieuwe mensen leren kennen. Ik heb mijn eerste voetstappen kunnen zetten in het Instituut voor Tropische Geneeskunde, waar de koffie altijd klaar stond voor mij. Bjorn, Anke, Inne en co, bedankt voor de leuke labomomenten, bedankt om me bij te leren en me te begeleiden en bedankt voor al het werk dat jullie gedaan hebben! Nicolas, jij hebt me alles geleerd over de DALY's, en dat heeft heel veel van je tijd gekost. Bedankt voor al de moeite die je hebt willen doen! Niko, ook jou wil ik graag bedanken voor al de statistische en epidemiologische wijsheid die je met mij gedeeld hebt. Ook in de UGent heb ik op de goedheid van de mensen kunnen rekenen. Bruno, bedankt voor me te introduceren in de wereld van de protozoa. Bart, bedankt om altijd zo snel op mijn statistische vragen te antwoorden.

In Nepal ben ik drie jaar op rij gastvrij ontvangen door Dr. Joshi en zijn NZFHRC. Als ik mijn (overvloedig) bord rijst weer maar eens niet volledig kon opeten, dan werd ik meteen omringd door bezorgde blikken en maakten Pruna en Meena zich klaar om pannenkoeken of andere "*fastfood*" klaar te maken voor mij. Tej en Keshab, zonder jullie zou er geen enkele vragenlijst ingevuld zijn, en ik ben dan ook heel dankbaar voor jullie hulp! Arjun, je hebt me heel wat bijgeleerd over hoe het er in Nepal echt aan toegaat, en je hebt me overtuigd van de mogelijkheden die er zijn. Samen met Kabita, Minu, Indira en Deepak hebben we er geprobeerd het beste van te maken, en daar ben ik iedereen dankbaar voor. De omstandigheden waren zeker niet altijd optimaal, maar misschien net daardoor was mijn werk in Nepal zo'n grote verrijking.

Meena, jij was altijd veel meer voor mij dan gewoon een collega. Je zorgde voor mij als een echte zus en ik kon altijd op je rekenen, ware het voor een fijne babbel dan wel voor een portie rijst als ik weer maar eens geen zin had om zelf te koken. Hopelijk kan ik jou en Prasamsha nog vaak terugzien en kan ik zien hoe mijn nichtje opgroeit onder de Nepalese zon.

Dit werk zou niet mogelijk geweest zijn zonder de medewerking van de artsen van het BPKIHS, en ik wil dan ook mijn dank betuigen aan Murari Barakoti, Subodh Sharma en Suman Rijal. Basanta Pant, bedankt om me te laten zien wat neurocysticercose echt is! Ook zou ik alle mensen van Itahari Medical Hall, en Saroj en Binod in het bijzonder, van harte willen bedanken voor hun hulp!

Dankzij mijn onderzoek heb ik ook heel wat andere bijzondere mensen leren kennen. Een groot deel hiervan waren pubers, dronkaards en “*half-minds*”. Shyam, bedankt om die rond me weg te houden tijdens mijn dagelijkse bord “*chicken fried rice*”! Santosh, bedankt om samen met mij de dode momenten te vullen, om me te trakteren op een “*special lassi*” en om me te laten zien wat er allemaal te verkrijgen is in “*Gorkha department store*”!

Anne, Laurent, Lien en Lowiese, jullie waren er bij van in het begin, en ik heb altijd op jullie kunnen blijven rekenen. Bedankt om me gezelschap te houden en de soms (?) saaie lessen wat aangenamer te maken!

Mama en papa, jullie zijn me altijd blijven steunen, en daarvoor zal ik je eeuwig dankbaar zijn. Jullie hebben de afgelopen zes jaar heel wat geïnvesteerd in mij – geld, tijd en energie – en als dank daarvoor heb ik het grootste deel van mijn vrije tijd aan de andere kant van de wereld doorgebracht. Ik weet dat dit niet altijd gemakkelijk was voor jullie, maar ik hoop dat je gelukkig kunt zijn door te weten dat ik hierdoor mijn geluk heb gevonden. Stijn, heel erg bedankt voor al de moeite die je hebt gedaan voor mij. Yasmine kan zich geen betere vader voorstellen, en ik mij geen betere broer!

बीमला, तिम्रो प्रेम, तिम्रो हाँसो र तिम्रो अँगालो म धेरै गुन मान्छु । म तिमीलाइ सधैंको लागि माया गर्छु ।

