

Aus dem Institut für Mikrobiologie und Hygiene der Medizinischen Fakultät
Charité – Universitätsmedizin Berlin

DISSERTATION

Morbidität und Prävention der Tungiasis in einer Armensiedlung in Nordost-
Brasilien

zur Erlangung des akademischen Grades

Doctor medicinae (Dr. med.)

vorgelegt der Medizinischen Fakultät

Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Judith Dorothea Kehr

aus Berlin

Gutachter: 1. Prof. Dr. med. Prof. h.c. H. Feldmeier
2. Prof. Dr. med. J. H. H. Ehrich
3. Prof. Dr. med. O. Müller

Datum der Promotion: 27.03.2009

Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis	3
Zusammenfassung	4
Abstract	4
Einleitung	4
Zielsetzung	5
Material und Methoden	5
Ergebnisse	7
Diskussion	11
Quellenangaben	14
Lebenslauf	17
Danksagungen	18
Eidesstattliche Erklärung.....	19
Erklärung über den Eigenanteil.....	20
Publikationsliste	21

Zusammenfassung

Abstract

Die Tungiasis ist eine Ektoparasitose, die in zahlreichen Ländern Südamerikas, der Karibik und Afrikas endemisch ist. Die Prävalenz kann 50% und mehr in der generellen Bevölkerung betragen. Sie ist mit erheblicher Morbidität assoziiert. Präventivmaßnahmen wurden bislang noch nie systematisch eingesetzt.

In zwei Armensiedlungen der Stadt Fortaleza, Nordost-Brasilien, wurden 79 Personen rekrutiert, die mindestens zehn penetrierte Sandflöhe aufwiesen, und zwei Kohorten zugewiesen. Vor Beginn der Intervention wurden die Patienten über einen Zeitraum von 25 Tagen zweimal wöchentlich untersucht, um die Ausgangswerte zu bestimmen. Eine Intervention mit dem pflanzlichen Repellent Zanzarin® erfolgte in einem Cross-over-Design. Vor, während und nach der Intervention wurden folgende Zielvariablen erfasst: Infestationsrate, Infestationsintensität, Anteil der viablen Läsionen und klinische Pathologie, letztere mit Hilfe von zwei semiquantitativen Schweregradindices. Anhand von im Studiengebiet ausgesetzten Wistar-Ratten wurden Änderungen in der Transmissionsdynamik erfasst.

Während der Intervention sank die Infestationsrate um 90% von 2,0 auf 0,2 neue Läsionen pro Individuum und Tag ($p < 0,001$) und die Infestationsintensität um 87% von 26,5 auf 3 Läsionen pro Individuum ($p < 0,001$). Der Schweregradindex für akute Tungiasis betrug nach Intervention 0,0 Punkte (Ausgangswert: 5,8; $p < 0,001$). Der Schweregradindex für chronische Pathologie änderte sich durch die vierwöchige Unterbrechung der Transmission nicht. Nageldeformationen bestanden unverändert bei 98% der Patienten, wohingegen die Zeichen akuter Entzündung stark zurückgegangen waren: Ödem und Erythem von 90% auf 11%, Superinfektion von 35% auf 6%. Eine schmerzbedingte Einschränkung des Gehens bestand vor Intervention bei 15, danach noch bei drei Patienten. Eine multivariate Analyse zeigte einen hochgradig signifikanten Effekt der Intervention auf die Änderung der Zielvariablen.

Die Studie belegt, dass durch den Einsatz eines Repellents die Infestationsrate, die Infestationsintensität und die Tungiasis-assoziierte Morbidität im Endemiegebiet drastisch reduziert werden kann.

Einleitung

Die Tungiasis ist eine in der Karibik, Teilen Südamerikas und in Afrika südlich der Sahara weit verbreitete Ektoparasitose. Prävalenzen in der Gesamtbevölkerung von über 50% sind beschrieben [1-3]. Wie auch bei anderen Ektoparasitosen sind arme Bevölkerungsgruppen von der Tungiasis besonders häufig betroffen [4].

Die Tungiasis wird durch den Sandfloh *Tunga penetrans* verursacht. Der weibliche Floh penetriert in die Epidermis des Wirtes, saugt Blut aus dermalen Gefäßen, hypertrophiert um das 2000 bis 3000fache seines ursprünglichen Volumens [5], expulsiert bis zu 3000 Eier [6] und stirbt schließlich in situ ab [7]. Der abgestorbene Parasit wird von körpereigenen Reperaturmechanismen aus der Epidermis entfernt. Die Erkrankung ist somit selbstlimitierend und dauert von Penetration bis Abstoßung des Flohkadavers ca. sechs Wochen. Die Tungiasis kann jede Körperregion betreffen, ist meist jedoch auf die Füße beschränkt [8]. Die Schwere des Krankheitsbildes wird maßgeblich durch die Zahl der penetrierten Sandflöhe und das Auftreten von Superinfektion bestimmt. Die Tungiasis ist nachweislich eine potentielle Eintrittspforte für pathogene Mikroorganismen [9], und bei fehlendem Impfschutz besteht ein Risiko für Tetanus [10;11].

Verschieden topische und systemische Medikamente sind zur Behandlung der Tungiasis eingesetzt worden, jedoch mit nur mäßigem Erfolg [12-16]. Präventivmaßnahmen sind noch nie systematisch angewandt und evaluiert worden. Ein Repellent auf Basis von Kokosöl (Zanzarin®) wurde in einer Pilotstudie bei vier Patienten eingesetzt, und es ergaben sich Hinweise auf eine gute Schutzwirkung gegen *T. penetrans* [17]. Das Repellent schien deshalb geeignet für eine prospektive Kohortenstudie im Endemiegebiet.

Zielsetzung

Das Ziel der vorliegenden Arbeit war,

1. Die Infektionsdynamik der Tungiasis zu beschreiben
2. Die durch Tungiasis bedingte klinische Pathologie semiquantitativ zu erfassen
3. Die Schutzwirkung von Zanzarin® mit Hilfe einer Kohortenstudie zu bestimmen

Material und Methoden

Die Studie wurde in fünf Nachbarschaften der *Favela* Vicente Pinzón durchgeführt, einer typischen Armensiedlung in Fortaleza, Nordost-Brasilien. Viele Häuser sind improvisierte Konstruktionen aus Restmaterialien und haben keinen befestigten Fußboden. Die Abwasser- und Müllentsorgung ist unzulänglich. Die Analphabetenrate der über 15jährigen liegt bei ca. 30% und mehr als die Hälfte der Familien lebt von weniger als zwei Mindestlöhnen (ca. € 160) im Monat. Die Prävalenzen von Ektoparasitosen wie kutane *larva migrans*, Pedikulose, Tungiasis und Scabies sind hoch [18].

Einschlusskriterium für die Teilnahme an der Studie war das Vorhandensein von mindestens zehn Läsionen. Patienten mit stark entzündeten Läsionen oder behandlungsbedürftigen Hautulzera waren von der Teilnahme ausgeschlossen und wurden an das örtliche Gesundheitszentrum verwiesen. Die benötigte Fallzahl wurde unter der Annahme einer Reduktion der Infestationsrate um 60% und einer Drop-out-Rate von 25%, auf 30 Personen pro Gruppe geschätzt (Signifikanz: 0,05; Power: 90%). In Kohorte A wurden 39 Patienten aus drei Nachbarschaften zusammengefasst, Kohorte B bildeten 40

Patienten aus zwei weiteren Nachbarschaften. Der Abstand zwischen den Wohnorten der Kohorten betrug ca. 3km; sozioökonomische Merkmale und Wohnbedingungen der Kohorten unterschieden sich nicht signifikant.

Als primäre Zielgröße wurde die Infestationsrate festgelegt, als sekundäre Zielgrößen wurden die Infestationsintensität, der Anteil der viablen Läsionen und die Schweregradindices betrachtet. Alle Patienten wurden zweimal wöchentlich untersucht. Läsionen an den Füßen wurden in einem visuellen Untersuchungsbogen mit exakter topographischer Lokalisation eingetragen. Die Befundung erfolgte anhand der Fortaleza-Klassifikation [5]. Die Infestationsrate wurde ermittelt, indem die Zahl der neu penetrierten Flöhe bestimmt und durch die Zahl der seit der letzten Untersuchung verstrichenen Tage geteilt wurde. Die Infestationsintensität bezeichnet die Zahl der Läsionen pro Individuum. Es wurden zwei Indices entwickelt, um die klinische Pathologie semiquantitativ zu erfassen, ein Index für akute Pathologie (SSAT) und einer für chronische Pathologie (SSCT). Der SSAT umfasste Schmerzen, Juckreiz, Gehschwierigkeiten und folgende Symptome: Erythem, Ödem, Überwärmung, Abzess, Pustel, Suppuration, Fissur, Ulcus sowie sogenannte „honeycomb-like lesions“ [10;19]. Der SSCT wurde bestimmt aus dem Vorhandensein von Hyperkeratose, hypertrophem Nagelwall, Deformation oder Verlust des Nagels und Deformation eines Zehes durch chronisches Ödem und/oder Narbeneinschnürungen. Alle erhobenen Krankheitszeichen gelten als typisch für Tungiasis [5]. Der SSAT kann Werte von null bis 24 Punkte annehmen, der SSCT von null bis 33 Punkte.

Es wurde eine prospektive Kohortenstudie mit einem Cross-over-Design gewählt. Da die Infestationsrate beim Menschen durch Änderungen im Tierreservoir (Ratten, Hunde, Katzen), sowie Veränderungen von Bodentemperatur und Luftfeuchtigkeit beeinflusst werden kann, wäre eine konventionelle Studie mit einer Therapie- und einer Kontrollgruppe störanfällig. Eine Verblindung war nicht möglich, da das verwendete Repellent Zanzarin® einen charakteristischen Geruch hat. Die Zugehörigkeit der Patienten zu den Kohorten war durch ihren Wohnort vorgegeben. Durch Randomisierung wurde festgelegt mit der Intervention in Kohorte A zu beginnen.

Die Studie wurde von Juli bis Oktober 2003 durchgeführt. Dies entspricht der Trockenzeit im Nordosten Brasiliens, in der die Transmission von *T.penetrans* ihr Maximum hat [20]. Nach einer Präinterventionsphase (25 d), fand die Intervention I (28 d) in Kohorte A statt, während Kohorte B als unbehandelte Kontrolle diente. Nach einer Auswaschphase (14 d) wurde Intervention II (28 d) in Kohorte B durchgeführt und Kohorte A diente als Kontrolle. Vier Wochen nach Ende der Intervention II wurde eine Abschlussuntersuchung durchgeführt.

Zur Intervention wurde Zanzarin® (Engelhard Arzneimittel GmbH&Co. KG, Niederdorfelden) benutzt, ein pflanzliches Repellent gegen Zecken und Stechinsekten, dessen wichtigster Bestandteil - Caprylsäure – in einer Konzentration von bis zu 8% im Öl von *Cocos nucifera* (Kokospalme) vorkommt. Weiterhin enthalten sind Emulsionsstoffe, Konservierungsstoffe und hautpflegende Bestandteile. Während der jeweiligen

Interventionsphase wurden die Füße der Studienteilnehmer zweimal täglich morgens und abends von geschultem Hilfspersonal mit Zanzarin® eingerieben.

Zur Messung der Transmissionsdynamik im Studiengebiet wurden zwölf Käfige mit jeweils fünf Wistar-Ratten während Intervention I und II in oder in unmittelbarer Nähe von Häusern der Studienteilnehmer plaziert. Die Käfige hatten einen Gitterboden, sodass die Ratten permanent *T. penetrans* gegenüber exponiert waren. Nach zwei Wochen wurden die Ratten untersucht, die Sandflöhe gezählt und ihr Stadium bestimmt [21;22].