REFERENTIES

- Abington J.B. (1992). The role of monogastric and small stock. In: Sustainable Livestock Production in the Mountain Agro-Ecosystem of Nepal, FAO Animal Production and Health Paper 105, Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome, p. 111-130.
- Allan J.C., Wilkins P.P., Tsang V.C., Craig P.S. (2003). Immunodiagnostic tools for taeniasis. *Acta Tropica* 87 (1), 87-93.
- Allan J.C., Craig P.S. (2006). Coproantigens in taeniasis and echinococcosis. *Parasitology International* 55, 75-80.
- Anand S., Hanson K. (1997). Disability-adjusted life years: a critical review. *Journal of Health Economics* 16, 685-702.
- Berkvens D., Speybroeck N., Praet N., Adel A., Lesaffre E. (2006). Estimating disease prevalence in a Bayesian framework using probabilistic constraints. *Epidemiology* 17, 145-153.
- Bern C., Garcia H.H., Evans C., Gonzalez A.E., Verastegui M., Tsang V.C.W., Gilman R.H. (1999). Magnitude of the disease burden from neurocysticercosis in a developing country. *Clinical Infectious Diseases* 29, 1203-1209.
- Bonita R., Beaglehole R., Kjellström T. (2006). Basic Epidemiology, 2nd edition. World Health Organization Press, WHO, Geneva, Switzerland, pp. 212.
- Brandt J.R.A., Geerts S., De Deken R., Kumar V., Ceulemans F., Brijs L., Falla N. (1992). A monoclonal antibody based ELISA for the detection of circulating excretory-secretory antigens in *Taenia saginata* cysticercosis. *International Journal for Parasitology* 22, 471-477.
- Carabin H., Krecek R.C., Cowan L.D., Michael L., Foyaca-Sibat H., Nash T., Willingham A.L. (2006). Estimation of the cost of *Taenia solium* cysticercosis in Eastern Cape Province, South Africa. *Tropical Medicine and International Health* 11 (6), 906-916.
- Carabin H., Milogo A., Praet N., Hounton S., Tarnagda Z., Ganaba R., Dorny P., Nitiéma P., Cowan L.D., Évaluation du Fardeau Économique de la Cysticercose au Burkina Faso (2009). Seroprevalence to the antigens of *Taenia solium* cysticercosis among residents of three villages in Burkina Faso: a cross-sectional study. *PLoS Neglected Tropical Diseases* 3 (11), e555.
- Castillo Y., Rodriguez S., García H.H., Brandt J., Van Hul A., Silva M., Rodriguez-Hidalgo R., Portocarrero M., Melendez D.P., Gonzalez A.E., Gilman R.H., Dorny P., for the Cysticercosis Working Group in Perú (2009). Urine antigen detection for the diagnosis of human neurocysticercosis. *The American Society of Tropical Medicine and Hygiene* 80 (3), 379-383.
- CBS (2001). National Report 2001, VDC wise population and household numbers. Central Bureau of Statistics, Thapathali, Kathmandu, Nepal. Internetreferentie: [http://www.cbs.gov.np/Population/National Report 2001/VDC.pdf](http://www.cbs.gov.np/Population/National%20Report%202001/VDC.pdf)
- CBS (2003a). Population Monograph of Nepal, 2003, Chapter 2: Population size, Growth and Distribution. Central Bureau of Statistics, Thapathali, Kathmandu, Nepal. Internetreferentie: [http://www.cbs.gov.np/Population/Monograph/Chapter 02 Population Size Growth and Distribution.pdf](http://www.cbs.gov.np/Population/Monograph/Chapter%20Population%20Size%20Growth%20and%20Distribution.pdf)
- CBS (2003b). Population Monograph of Nepal, 2003, Chapter 3: Social Composition of the Population, Caste/Ethnicity and Religion in Nepal. Central Bureau of Statistics, Thapathali, Kathmandu, Nepal. Internetreferentie: [http://www.cbs.gov.np/Population/Monograph/Chapter 03 Social Composition of the Population.pdf](http://www.cbs.gov.np/Population/Monograph/Chapter%20Social%20Composition%20of%20the%20Population.pdf)
- CBS (2006). Agriculture Monograph, 2006. Central Bureau of Statistics, Thapathali, Kathmandu, Nepal. Internetreferentie: http://www.cbs.gov.np/agriculture_monograph.php

- Conlan J.V., Vongxay K., Fenwick S., Blacksell S.D., Thompson R.C.A. (2009). Does interspecific competition have a moderating effect on *Taenia solium* transmission dynamics in Southeast Asia? *Trends in Parasitology* 25 (9), 398-403.
- Cox T. (1994). The current socioeconomic status of untouchables in Nepal. *Occasional Papers in Sociology and Anthropology* 4, 90-109.
- Deckers N., Kanobana K., Silva M., Gonzalez A.E., Garcia H.H., Gilman R., Dorny P. (2008). Serological responses in porcine cysticercosis: a link with the parasitological outcome of infection. *International Journal for Parasitology* 38 (10), 1191-1198.
- Deckers N., Saerens D., Kanobana K., Conrath K., Victor B., Wernery U., Vercruyse J., Muyldermans S., Dorny P. (2009). Nanobodies, a promising tool for species-specific diagnosis of *Taenia solium* cysticercosis. *International Journal for Parasitology* 39 (5), 625-633.
- Deckers N., Dorny P. (2010). Immunodiagnosis of *Taenia solium* taeniosis/cysticercosis. *Trends in Parasitology* 26 (3), 137-144.
- DeGiorgio C.M., Houston I., Oviedo S., Sorvillo F. (2002). Deaths associated with cysticercosis: report of three cases and review of the literature. *Neurosurgical Focus* 12 (6), e2.
- Devleeschauwer B. (2009). Seroprevalentie van cysticercose bij slachtvarkens in de Kathmanduvallei, Nepal. Studieproject in het kader van de Masterproef, Faculteit Diergeneeskunde, Universiteit Gent, pp. 16.
- Dhaubhadel T.S., Ghimire R.P. (2002). Chwanche and Hurra for livelihood of pig farmers. In: Annual Technical Report 2059/2060. Swine and Avian Research Programme, National Agricultural Research Council, Khumaltar, Lalitpur, Nepal, p. 24-33.
- Ding D., Hong Z., Wang W.-Z., Wu J.-Z., De Boer H.M., Prilipko L., Sander J.W. (2006). Assessing the disease burden due to epilepsy by disability adjusted life year in rural China. *Epilepsia* 47 (12), 2032-2037.
- DoHS (2004). Annual Report 2060/61 (2003/2004). Department of Health Services, Ministry of Health and Population, Government of Nepal, Kathmandu, Nepal.
- DoHS (2006). Annual Report 2062/63 (2005/2006). Department of Health Services, Ministry of Health and Population, Government of Nepal, Kathmandu, Nepal.
- DoHS (2008). Annual Report 2064/65 (2007/2008). Department of Health Services, Ministry of Health and Population, Government of Nepal, Kathmandu, Nepal.
- Dorny P., Vercammen F., Brandt J., Vansteenkiste W., Berkvens D., Geerts S. (2000). Sero-epidemiological study of *Taenia saginata* cysticercosis in Belgian cattle. *Veterinary Parasitology* 88, 43-49.
- Dorny P., Brandt J., Zoli A., Geerts S. (2003). Immunodiagnostic tools for human and porcine cysticercosis. *Acta Tropica* 87, 79-86.
- Dorny P., Phiri I.K., Vercruyse J., Gabriel S., Willingham III A.L., Brandt J., Victor B., Speybroeck N., Berkvens D. (2004). A Bayesian approach for estimating values for prevalence and diagnostic test characteristics of porcine cysticercosis. *International Journal for Parasitology* 34, 569-576.
- Dorny P., Praet N., Deckers N., Gabriel S. (2009). Emerging food-borne parasites. *Veterinary Parasitology* 163, 196-206.
- Draelants E., Hofkens E., Harding E., Brandt J., Geerts S. (1995). Development of a dot-enzyme immunoassay for the detection of circulating antigen in cattle infected with *Taenia saginata* cysticerci. *Research in Veterinary Science* 58, 99-100.
- Eom K.S., Jeon H.-K., Rim H.-J. (2009). Geographical distribution of *Taenia asiatica* and related species. *Korean Journal of Parasitology* 47, 115-124.
- Erhart A., Dorny P., De N.V., Vien H.V., Thach D.C., Toan N.D., Cong L.D., Geerts S., Speybroeck N., Berkvens D., Brandt J. (2002). *Taenia solium* cysticercosis in a village in northern Viet Nam:

- seroprevalence study using an ELISA for detecting circulating antigen. Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene 96, 270-272.
- Espindola N.M., Vaz A.J., Pardini A.X., Fernandes I. (2002). Excretory/secretory antigens (ES) from in-vitro cultures of *Taenia crassiceps* cysticerci, and use of an anti-ES monoclonal antibody for antigen detection in samples of cerebrospinal fluid from patients with neurocysticercosis. Annals of Tropical Medicine and Parasitology 96, 361-368.
- FAO (2003). Nepal Agricultural Policy and Strategies for Poverty Alleviation and Food Security, June 2003. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Kathmandu, Nepal. Internetreferentie: <http://www.fao.org/docrep/008/ae898e/ae898e00.htm>
- Fleury A., Hernández M., Avila M., Cárdenas G., Bobes R.J., Huerta M., Fragoso G., Uribe-Campero L., Harrison L.J.S., Parkhouse R.M.E., Sciutto E. (2007). Detection of HP10 antigen in serum for diagnosis and follow-up of subarachnoidal and intraventricular human neurocysticercosis. Journal of Neurology, Neurosurgery and Psychiatry 78, 970-974.
- Flisser A., Vázquez-Mendoza A., Martínez-Ocaña J., Gómez-Colín E., Leyva R.S., Medina-Santillán R. (2005). Short report: evaluation of a self-detection tool for tapeworm carriers for use in public health. The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene 72 (5), 510-512.
- Flisser A., Rodríguez-Canul R., Willingham III A.L. (2006). Control of the taeniosis/cysticercosis complex: Future developments. Veterinary Parasitology 139, 283-292.
- Gaihre Y.K. (2000). Prevalence of intestinal helminth parasites in general, ascariasis in detail in Sarkies and Magars community of Tindobate VDC, Syangja, Nepal. Master of Science Thesis, Central Department of Zoology, Tribhuvan University, Kirtipur, Kathmandu, Nepal, pp. 92.
- Galán-Puchades M.T., Fuentes M.V. (2000). Human cysticercosis and larval tropism of *Taenia asiatica*. Parasitology Today 16 (4), 174.
- García H.H., Gilman R.H., Catacora M., Verastegui M., Gonzalez A.E., Tsang V.C., the Cysticercosis Working Group in Peru (1997). Serologic evolution of neurocysticercosis patients after antiparasitic therapy. The Journal of Infectious Diseases 175, 486-489.
- García H.H., Parkhouse R.M.E., Gilman R.H., Montenegro T., Bernal T., Martínez S.M., Gonzalez A.E., Tsang V.C.W., Harrison L.J.S., the Cysticercosis Working Group in Peru (2000). Serum antigen detection in the diagnosis, treatment, and follow-up of neurocysticercosis patients. Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene 94, 673-676.
- García H.H., Gonzalez A.E., Gilman R.H., Palacios L.G., Jimenez I., Rodriguez S., Verastegui M., Wilkins P., Tsang V.C.W., the Cysticercosis Working Group in Peru (2001). Short report: transient antibody response in *Taenia solium* infection in field conditions – a major contributor to high seroprevalence. The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene 65 (1), 31-32.
- García H.H., Gonzalez A.E., Gilman R.H., Bernal T., Rodriguez S., Pretell E.J., Azcurra O., Parkhouse R.M.E., Tsang V.C.W., Harrison L.J.S., the Cysticercosis Working Group in Peru (2002). Circulating parasite antigen in patients with hydrocephalus secondary to neurocysticercosis. The American Society of Tropical Medicine and Hygiene 66 (4), 427-430.
- García H.H., Gonzalez A.E., Evans C.A.W., Gilman R.H., for the Cysticercosis Working Group in Peru (2003). *Taenia solium* cysticercosis. The Lancet 362, 547-556.
- Garg R.K. (2004). Diagnostic criteria for neurocysticercosis: some modifications needed for Indian patients. Neurology India 52 (2), 171-177.
- Ginbar T. (2008). Development of a dipstick ELISA for the detection of circulating antigens of *Taenia saginata*/*Taenia solium* cysticercosis. Master of Science in Tropical Animal Health Thesis, Prince Leopold Institute of Tropical Medicine, Department of Animal Health, Antwerp, Belgium, pp 41.
- Gomes A.B., Soares K.A., Bueno A.C., Espindola N.M., Iha A.H., Maia A.A.M., Peralta R.H.S., Vaz A.J. (2007). Comparative evaluation of different immunoassays for the detection of *Taenia solium* cysticercosis in swine with low parasite burden. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz 102 (6), 725-731.