Die Daten wurden in das Epi-Info Software Paket (Version 6.04d) eingegeben und auf Eingabefehler überprüft. Die statistische Analyse wurde mit SPSS (Version 13.0.1) durchgeführt. Da alle Zielgrößen keine Normalverteilung aufwiesen (K-S-Test, Histogramme), wurden als deskriptive Parameter Median und Interquartilabstände angegeben, Korrelations-Koeffizienten nach Spearman berechnet und gepaarte Zielgrößen mit dem Wilcoxon-Test analysiert. Nicht-verbundene Daten wurde mit dem Mann-Whitney-U-Test untersucht. Ein varianzanalytisches Modell wurde eingesetzt, um die intra-individuelle Änderung der Zielgrößen in Abhängigkeit von der Intervention und der Behandlungssequenz zu ermitteln. Um die Variation der Befallsrate während des Präinterventionszeitraumes intra- und interindividuell zu bestimmen, wurde der Intra-Klassen-Korrelations-Koeffizient (ICC) berechnet.

Die Studie wurde von der Ethik Kommission der Federalen Univerität von Ceará, Fortaleza, Brasilien genehmigt. Nach ausführlicher Information über Durchführung und Ziele der Studie wurde das schriftliche Einverständnis aller Studienteilnehmer eingeholt. Die Patienten konnten ihre Teilnahme ohne Nachteil jederzeit beenden.

Ergebnisse

Die Studienkriterien erfüllten 79 Patienten. Für die Datenanalyse im Präinterventionszeitraum wurden 11 Individuen ausgeschlossen, weil sie eine der sieben Untersuchungen verpasst hatten. Von der Datenanalyse der Interventionsstudie wurden weitere acht Patienten ausgeschlossen, da sie im späteren Verlauf der Studie bei zwei oder mehr aufeinanderfolgenden Untersuchungen nicht angetroffen wurden. Von den verbleibenden 60 waren 26 Patienten in Kohorte A und 34 in Kohorte B. Die demographischen, parasitologischen und klinisch-pathologischen Merkmale der beiden Kohorten sind in Tabelle 1 zusammengefasst. Der SSAT lag im Median bei 6 Punkten (Interquartilabstand 4,0-8,9), der SSCT ebenfalls bei 6 Punkten (3,5-9,0). Kohorte B hatte zum Zeitpunkt der Erstuntersuchung eine signifikant niedrigere Infestationsintensität als Kohorte A ($p=0,001$), jedoch unterschieden sich die beiden Gruppen im Laufe der Präinterventionsphase nicht signifikant in ihren Infestationsraten.

Tabelle 1 Demographische, parasitologische und klinisch-pathologische Charakteristika der Studienkohorten

	Kohorte A	Kohorte B	A und B kombiniert
Alter (Median/ Minimum - Maximum)	8 (2-76)	6 (1-44)	8 (2-76)

Geschlecht (weiblich/männlich)	1.36	0.62	0.94
Zahl der Läsionen pro Patient bei der ersten Untersuchung			
Gesamtzahl* (Median/ 25.- 75. Perzentile)	42 (31-73)	22 (12-31)	30 (16-53)
Viable Läsionen ^a (Median/ 25. - 75.)	25 (10-39)	10 (6-17)	14 (6-28)
Avitale Läsionen ^a (Median/ 25.- 75.)	12 (6-28)	4 (1-10)	6 (2-17)
Klinische Symptome und Zeichen			
Deformation von Zehennägeln	26 (100%)	33 (97%)	59 (98%)
Zeichen chronischer Entzündung ¹	26 (100%)	31 (91%)	57 (95%)
Zeichen akuter Entzündung ²	25 (96%)	29 (85%)	54 (90%)
Ulcera	20 (77%)	23 (68%)	43 (71%)
Fissuren	15 (58%)	19 (56%)	34 (56%)
Bakterieller Superinfektion ³	9 (35%)	12 (35%)	21 (35%)
Schwierigkeit beim Gehen	10 (38%)	5 (15%)	15 (25%)
Verlust eines oder mehrerer Zehennägel	2 (8%)	10 (29%)	12 (20%)

* inklusive vom Patienten manipulierte Läsionen ^a vitale Läsionen: Stadium 2 und 3, avitale Läsionen: Stadium 4 und 5 der Fortaleza Klassifikation ¹Hyperkeratose und/oder hypertropher Nagelwall mindestens einer Zehe mit/ohne Deformation der Zehe ² Erythem, Ödem, Überwärmung ³ Eiterpustel / Abzess

Zwischen Männern und Frauen bestand weder in der Infestationsrate noch in der Infestationsintensität ein signifikanter Unterschied ($p=0,09$ und $p=0,19$). Der ICC betrug für die intra-individuelle Schwankung der Befallsrate 0,19 (95% CI:0,02 –1,0) und zeigte somit, dass die Befallsrate eines Individuums in einem gleichbleibenden Wohnumfeld eine relativ konstante Größe war.

Sobald mit der Anwendung des Repellents in Kohorte A begonnen wurde, sank in dieser Gruppe die Zahl der neu penetrierten Sanflöhe pro Tag drastisch und erreichte zeitweise null (Abbildung 1). In Kohorte B stieg die Befallsrate während der Auswaschphase an und fiel ab, sobald die Intervention in dieser Gruppe begann. Die Infestationsrate wurde während der Intervention in Kohorte A um 91% (Interquartilabstand: 79-100%; $p<0,001$) gesenkt, in Kohorte B um 90% (78-100%; $p<0,001$). Nach der Intervention I stieg die Infestationsrate in Kohorte A wieder an, blieb jedoch deutlich unter dem Ausgangswert. Die Infestationsintensität reduzierte sich während der Intervention ebenfalls signifikant. Die Reduktion folgte dem Rückgang der Befallsrate naturgemäß um einige Tage verzögert nach (Abbildung 2).

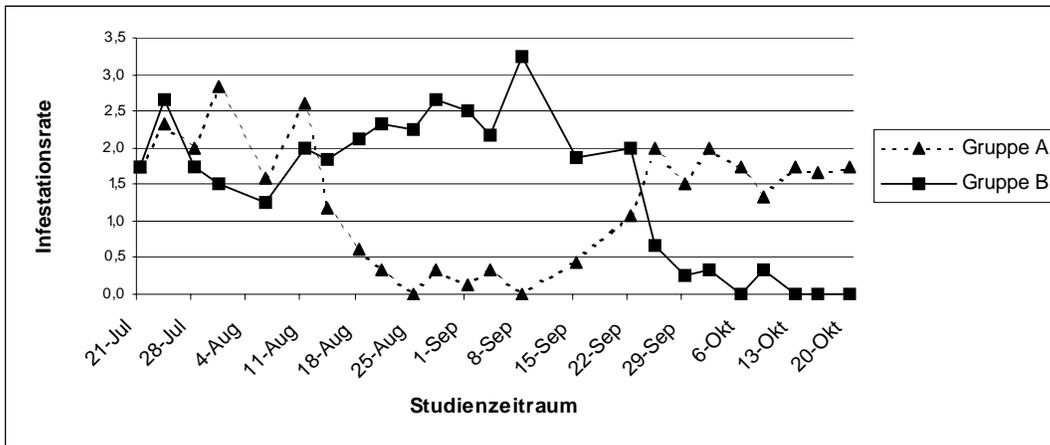


Abbildung 1: Infestationsrate (Zahl der neu penetrierten Sandflöhe pro Individuum und Tag) im Verlauf der Studie. Applikation des Repellents: Kohorte A 12.08.03 - 08.09. 03, Kohorte B 21.09.03 - 20.10. 03.

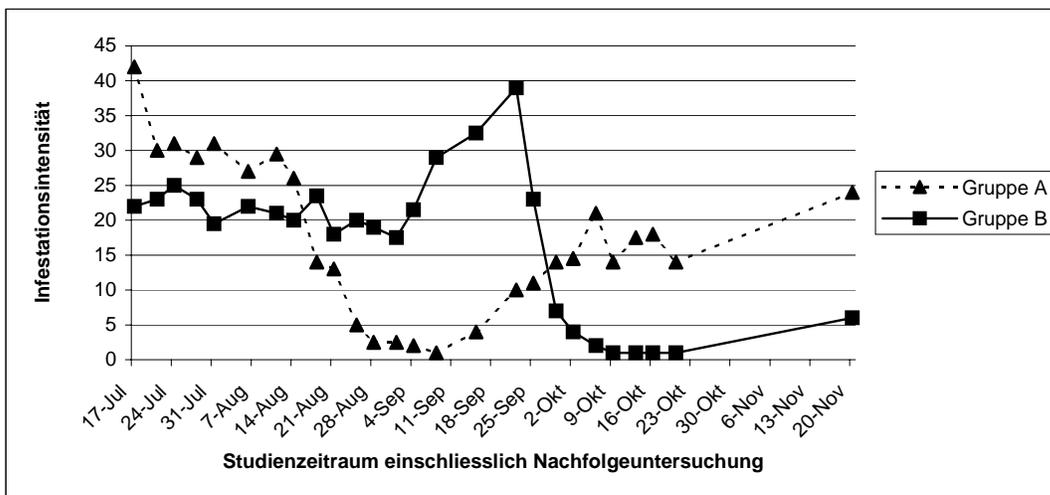


Abbildung 2: Infestationsintensität (Zahl der Läsionen pro Patient) im Verlauf der Studie. Applikation des Repellents: Kohorte A 12.08.03 - 08.09. 03, Kohorte B 21.09.03 - 20.10. 03

Während der Auswaschphase stieg die Infestationsintensität in Kohorte B signifikant an ($p=0,005$). Sobald mit der Intervention in dieser Gruppe begonnen wurde, fiel sie rasch ab. Die mediane Reduktion der Infestationsintensität betrug in Kohorte A 86% (Interquartilabstand: 74-95%; $p<0,001$) und in Kohorte B 87% (83-99%; $p<0,001$). Bei der Abschlussuntersuchung war die mediane Infestationsintensität (24 in Kohorte A; 6 in Kohorte B) immer noch signifikant geringer als vor Intervention (37 in Kohorte A; 24 in Kohorte B; $p=0,013$). Der prozentuale Anteil der viablen Läsionen an der Gesamtläsionenzahl ging während der Intervention ebenfalls signifikant zurück ($p=0,013$). Er fiel bereits nach drei Tagen der Repellentanwendung von 55% auf 27% (Interquartilabstand 18-38%) und nach einer Woche auf 5% (0-17%). In Tabelle 2 sind die Werte für die vier Zielgrößen in den vier Studienphasen zusammengefasst.