- Gonzalez A.E., Gilman R., Garcia H.H., McDonald J., Kacena K., Tsang V.C., Pilcher J.B., Suarez F., Gavidia C., Miranda E., the Cysticercosis Working Group in Peru (1994). Use of sentinel pigs to monitor environmental *Taenia solium* contamination. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 51 (6), 847-850.
- Gonzalez A.E., Verastegui M., Noh J.C., Gavidia C., Falcon N., Bernal T., Garcia H.H., Tsang V.C.W., Gilman R.H., Wilkins P.P., the Cysticercosis Working Group in Peru (1999). Persistence of passively transferred antibodies in porcine *Taenia solium* cysticercosis. *Veterinary Parasitology* 86, 113-118.
- Guezala M.C., Rodriguez S., Zamora H., Garcia H.H., Gonzalez A.E., Tembo A., Allan J.C., Craig P.S. (2009). Development of a species-specific coproantigen ELISA for human *Taenia solium* taeniasis. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 81 (3), 433-437.
- Gurung H. (2005). The Dalit Context. *Occasional Papers in Sociology and Anthropology* 9, 1-21.
- Harrison L.J.S., Joshua G.W.P., Wright S.H., Parkhouse R.M.E. (1989). Specific detection of circulating surface/secreted glycoproteins of viable cysticerci in *Taenia saginata* cysticercosis. *Parasite Immunology* 11, 351-370.
- Havelaar A.H., de Wit M.A.S., van Koningsveld R., van Kempen E. (2000). Health burden in the Netherlands due to infection with thermophilic *Campylobacter* spp. *Epidemiology and Infection* 125, 505-522.
- Ito A., Nakao M., Wandra T. (2003). Human taeniasis and cysticercosis in Asia. *The Lancet* 362, 1918-1920.
- Ito A., Craig P.S. (2003). Immunodiagnostic and molecular approaches for the detection of taeniid cestode infections. *Trends in Parasitology* 19 (9), 377-381.
- Jeon H.-K., Eom K.S. (2009). Immunoblot patterns of *Taenia asiatica* taeniasis. *Korean Journal of Parasitology* 47 (1), 73-77.
- Joshi D.D., Maharjan M., Johansen M.V., Willingham A.L., Sharma M. (2003). Improving meat inspection and control in resource-poor communities: the Nepal example. *Acta Tropica* 87 (1), 119-127.
- Joshi D.D., Maharjan M., Johnson M.V., Willingham A.L., Gashre Y., Sharma M. (2004). Taeniasis/Cysticercosis situation in Nepal. *Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health* 35, 252-258.
- Joshi D.D., Pandey K.R., Dorny P., Bista P.R., Vercruysse J. (2008). Comparison of carcass and lingual examination for the diagnosis of porcine cysticercosis in Nepal. *Journal of Institute of Medicine* 30 (1), 11-17.
- Karki D. (2003). An epidemiological study on intestinal helminths among Magar communities in Barangdi VDC, Palpa, with special reference to *Taenia* spp. Master of Science Thesis, Central Department of Zoology, Tribhuvan University, Kirtipur, Kathmandu, Nepal, pp. 56.
- Karterud H.N., Knizek B.L., Nakken K.O. (2010). Changing the diagnosis from epilepsy to PNES: patients' experiences and understanding of their new diagnosis. *Seizure* 19 (1), 40-46.
- Kohrt B.A., Worthman C.M. (2009). Gender and anxiety in Nepal: the role of social support, stressful life events, and structural violence. *CNS Neuroscience and Therapeutics* 15, 237-248.
- Krecek R.C., Michael L.M., Schantz P.M., Ntanjana L., Smith M.F., Dorny P., Harrison L.J.S., Grimm F., Praet N., Willingham III A.L. (2008). Prevalence of *Taenia solium* cysticercosis in swine from a community-based study in 21 villages of the Eastern Cape Province, South Africa. *Veterinary Parasitology* 154, 38-47.
- Mac T.L., Tran D.-S., Quet F., Odermatt P., Preux P.-M., Tan C.T. (2007). Epidemiology, aetiology and clinical management of epilepsy in Asia: a systematic review. *The Lancet Neurology* 6 (6), 533-543.
- Mathers C.D., Ezzati M., Lopez A.D. (2007). Measuring the burden of neglected tropical diseases: the global burden of disease framework. *PLoS Neglected Tropical Diseases* 1 (2), e114.

- Meinardi H., Scott R.A., Reis R., Sander J.W.A.S., on behalf of the ILAE Commission on the Developing World (2001). The treatment gap in epilepsy: the current situation and ways forward. *Epilepsia* 42 (1), 136-149.
- Ministry of Health and Population (MoHP), New ERA, Macro International Inc. (2007). Nepal Demographic and Health Survey 2006. Population Division, Ministry of Health and Population, Government of Nepal, Kathmandu, Nepal, New ERA, Kathmandu, Nepal, Macro International Inc., Calverton, Maryland, U.S.A. Internetreferentie: <http://www.measuredhs.com/pubs/pdf/FR191/FR191.pdf>
- Murray C.J.L. (1994). Quantifying the burden of disease: the technical basis for disability-adjusted life years. *Bulletin of the World Health Organization* 72 (3), 429-445.
- Murray C.J.L., Lopez A.D. (1996). *The Global Burden of Disease: a comprehensive assessment of mortality and disability from diseases, injuries and risk factors in 1990 and projected to 2020*. Harvard University Press, Cambridge, pp. 990.
- Neghina R., Neghina A.M., Marincu I., Iacobiciu I. (2009). Human taeniasis in Western Romania and its relationship to multicultural food habits and influences. *Foodborne Pathogens and Disease*, article in press.
- Ngoungou E.B., Preux P.-M. (2008). Cerebral malaria and epilepsy. *Epilepsia* 49 (6), 19-24.
- Ngowi H.A., Carabin H., Kassuku A.A., Mlozi M.R.S., Mlangwa J.E.D., Willingham III A.L. (2008). A health-education intervention trial to reduce porcine cysticercosis in Mbulu District, Tanzania. *Preventive Veterinary Medicine* 85, 52-67.
- Nguekam A., Zoli A.P., Vondou L., Pouedet S.M.R., Assana E., Dorny P., Brandt J., Losson B., Geerts S. (2003a). Kinetics of circulating antigens in pigs experimentally infected with *Taenia solium* eggs. *Veterinary Parasitology* 111, 323-332.
- Nguekam J.P., Zoli A.P., Ongolo-Zogo P., Dorny P., Brandt J., Geerts S. (2003b). Follow-up of neurocysticercosis patients after treatment using an antigen detection ELISA. *Parasite* 10, 65-68.
- Nguekam J.P., Zoli A.P., Zogo P.O., Kamga A.C.T., Speybroeck N., Dorny P., Brandt J., Losson B., Geerts S. (2003c). A seroepidemiological study of human cysticercosis in West Cameroon. *Tropical Medicine and International Health* 8 (2), 144-149.
- Nkouawa A., Sako Y., Nakao M., Nakaya K., Ito A. (2009). Loop-mediated isothermal amplification method for differentiation and rapid detection of *Taenia* species. *Journal of Clinical Microbiology* 47 (1), 168-174.
- Pandey K.R. (2007). Prevalence and comparison of carcass examination, lingual examination and EITB for the diagnosis of porcine cysticercosis in Nepal. Master of Science thesis, Department of Pathology, Tribhuvan University, Institute of Agriculture and Animale Science, Rampur, Chitwan, Nepal, pp. 61.
- Pandey T.R. (2005). Culture and politics of caste in the Himalayan kingdom. *Occasional Papers in Sociology and Anthropology* 9, 63-90.
- Parija M., Biswas R., Harish B.N., Parija S.C. (2004). Detection of specific cysticercus antigen in the urine for diagnosis of neurocysticercosis. *Acta Tropica* 92 (3), 253-260.
- Pion S.D.S., Kaiser C., Boutros-Toni F., Cournil A., Taylor M.M., Meredith S.E.O., Stufe A., Bertocchi I., Kipp W., Preux P.-M., Boussinesq M. (2009). Epilepsy in onchocerciasis endemic areas: systematic review and meta-analysis of population-based surveys. *PLoS Neglected Tropical Diseases* 3 (6), e461.
- Piryani R.M., Kohli S.C., Shrestha G., Shukla A., Malla T.B. (2007). Human neurocysticercosis managed at Nepalganj Medical College, Teaching Hospital, Kohalpur, Nepal. *Kathmandu University Medical Journal* 5 (4), 518-520.
- Placencia M., Sander J.W., Shorvon S.D., Ellison R.H., Cascante S.M. (1992). Validation of a screening questionnaire for the detection of epileptic seizures in epidemiological studies. *Brain* 115 (3), 783-794.
- Prado-Jean A., Kanobana K., Druet-Cabanac M., Nsengiyumva G., Dorny P., Preux P.M., Geerts S. (2007). Combined use of an antigen and antibody detection enzyme-linked immunosorbent assay for