Tabelle 2: Infestationsrate, Intensität der Infestation, Anteil vitaler Läsionen und Schweregradindex in beiden Kohorten (n= 60 Patienten)

Variable	Studienphase				
	Präintervention	Intervention	Wash-out	Kontrolle	Abschluss
Infestationsrate^a					
Gruppe A	2,3 (1,7-3,3)	0,3 (0,0-0,6)	0,8 (0,3-1,5)	1,8 (1,1-2,6)	n.b.
Gruppe B	1,9 (1,2-2,6)	0,2 (0,0-0,5)	2,0 (1,0-4,4)	2,4 (1,8-3,6)	n.b.
Gruppe A und B	2,0 (1,5-2,8)	0,2 (0,0-0,5)	1,3 (0,6-2,9)	2,1 (1,3-3,0)	n.b.
Intensität der Infestation^b					
Gruppe A	37 (19-49)	3,8 (2-8)	7 (2-12)	15,8 (9-27)	24 (12-59)
Gruppe B	24 (15-33)	2,2 (0,5-5,5)	47,5 (11-58)	26,5 (13-37)	6 (1-27)
Gruppe A und B	26,5 (17-40)	3 (0,8-7)	15,5 (5-49)	20 (10-36)	14 (5-33)
Anteil viabler Läsionen^c					
Gruppe A	0,57 (0,45-0,7)	0,03 (0,0-0,15)	0,61(0,5-0,9)	0,58(0,47-0,74)	0,43 (0,34-0,58)
Gruppe B	0,49(0,39-0,63)	0,00 (0,0-0,23)	0,44 (0,38-0,63)	0,59 (0,44-0,68)	0,28 (0,0-0,40)
Gruppe A und B	0,55 (0,40-0,64)	0,00 (0,00-0,19)	0,5 (0,39-0,7)	0,58 (0,45-0,70)	0,33 (0,20-0,50)
Schweregradindex für akute Tungiasis SSAT^d					
Gruppe A	7 (4,5-9,5)	0 (0-0,5)	n.b.	3,5 (2-9)	5 (3-8,5)
Gruppe B	5 (3-6,5)	0 (0-2)	n.b.	5 (3,5-8)	2 (0-4,5)
Gruppe A und B	6 (4-8,5)	0 (0-1)	n.b.	5 (2,5-8)	3,5 (1,5-5,5)

Die Zahlen geben den Median und den Interquartilabstand an. Als Intervention ist die Studienphase bezeichnet, in der jeweils Kohorte A und Kohorte B mit Repellent behandelt wurde; Kontrollphase ist der Zeitraum, in dem die betreffende Gruppen unbehandelt war. n.b.= nicht bestimmt ^a Anzahl neuer Sandflöhe pro Patient und Tag

b) Gesamtzahl Läsionen pro Patient c) Läsionen in Stadium 2-3 geteilt durch Gesamtzahl aller Läsionen inklusive vom Patienten manipulierte Läsionen d) Min.=0, Max.=24 Punkte, siehe Material und Methoden

Die Varianzanalyse zeigte einen signifikanten Einfluss der Intervention auf die Infestationsrate (p=0,002), die Infestationsintensität (p<0,001) und den SSAT (p=0,013). Die Behandlungssequenz hatte einen signifikanten Einfluss auf die Infestationsrate in Kohorte A (p=0,001). Da die Mitglieder eines Haushaltes nicht als voneinander unabhängige Individuen betrachtet werden können (gleiches Sandflohreservoir im Haus, ähnliche Umgebungseinflüsse), wurde die Varianzanalyse auf der Basis von Haushaltsdaten wiederholt. Hierbei blieb der Einfluss der Intervention auf die Infestationsrate und auf die Infestationsintensität signifikant (p=0,043 und p=0,049 respektive), der Einfluss auf die prozentuale Änderung der viablen Läsionen hingegen nicht (p=0,31).

Die Reduktion der Infestationsrate und der Infestationsintensität wurde von einem drastischen Rückgang der klinischen Pathologie begleitet. Der Schweregradindex SSAT für akute Tungiasis ging in beiden Kohorten von 5,8 (Interquartilabstand 4,0–8,9) im Präinterventionszeitraum auf 0 (0-1) nach

der jeweiligen Intervention zurück ($p < 0,001$). Nur bei drei Patienten bestanden weiterhin Schmerzen beim Laufen. Die Zeichen der chronischen Pathologie hingegen wurden durch die Unterbrechung der Transmission nicht verringert. Der Schweregradindex SSCT für chronische Pathologie lag vor Intervention bei 6,0 (3,5-9,0) und veränderte sich im Studienzeitraum nicht. Beide Schweregradindices zeigten im Präinterventionszeitraum eine signifikante Korrelation mit der Infestationsrate (SSAT: $\rho = 0,44$; $p < 0,001$; SSCT: $\rho = 0,50$; $p < 0,001$). Der SSCT korrelierte auch nach Anwendung des Repellents noch immer signifikant mit der Infestationsrate vor Intervention ($\rho = 0,35$; $p = 0,008$). Wie die Abbildungen 3 und 4 zeigen, bestanden Nagel- und Zehendeformationen weiter, während die akute Entzündung im Laufe der Intervention stark zurückging.



Abbildung 3: rechter Fuß eines vier Jahre alten Patienten mit schwerer Tungiasis in der Prä-Interventionsphase, Infestationsrate: 8,2 neue Flöhe/Tag, SSAT= 3,5; SSCT= 8 Punkte

Abbildung 4: der selbe Patient nach 24 Tagen Repellentanwendung. Infestationsrate: 0,0; SSAT= 0; SSCT= 7 Punkte

Es wurden keine Nebenwirkungen beobachtet. Einige Studienteilnehmer beschwerten sich über den aufdringlichen Geruch des Repellents.

In Übereinstimmung mit Untersuchungen anderer Autoren [20] wurde anhand der ausgesetzten Wistar-Ratten die höchste Transmission im Monat September gemessen. Unabhängig davon, ob die Ratten in Häusern oder auf Grundstücken der Kohorte A oder B plaziert waren, zeigten sie die höchste Infestationsintensität während der Intervention I mit im Median 8 bzw. 5 penetrierten Sandflöhen/Tier.

Diskussion

Tungiasis ist trotz der weiten Verbreitung und der weltweit großen Zahl von Erkrankten eine von der Medizin vernachlässigte Parasitose, mit der die Betroffenen in Therapie und Prävention weitgehend allein gelassen werden. Es gibt zahlreiche Berichte über Komplikationen wie Auto-Amputation von Zehen und Todesfälle infolge von Tungiasis-assoziiertes Tetanusinfektion oder Sepsis [11;23].

Die chirurgische Extraktion ist derzeit die einzige Möglichkeit der Behandlung. Bei Infestationsintensitäten von bis zu 145 Flöhen pro Individuum, wie sie im Endemiegebiet nicht ungewöhnlich sind, [24] und einem völligen Mangel an geeigneten sterilen Instrumenten in der Bevölkerung ist eine Selbstbehandlung praktisch kaum möglich. Dagegen führen Versuche penetrierte Flöhe mit Nadeln, Nägeln, Dornen etc. zu extrahieren, nahezu immer zu einer Superinfektion. Ansätze mit topischer oder systemischer medikamentöser Therapie haben bislang keine zufriedenstellenden Ergebnisse gebracht [12-15;25].

Als präventive Maßnahmen gegen Tungiasis wurden die Pestizidbehandlung Sandfloh-kontaminierter Bodens [23], die Zementierung von Straßen und Fußböden, eine regelmäßige Müllentsorgung und die Kontrolle des Tierreservoirs [26;27] empfohlen. Diese Maßnahmen sind aber nie systematisch in die Praxis umgesetzt und evaluiert worden. Diese Studie ist der erste Versuch eine präventive Maßnahme in einem typischen Endemiegebiet unter kontrollierten Bedingungen anzuwenden und die Schutzwirkung eines pflanzlichen Repellents quantitativ zu bewerten.

Zanzarin® ist eine Emulsion deren wichtigster Bestandteil – Caprylsäure – im Öl der Kokospalme vorkommt. Es ist als pflanzliches Repellent gegen Zecken und Stechinsekten zugelassen. Die Repellentwirkung von Kokosöl gegen unterschiedliche Culiciden ist nachgewiesen [28-30]. Wir verwendeten Zanzarin®, nachdem sich in einer kleinen Fallserie Hinweise auf eine Wirksamkeit als Repellent gegen *T. penetrans* ergeben hatten [17]. Auch hatten Bewohner der Endemiegebiete berichtet, dass selbsthergestelltes Kokosöl gegen *T. penetrans* wirke (Feldmeier, unveröffentlichte Beobachtung).

Unsere Studie hat gezeigt, dass eine zwei Mal tägliche Applikation von Zanzarin® auf die Füße die Infestationsrate mit *T. penetrans* um 90% reduziert und somit einen effektiven Schutz vor Sandflohbefall gewährt. Die Reduktion auf 0,2 (0,0-0,5) neu penetrierte Flöhe pro Tag war unabhängig von der Infestationsrate vor Beginn der Intervention, d.h. das Repellent wirkte bei starkem genauso gut wie bei leichtem Infestationsdruck. Das Repellent ist also von besonderem Wert für Kinder und ältere Menschen, die die Bevölkerungsgruppen mit der größten Infestationsintensität und Morbidität sind [31]. Auch die Tungiasis-assoziierte klinische Pathologie ging durch Unterbrechung der Transmission stark zurück.

Chronische Krankheitszeichen waren auch nach der Intervention noch vorhanden. Der SSCT korrelierte vier Wochen nach Beginn der Intervention immer noch signifikant mit der Befallsrate zu Beginn der Studie ($p=0,35$; $p=0,008$). Dies weist darauf hin dass der SSCT ein geeigneter Messwert sein kann, um in Zeiträumen geringer Transmission (Regenzeit) anhand der klinischen Pathologie auf die Befallsrate in der vorausgegangenen Trockenzeit zurückzuschließen.

Es fiel auf, dass unter der Applikation der Lotion die Läsionen innerhalb von wenigen Tagen von einem vitalen in ein avitales Stadium übergingen. Dies geschieht im natürlichen Krankheitsverlauf erst nach 2-3 Wochen (5). Ob das Absterben des Flohs dem Verschluss der im Abdominalkonus

mündenden Stigmen (Tracheolen) durch die fetthaltige Lotion oder einer insektiziden Wirkung des Kokosöls zuzuschreiben ist, kann nicht beurteilt werden, da dies den Vergleich mit einer Placebo-Lotion erfordern würde. Die Wirkung von Kokosöl auf bereits penetrierte Sandflöhe zu erforschen, kann Gegenstand zukünftiger Studien sein.

Während der Intervention I und der Auswasch-Phase war in der unbehandelten Kohorte B ein signifikanter Anstieg der Befallsrate und der Infestationsintensität zu beobachten. Dies läßt sich damit erklären, dass im September (Mitte der Trockenzeit) die Transmission ihr Maximum erreicht, wie es auch der Befall der im Studiengebiet ausgesetzten Wistar-Ratten und bevölkerungsbasierte Langzeitstudien belegen [20]. Bemerkenswert ist, dass trotz des hohen Infestationsdrucks die Infestationsrate in Kohorte B mit Anwendung des Repellents um 90% gesenkt wurde. In der Auswaschphase wurde von Kohorte A die vor Intervention bestehende Infestationsrate nicht wieder erreicht, und die Behandlungssequenz hatte einen signifikanten Einfluss auf die Infestationsrate dieser Gruppe in den späteren Studienphasen. Ursachen hierfür könnten sein, dass erstens geringe Rückstände des Repellents in den Häusern oder an der Kleidung der Patienten verblieben waren, zweitens die Auswaschphase zu kurz bemessen war, und/oder drittens die Transmission im Oktober etwas geringer war als im Vormonat.

Aus Gründen der Durchführbarkeit konnten die Angehörigen eines Haushaltes nicht in Kohorten mit unterschiedlichen Therapie-Kontroll-Sequenzen randomisiert werden. Die multivariate Regressionsanalyse wurde daher auf Basis der Haushalte wiederholt. Gleichwohl zeigte sich trotz der Verringerung der auswertbaren Einheiten von 60 (Patienten) auf 28 (Haushalte) eine statistische Signifikanz für die Reduktion der Infestationsrate und der Infestationsintensität.