- cysticercosis as tools in an epidemiological study of epilepsy in Burundi. *Tropical Medicine and International Health* 12 (7), 895-901.
- Praet N., Speybroeck N., Manzanedo R., Berkvens D., Nforinwe D.N., Zoli A., Quet F., Preux P.-M., Carabin H., Geerts S. (2009). The disease burden of *Taenia solium* cysticercosis in Cameroon. *PLoS Neglected Tropical Diseases* 3 (3), e406.
- Prasad K.N., Prasad A., Verma A., Singh A.K. (2008a). Human cysticercosis and Indian scenario: a review. *Journal of Biosciences* 33, 571-582.
- Prasad A., Prasad K.N., Yadav A., Gupta R.K., Pradhan S., Jha S., Tripathi M., Husain M. (2008b). Lymphocyte transformation test: a new method for diagnosis of neurocysticercosis. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease* 61 (2), 198-202.
- Quet F., Odermatt P., Preux P.-M. (2008). Challenges of epidemiological research on epilepsy in resource-poor countries. *Neuroepidemiology* 30 (1), 3-5.
- Rajbhandari K.C. (2003). Epilepsy in Nepal. *Neurological Journal of Southeast Asia* 8, 1-4.
- Rajkotia Y., Lescano A.G., Gilman R.H., Cornejo C., Garcia H.H., for the Cysticercosis Working Group of Peru (2007). Economic burden of neurocysticercosis: results from Peru. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* 101, 840-846.
- Rodriguez S., Dorny P., Tsang V.C.W., Pretell E.J., Brandt J., Lescano A.G., Gonzalez A.E., Gilman R.H., Garcia H.H., the Cysticercosis Working Group in Peru (2009). Detection of *Taenia solium* antigens and anti-*T. solium* antibodies in paired serum and cerebrospinal fluid samples from patients with intraparenchymal or extraparenchymal neurocysticercosis. *The Journal of Infectious Diseases* 199, 1345-1352.
- Sapkota P.P. (2008). Ethno-ecological observation of Magar of Bukini, Baglung, Western Nepal. *Dhaulagiri Journal of Sociology and Anthropology* 2, 227-252.
- Satishchandra P., Gururaj G., Mohammed Q.D., Senanayake N., Silpakit O. (2001). From prejudice to hope. Global campaign against epilepsy: out of the shadows. World Health Organization Regional Office for South-East Asia, New Delhi, pp. 63.
- Sciutto E., Hernández M., García G., de Aluja A.S., Villalobos A.N.M., Rodarte L.F., Parkhouse M., Harrison L. (1998). Diagnosis of porcine cysticercosis: a comparative study of serological tests for detection of circulating antibody and viable parasites. *Veterinary Parasitology* 78, 185-194.
- Secka A., Grimm F., Victor B., Marcotty T., De Deken R., Nyan O., Herera O., Van Marck E., Geerts S. (2010). Epilepsy is not caused by cysticercosis in The Gambia. *Tropical Medicine and International Health* 15 (4), 476-479.
- Sharma G.R. (2006). Prevalence of neurocysticercosis with seizure disorder in Om hospital. In: Proceedings of a Workshop on Present Situation Challenges in Treatment and Elimination of Taeniasis/Neurocysticercosis in Nepal. National Zoonoses and Food Hygiene Research Centre, Kathmandu, Nepal, December 7-9, 2005, p. 165-180.
- Shrestha B.M. (2008). Childhood neurocysticercosis: clinico-radiological profile and outcome. *Journal of Nepal Paediatric Society* 28 (1), 14-16.
- Sikasunge C.S., Johansen M.V., Willingham III A.L., Leifsson P.S., Phiri I.K. (2008). *Taenia solium* porcine cysticercosis: viability of cysticerci and persistency of antibodies and cysticercal antigens after treatment with oxfendazole. *Veterinary Parasitology* 158, 57-66.
- Somers R., Dorny P., Nguyen V.K., Dang T.C.T., Goddeeris B., Craig P.S., Vercruysse J. (2006). *Taenia solium* taeniasis and cysticercosis in three communities in north Vietnam. *Tropical Medicine and International Health* 11 (1), 65-72.
- Somers R., Dorny P., Geysen D., Nguyen L.A., Thach D.C., Vercruysse J., Nguyen V.K. (2007). Human tapeworms in north Vietnam. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* 101, 275-277.

- Sorvillo F.J., DeGiorgio C., Waterman S.H. (2007). Deaths from cysticercosis, United States. *Emerging Infectious Diseases* 13 (2), 230-235.
- Stein C., Kuchenmüller T., Hendrickx S., Prüss-Üstün A., Wolfson L., Engels D., Schlundt J. (2007). The global burden of disease assessments – WHO is responsible? *PLoS Neglected Tropical Diseases* 1 (3), e161.
- Takayanagui O.M., Odashima N.S. (2006). Clinical aspects of neurocysticercosis. *Parasitology International* 55, S111-S115.
- Thapa R.B. (2000). Prevalence of intestinal helminth parasites in general and *Taenia* spp. in detail, particularly in Bote and Darai communities of Vyash municipality-5, Kumaltari Tanahun district of Nepal. Master of Science Thesis, Central Department of Zoology, Tribhuvan University, Kirtipur, Kathmandu, Nepal, pp. 91.
- Tsang V.C.W., Brand J.A., Boyer A.E. (1989). An enzyme-linked immunoelectrotransfer blot assay and glycoprotein antigens for diagnosing human cysticercosis (*Taenia solium*). *The Journal of Infectious Diseases* 159 (1), 50-59.
- UN (2009). World population projects: the 2008 revision. Population Division of the Department of Economic and Social Affairs of the United Nations Secretariat, New York, the United States of America. Internetreferentie: http://www.un.org/esa/population/publications/wpp2008/wpp2008_text_tables.pdf
- Van Kerckhoven I., Vansteenkiste W., Claes M., Geerts S., Brandt J. (1998). Improved detection of circulating antigen in cattle infected with *Taenia saginata* metacestodes. *Veterinary Parasitology* 76, 269-274.
- WHO (2009). Mortality and burden of disease estimates for WHO member states in 2004. Department of Measurement and Health Information, World Health Organization, Geneva, Switzerland. Internetreferentie: http://www.who.int/entity/healthinfo/global_burden_disease/gbddeathdalycountryestimates2004.xls
- Wilson W.G. (2005). *Wilson's Practical Meat Inspection*, 7th edition. Blackwell Publishing Ltd., Oxford, p. 146.
- Yamasaki H., Allan J.C., Sato M.O., Nakao M., Sako Y., Nakaya K., Qiu D., Mamuti W., Craig P.S., Ito A. (2004). DNA differential diagnosis of taeniasis and cysticercosis by multiplex PCR. *Journal of Clinical Microbiology* 42 (2), 548-553.
- Zoli A.P., Nguekam, Shey-Njila O., Nsame Nforinwe D., Speybroeck N., Ito A., Sato O.M., Dorny P., Brandt J., Geerts S. (2003). Neurocysticercosis and epilepsy in Cameroon. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* 97, 683-686.

BIJLAGE I. Nepal geografisch, administratief en ecologisch

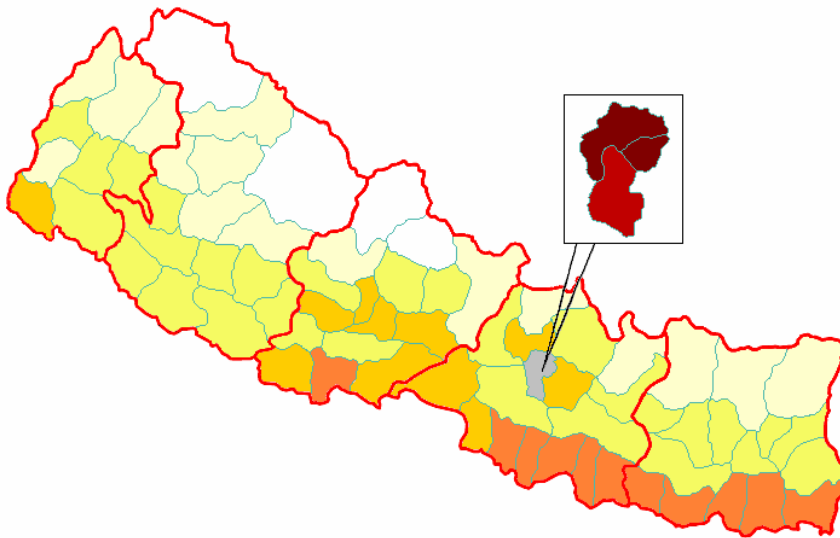


Kaart 1. Nepal en buurregio's (U=Uttarakhand; UP=Uttar Pradesh; B=Bihar; WB=West-Bengalen; S=Sikkim)

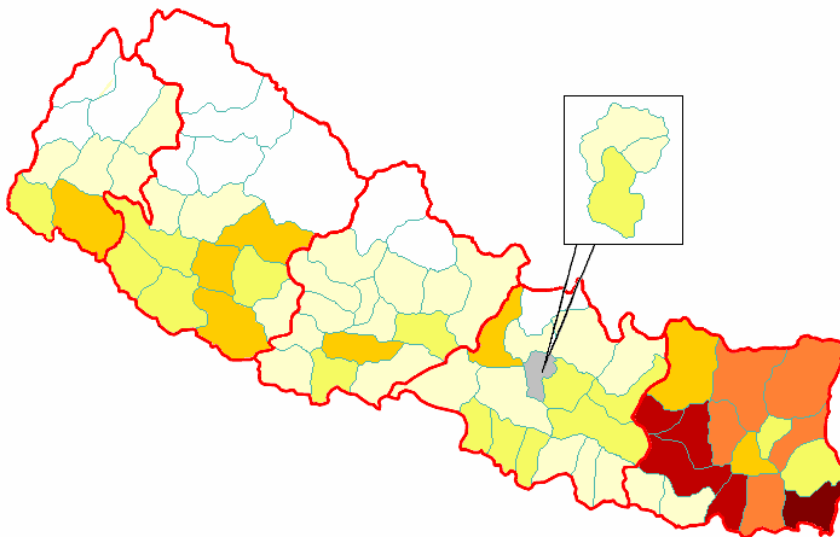


Kaart 2. Nepal administratief (regio's en districten) en ecologisch (Himalaya, heuvels en Terai)

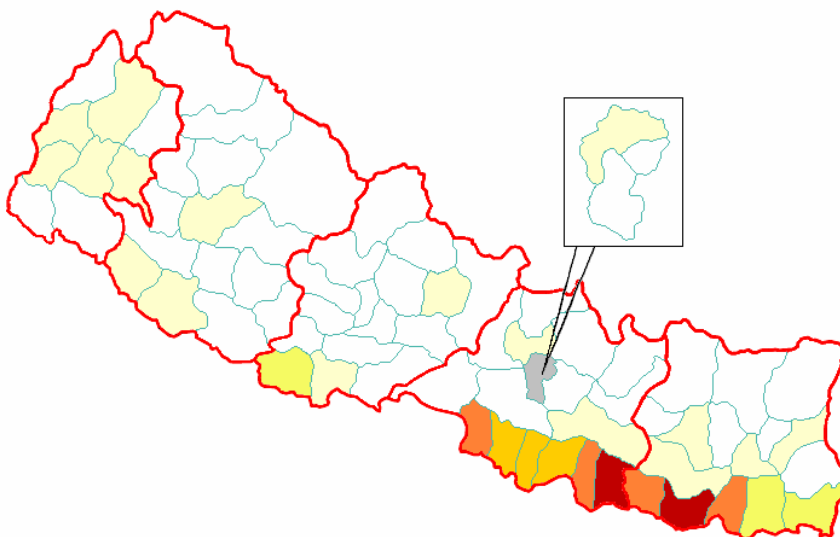
BIJLAGE II. Nepal demografisch



Kaart 3. Nepal – Bevolkingsdichtheid per district (naar CBS, 2003a)