Aufgrund der gewählten Einschlusskriterien (≥ 10 Läsionen/Person) können anhand der vorliegenden Studie nur Aussagen über die Wirkung von Zanzarin® als Repellent in einer stark befallenen Population gemacht werden. Wie ausgeprägt die Reduktion der Infestationsrate in der allgemeinen Bevölkerung mit einer geringen Infestationsintensität wäre, lässt sich nicht sagen.

Die Tungiasis ist, wie andere Ektoparasitosen, eine Armut-assoziierte Erkrankung und betrifft vor allem marginalisierte Bevölkerungsgruppen, die bei den lokalen Gesundheitsbehörden wenig Beachtung finden. Wir konnten zeigen, dass die zwei Mal tägliche Applikation eines pflanzlichen Repellents die Zahl der Neuinfestationen drastisch reduziert und in der Folge auch die klinische Pathologie fast vollständig zurückgeht. Da diese prophylaktische Maßnahme einfach ist, das benötigte Ausgangsmaterial (Kokosnüsse) vor Ort in großen Mengen und preiswert zur Verfügung steht, könnten die Menschen im Studiengebiet die Methode nach entsprechender Schulung selbst anwenden.

Quellenangaben

- (1) Ade-Serrano MA, Ejezie GC. Prevalence of tungiasis in Oto-Ijanikin village, Badagry, Lagos State, Nigeria. *Ann Trop Med Parasitol* 1981; 75(4):471-472.
- (2) Chadee DD. Tungiasis among five communities in south-western Trinidad, West Indies. *Ann Trop Med Parasitol* 1998; 92(1):107-113.
- (3) Muehlen M, Heukelbach J, Wilcke T, Winter B, Mehlhorn H, Feldmeier H. Investigations on the biology, epidemiology, pathology and control of *Tunga penetrans* in Brazil II. Prevalence, parasite load and topographic distribution of lesions in the population of a traditional fishing village. *Parasitol Res* 2003; 90:449-455.
- (4) Heukelbach J, Mencke N, Feldmeier H. Editorial: Cutaneous larva migrans and tungiasis: the challenge to control zoonotic ectoparasitoses associated with poverty. *Trop Med Int Health* 2002; 7(11):907-910.
- (5) Eisele M, Heukelbach J, van Marck E, Mehlhorn H, Meckes O, Franck S, Feldmeier H. Investigations on the biology, epidemiology, pathology and control of *Tunga penetrans* in Brazil: I. Natural history of tungiasis in man. *Parasitol Res* 2003; 90(2):87-99.
- (6) Linardi PM. Família tungidae. In: Linardi PM, Guimaraes LR, editors. *Sifonápteros do Brasil*. São Paulo: Museu de Zoologia da Universidade de São Paulo, 2000: 48-53.
- (7) Geigy R, Herbig A. Die Hypertrophie der Organe beim Weibchen von *Tunga penetrans*. *Acta Trop* 1949; 6(3):246-262.
- (8) Heukelbach J, Wilcke T, Eisele M, Feldmeier H. Ectopic localization of tungiasis. *Am J Trop Med Hyg* 2002; 67(2):214-216.
- (9) Feldmeier H, Heukelbach J, Eisele M, Sousa AQ, Barbosa LM, Carvalho CB. Bacterial superinfection in human tungiasis. *Trop Med Int Health* 2002; 7(7):559-564.
- (10) Cardoso AEC. Tunguiase. *An Bras Dermatol* 1990; 65(5a):29S-33S.
- (11) Joseph JK, Bazile J, Mutter J, Shin S, Ruddle A, Ivers L, Lyon E, Farmer P. Tungiasis in rural Haiti: a community-based response. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 2006.
- (12) Ade-Serrano MA, Olomolehin OG, Adewunmi A. Treatment of human tungiasis with niridazole (Ambilhar): a double-blind placebo-controlled trial. *Ann Trop Med Parasitol* 1982; 76(1):89-92.

- (13) Heukelbach J, Eisele M, Jackson A, Feldmeier H. Topical therapy of tungiasis: a randomized controlled trial. *Ann Trop Med Parasitol* 2003; 97(7):743-749.
- (14) Heukelbach J, Franck S, Feldmeier H. Therapy of tungiasis: a double-blinded randomized controlled trial with oral ivermectin. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2004; 99(8):873-876.
- (15) Saraceno EF, Bazarra MLG, Calviello RC, Quaranta MA, Mirarchi P, Sánchez GF. Tungiasis: tratamiento de un caso con ivermectina. *Arch Argent Dermatol* 1999; 49:91-95.
- (16) Valença ZO, Cardoso AEC, Cardoso A. Tunguiase generalizada - Relato de dois casos tratados com thiabendazol. *Dermatologia Ibero-Latino-Americana* 1972;(3):375-378.
- (17) Schwalfenberg S, Witt LH, Kehr JD, Feldmeier H, Heukelbach J. Prevention of tungiasis using a biological repellent: a small case series. *Ann Trop Med Parasitol* 2004;(98):89-94.
- (18) Heukelbach J, Wilcke T, Winter B, Feldmeier H. The epidemiology and morbidity of scabies and pediculosis in resource-poor communities in northeast Brazil. *Br J Dermatol* 2005; 153(1):150-156.
- (19) Linardi PM. Tungíase: uma pulga diferente que provoca um problema persistente. *Vetores e Pragas* 1998; 2:19-21.
- (20) Heukelbach J, Wilcke T, Harms G, Feldmeier H. Seasonal variation of tungiasis in an endemic community. *Am J Trop Med Hyg* 2005; 72(2):145-149.
- (21) Feldmeier H, Witt LH, Schwalfenberg S, Ribeiro RA, Cunha FC, Harms G. Investigations on the biology, epidemiology, pathology and control of *Tunga penetrans* in Brazil. V. Cytokine concentrations in experimentally infected Wistar rats. *Parasitol Res* 2004;(94):371-376.
- (22) Witt L, Heukelbach J, Schwalfenberg S, Ribeiro RA, Harms G, Feldmeier H. Short report: Infestation of Wistar rats with *Tunga penetrans* in different microenvironments. *Am J Trop Med Hyg* 7 A.D.; 76(4):in print.
- (23) Matias RS. Epidemia de tungíase no Rio Grande do Sul. *Rev Soc Bras Med Trop* 1989; 22:137-142.
- (24) Heukelbach J, Franck S, Feldmeier H. High attack rate of *Tunga penetrans* (Linnaeus 1758) infestation in an impoverished Brazilian community. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 2004.
- (25) Valença ZO, Cardoso AEC, Cardoso AS. Tunguiase generalizada: relato de dois casos tratados com thiabendazol. *Dermatologia Ibero-Latino-Americana* 1972; 3:375-378.