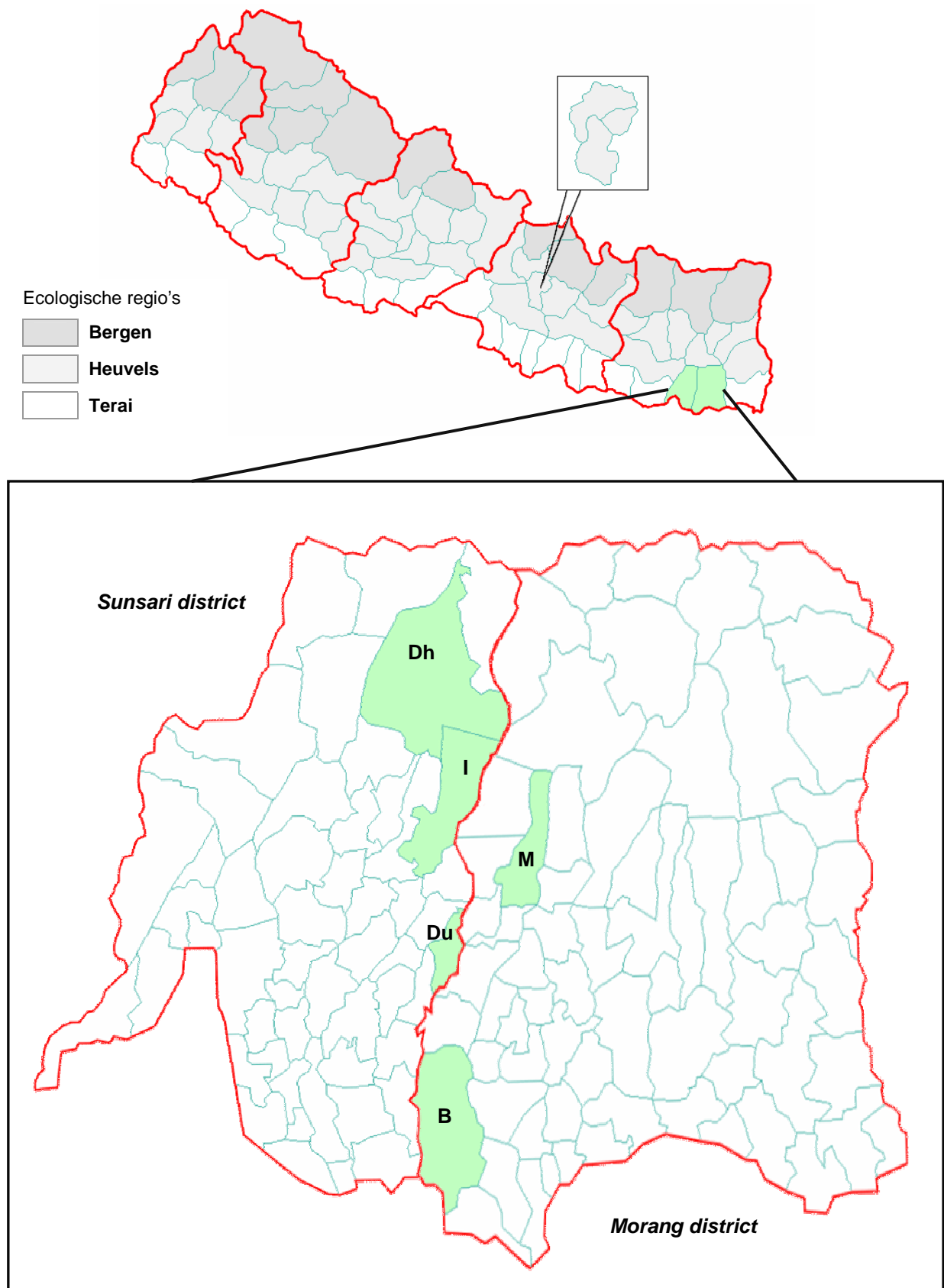


Kaart 4. Nepal – Geografische spreiding van de varkenspopulatie (percentage van totaal)



Kaart 5. Nepal – Geografische spreiding van de Dum (percentage van totaal)

BIJLAGE III. Studielocaties



Kaart 6. Sunsari – Dharan (Dh), Itahari (I) en Duhabi (Du)
Morang – Mrigauliya (M) en Biratnagar (B)

BIJLAGE IV. Vragenlijst (Engelstalige versie)

Epidemiology and Burden of *Taenia solium* Cysticercosis in Nepal

**National Zoonoses and Food Hygiene Research Center (NZFHRC), Kathmandu, Nepal
Institute for Tropical Medicine (ITM), Antwerp, Belgium
Faculty of Veterinary Medicine, Ghent University, Ghent, Belgium**

INFORMED CONSENT

Hello. My name is _____ and I am working with the **National Zoonoses and Food Hygiene Research Centre** (NZFHRC, Kathmandu). We are conducting a community-based survey that asks household representatives about various health issues. We would very much appreciate your participation in this survey. This information will help our centre to understand more about certain diseases in this area. The survey usually takes about 20 minutes to complete. Whatever information you provide will be kept strictly confidential and will not be shown to other persons.

Participation in this survey is voluntary, and if we should come to any question you don't want to answer, just let me know and I will go on to the next question; or you can stop the interview at any time. However, we hope that you will participate in this survey since your views are important.

At this time, do you want to ask me anything about the survey?
May I begin the interview now?

Signature of interviewee: _____ Date: _____

- RESPONDENT AGREES TO BE INTERVIEWED
- RESPONDENT DOES NOT AGREE TO BE INTERVIEWED → END OF INTERVIEW

Epidemiology and Burden of *Taenia solium* Cysticercosis in Nepal

**National Zoonoses and Food Hygiene Research Center (NZFHRC), Kathmandu, Nepal
Institute for Tropical Medicine (ITM), Antwerp, Belgium
Faculty of Veterinary Medicine, Ghent University, Ghent, Belgium**

HOUSEHOLD QUESTIONNAIRE

1 Village _____ Area _____ Questionnaire number _____

2 Last name _____ First name _____

3 How long have you lived in this village? ____ (yrs.)

4 How many people live in your home? ____ (no. of people)

For each member of the family, please tell me their name, how they are related to you, how old they are, whether they are male or female, their highest schooling grade and their occupation

Name	Relationship	Age (yrs)	Sex	Education	Occupation
	<i>interviewee</i>				

5 Where do you usually get your drinking water?

- River Bore-hole Tap
 Well Other [*Specify*] _____

6 Do you boil your drinking water?

- Always Almost always
 Sometimes Never

7 How often do you eat pork?

- At least once a week At least once a month but not weekly
 Less than once a month but at least once a year
 Less than once a year Never [*Skip to Q8*]

7.1 How is the pork that you eat prepared? [*Check all that apply.*]

- Boiled Fried *Sekuma* (barbecued) *Kachila* (half boiled) Raw
 Polera (fried) Other [*Specify*] _____

8 Where do you defecate?

- Toilet River side Road side Pig shed Cow shed
 Other [*Specify*] _____

9 Do you keep pigs?

- Yes No

pig questionnaire (*ask these questions if they answer "yes" to question 9*)

P1 How many of each type of pig do you keep?

- Pakhribas Black _____ White _____ Hurra _____
 Don't know type, but total number is _____ Don't know number or type

P2 Why do you keep pigs? [*read each option and indicate the number kept for that reason*]

- Home eating _____ Sell the meat to someone else _____
 Sell live animals (not to abattoir) _____ Sell the pig to the abattoir _____
 Raise pigs _____ Other _____

P3 How do you keep your pigs?

- In a pen Free range Tethered (tied up) Other _____

P4 What do your pigs eat? [*check all that apply*]

- Pasture Kitchen/Hotel leftovers Commercial feeds Faeces
 Kat *Bus* *Mane* Other _____

P5 How often do you slaughter pigs at home?

- Never [*Skip to Q P6*] Can't remember, don't know [*Skip to Q P6*]
 Always Almost always Sometimes

P5.1 If ever, how often was the meat inspected by a meat inspector?

- Always Almost always Sometimes Never Don't know

P6 At what price do you usually buy new piglets? ____ nrs.

P7 What price do you usually sell your pigs when they are ready to be slaughtered? ____ nrs.

P8 What price do you usually sell your piglets (aged 4 months or less)? ____ nrs.

P9 What price do you usually sell your pork meat (per kg)? ____ nrs.

P10 For what do you use the profits from selling your pigs ? *[check all that apply]*

- To send children to school To buy food
 To invest in a business For savings
 Other *[Specify]* _____

P11 Have you ever seen or heard of white nodules (*chamle/pidke*) in pig carcasses?

- Yes No *[Pig questionnaire is over]*

P11.1 Where can you find nodules on a living pig?

- It is not possible to find them on a live pig
 Under the skin Under the tongue
 I don't know Somewhere else *[Specify]* _____

P11.2 What would you do if you discovered that your pig had these nodules?

- Sell the pig *[Specify the price]* ____ nrs. Treat it with *[Specify]* _____
 Pierce the nodules Other _____
 I don't know

P11.3 Where can you find nodules on a carcass?

- It is not possible to find them on a carcass
 In the muscles In the heart Under the tongue In the skin
 I don't know Somewhere else *[Specify]* _____

P11.4 What would you do if you discovered that your slaughtered pig had these nodules?

- Sell the meat *[Specify the price]* ____ nrs. Cut out nodules and sell the meat
 Discard the meat Other _____
 I don't know

P11.5 How do pigs get these nodules?

- By eating human faeces By eating pig faeces
 From another infected pig Other _____
 I don't know *[Pig questionnaire is over]*

P11.6 How did you learn about it?

- By a doctor By a traditional healer By a friend or family member
 On the radio/tv/newspaper From an education center
 Other _____

10 Have you ever heard of tapeworm infection in humans?

Yes No [*Skip to Q 11*]

10.1 How did you learn about it?

By a doctor By a traditional healer By a friend or family member

On the radio/tv/newspaper Other _____

10.2 How does a person know if they have a tapeworm?

They can see it in their faeces They have diarrhoea They have stomach pain

They don't want to take food Other _____ I don't know

10.3 Have you or a household member ever had a tapeworm or seen small parts (segments) of worms that look like rice grains in your faeces? (*Show photographs of proglottids*)

Yes No [*Skip to Q 10.4*] I don't know/can't remember [*Skip to Q 10.4*]

10.3.1 When that happened, what did you or your family member do? [*check all that applies*]

Went to a hospital, clinic or health post Went to the pharmacy : _____

Went to a traditional healer Nothing Can't remember, don't know

10.3.2 When did you first see these segments in your stool? ___ weeks/months/years ago

10.4 How does a person get tapeworm infection?

They do not wash their hands They are in contact with an infected person

They eat undercooked pig meat Other _____

I don't know

11 Have you or a household member ever had skin nodules or hard lumps under the skin? [*Show photograph of person with subcutaneous cysticercosis nodules*]

Yes: currently in the past year, not currently a year or more ago, not currently

No Can not remember, do not know

12 Have you or a household member ever had bad headaches that lasted more than a few days?

Yes: currently in the past year, not currently a year or more ago, not currently

No Can not remember, do not know

13 Have you or a household member ever had any of the following?

13.1 Sudden loss of consciousness

Yes: currently in the past year, not currently a year or more ago, not currently

No [*Skip to Q 14*] Can not remember, do not know

13.1.1 (*If yes*) How often has this happened? Only once More than once

13.1.2 (*If yes*) At what age this first happened? _____ years Do not know

13.1.3 (*If yes*) Which medicine(s) do you take for this condition? _____

13.2 Attacks of shaking of arms or legs or shaking or trembling in one arm or leg or in the face, which you couldn't control

Yes: currently in the past year, not currently a year or more ago, not currently

No [*Skip to Q 14*] Can not remember, do not know

13.2.1 (*If yes*) How often has this happened? Only once More than once

13.2.2 (*If yes*) At what age this first happened? _____ years Do not know

13.2.3 (*If yes*) Which medicine(s) do you take for this condition? _____

13.3 Attacks in which you fall and lose consciousness, become pale, bite your tongue or lose control of your bladder

Yes: currently in the past year, not currently a year or more ago, not currently

No [*Skip to Q 14*] Can not remember, do not know

13.3.1 (*If yes*) How often has this happened? Only once More than once

13.3.2 (*If yes*) At what age this first happened? _____ years Do not know

13.3.3 (*If yes*) Which medicine(s) do you take for this condition? _____

13.4 Attacks in which you lose contact with the surroundings and experience abnormal smells/sensations

Yes: currently in the past year, not currently a year or more ago, not currently

No [*Skip to Q 14*] Can not remember, do not know

13.4.1 (*If yes*) How often has this happened? Only once More than once

13.4.2 (*If yes*) At what age this first happened? _____ years Do not know

13.4.3 (*If yes*) Which medicine(s) do you take for this condition? _____

14. Have you or a household member ever been given the diagnosis of epilepsy or epileptic fits?

Yes: currently in the past year, not currently a year or more ago, not currently

No Can not remember, do not know

14.1 (*If yes*) Which medicine(s) do you take for this condition? _____

THIS IS THE END OF THE INTERVIEW

THANK YOU VERY MUCH FOR YOUR COOPERATION !!

INTERVIEWER _____

DATE OF INTERVIEW ___ __ __