- (26) Heukelbach J, de Oliveira FA, Hesse G, Feldmeier H. Tungiasis: a neglected health problem of poor communities. *Trop Med Int Health* 2001; 6(4):267-272.
- (27) Rietschel W. [Observations of the sand flea (*Tunga penetrans*) in humans and dogs in French Guiana]. *Tierarztl Prax* 1989; 17(2):189-193.
- (28) Konan YL, Sylla MS, Doannio JM, Traore S. Comparison of the effect of two excipients (karite nut butter and vaseline) on the efficacy of *Cocos nucifera*, *Elaeis guineensis* and *Carapa procera* oil-based repellents formulations against mosquitoes biting in Ivory Coast. *Parasite* 2003; 10(2):181-184.
- (29) Sylla M, Konan L, Doannio JM, Traore S. Evaluation of the efficacy of coconut (*Cocos nucifera*), palm nut (*Elaeis guineensis*) and gobi (*Carapa procera*) lotions and creams in individual protection against *Simulium damnosum* s.l. bites in Cote d'Ivoire. *Bull Soc Pathol Exot* 2003; 96(2):104-109.
- (30) Govere J, Durrheim DN, Baker L, Hunt R, Coetzee M. Efficacy of three insect repellents against the malaria vector *Anopheles arabiensis*. *Med Vet Entomol* 2000; 14(4):441-444.
- (31) Wilcke T, Heukelbach J, Cesar Saboia MR, Regina SK-P, Feldmeier H. High prevalence of tungiasis in a poor neighbourhood in Fortaleza, Northeast Brazil. *Acta Trop* 2002; 83(3):255-258.

Lebenslauf

Mein Lebenslauf wird aus Datenschutzgründen in der elektronischen Version meiner Arbeit nicht veröffentlicht.

Danksagungen

Ich danke meinem Doktorvater Professor Feldmeier Prof. Feldmeier, Jörg Heukelbach, der Associação de Moradores do Sandra's, Associação de Moradores de Novo Rumo, Valeria Assunção, Vania Santos de Andrade, Maria Fátima de Cavalcante, der Studienstiftung des deutschen Volkes, Ingo Steffen, Jan Hauer und meinen Eltern und Geschwistern.

Eidesstattliche Erklärung

Ich, Judith Dorothea Kehr, erkläre an Eides statt, dass ich die vorgelegte
Dissertationsschrift mit dem Thema: „Morbidity and Prävention der Tungiasis in einer
Armensiedlung in Nordost-Brasilien“ selbst verfasst und keine anderen als die
angegebenen Quellen und Hilfsmittel benutzt, ohne die (unzulässige) Hilfe Dritter verfasst
und auch in Teilen keine Kopien anderer Arbeiten dargestellt habe.

Erklärung über den Eigenanteil

Die Promovendin hatte folgenden Anteil an den eingereichten Publikationen:

Publikation 1:

High exposure to *Tunga penetrans* (Linnaeus, 1758) correlates with intensity of infestation

65 % Beitrag im Einzelnen: Mitbeteiligung an der Planung der Studie, Durchführung der Feldstudie in Brasilien, Erhebung der klinischen Daten, Auswertung der Daten und Erstellung der Grafiken und Tabellen.

Publikation 2:

A plant-based repellent protects against *Tunga penetrans* infestation and sand flea disease

65% Beitrag im Einzelnen: Mitbeteiligung an der Planung der Studie, Durchführung der Feldstudie in Brasilien, Erhebung der klinischen Daten, Auswertung der Daten und Erstellung der Grafiken und Tabellen.

Publikation 3:

Morbidity assessment in sand flea disease (*tungiasis*)

80% Beitrag im Einzelnen: Mitbeteiligung an der Planung der Studie, Durchführung der Feldstudie in Brasilien, Erhebung der klinischen Daten, Auswertung der Daten, Erstellung der Grafiken und Tabellen, Verfassen des Textes.

Publikationsliste

1.

High exposure to *Tunga penetrans* (Linnaeus, 1758) correlates with intensity of infestation

Hermann Feldmeier, Judith Dorothea Kehr, Gabriele Poggensee, Jörg Heukelbach

Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, Rio do Janeiro, Vol. 101(1): S. 65-69, Februar 2006

2.

A plant-based repellent protects against *Tunga penetrans* infestation and sand flea disease

Hermann Feldmeier, Judith Dorothea Kehr, Jörg Heukelbach

Acta Tropica (2006) Vol. 99 (2-3): S. 126 - 136, Oktober 2006, Epub 2006 Sept. 29

3.

Morbidity assessment in sand flea disease (*tungiasis*)

Judith Dorothea Kehr, Jörg Heukelbach, Heinz Mehdorn, Hermann Feldmeier

Parasitology Research (2007) 100: S. 413 – 421, Januar 2007, Epub 2006 Okt. 21