

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

DISSERTATION

Klinische Pathologie und Prävention der Tungiasis in einem
Armengebiet in Nordost-Brasilien

zur Erlangung des akademischen Grades
Doctor medicinae (Dr. med.)

vorgelegt der Medizinischen Fakultät
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

John Alexander Buckendahl

aus Hannover

Datum der Promotion: 22.06.2014

Inhaltsverzeichnis

1. Abstract	3
2. Abstrakt	4
3. Einleitung	6
4. Methoden	7
4.1 Studiengebiete	7
4.2 Studiendesign:	8
4.2.1 Messung der Infestationsintensität und klinischen Pathologie	8
4.2.2 Interventionsstudie	9
4.2.3 Vergleich der topographischen Verteilung von Sandflohläsionen bei Wistar-Ratten und Menschen	10
4.3 Statistische Auswertung	10
4.4 Ethische Aspekte	10
5. Ergebnisse	11
5.1 Messung der Infestationsintensität und klinischen Pathologie	11
5.2 Initiale Intervention	11
5.3 Interventionsstudie	11
5.3.1 Infestationsintensität	12
5.3.2 Tungiasis-assoziierte klinische Pathologie	14
5.4 Vergleich der topographischen Verteilung von Sandflohläsionen bei Wistar-Ratten und Menschen	16
6. Diskussion	17
6.1 Infestationsintensität und klinischen Pathologie	17
6.2 Prävention durch Applikation eines Repellent	17
6.3 Vergleich der topographischen Verteilung von Sanflohläsionen bei Wistar-Ratten und Menschen	18
7. Referenzen	20
8. Anteilserklärung an den erfolgten Publikationen	22
9. Druckexemplar Publikation 1	23
10. Druckexemplar Publikation 2	28
11. Druckexemplar Publikation 3	31
12. Lebenslauf	40
13. Publikationsliste	41
14. Eidesstattliche Versicherung	42
15. Danksagung	43

1. Abstract

Background: Tungiasis, an ectoparasitosis caused by the female sand flea *Tunga penetrans*, is an important health problem in many impoverished communities in the tropics^{1, 2, 3, 4, 5}. In this study we investigated, whether the intermittent application of a plant based repellent (Zanzarin ®) keeps the infestation rate at an acceptable low level, and prevents severe clinical pathology to develop. Another aim was to compare the topographic distribution of embedded sand fleas in humans and Wistar rats.

Methodology: 142 inhabitants of a shantytown in Fortaleza/Brazil, who had an elevated parasite load, were identified. The number of lesions, localization, staging and clinical pathology and the demographic and socioeconomic characteristics were recorded.

We compared the topographic distribution of lesions in patients with the distribution of penetrated sandfleas in 80 laboratory raised Wistar rats. The rats were placed in cages for a period of 14 days and examined daily for the presence of new sand flea lesions.

The patients were randomized into three cohorts. Initially, during a period of four weeks, the repellent was applied twice daily to the feet of all cohort members, to reduce the infestation intensity to 0. Thereafter members of cohort A applied the repellent every second week twice daily for one week, members of cohort B every fourth week for one week. Members of cohort C did not receive any treatment and served as controls. Infestation intensity and tungiasis-associated morbidity were monitored during five months.

Results: 64,7% of households had constructed their homes from recycled material and 50.7% of the houses possessed no solid ground (wood, concrete, stone). 97% of households had connection to the electricity network, 83% of households were connected to the public water supply. The average monthly wage was 119 Real (interquartile range 60-200 Real), which corresponded to the time of study 52 € (interquartile range 25-81 €). The median age was eight years (minimum 1 - maximum 66). 48% of the participants were male and 52% female. In 93% of the participants we found edema of the feet, 70.9% of participants had fissures and pain when walking and 99.3% had nail deformities. A total of 3,445 *T. penetrans* lesions were found (median 17 lesions, minimum 5, maximum 98 lesions).

After 14 days of exposure 59 of 80 animals (74%) were infested. Per animal penetrated median two sand fleas (interquartile range 1-6). The topographical distribution of the penetrated sand fleas was almost identical in Wistar rats and patients. The patients had 70.2% of the lesions on the toes, and the Wistar rats, 65.7% in the phalanges ($p = 0.79$). Toe and Digitus 1 and 5 were affected significantly more often than the other toes ($p = 0.004$ and $p = 0.002$).

During the five-month interventional study the infestation intensity in cohort A was reduced to a median of 4 lesions (Interquartile Range 1 - 9). Compared to cohort A in cohort B the infestation intensity remained twice as high (median 8 lesions, Interquartile Range 9 - 16; $p = 0.0035$) and in the control cohort C 3.5 times as high (median 14 lesions; Interquartile Range 7 - 26; $p = 0.004$). Tungiasis-related acute pathology remained very low in cohort A (median severity score 2; Interquartile Range 1 - 4; Baseline severity score 12, $p < 0.001$). Compared to cohort A, the median severity score in Cohort B remained more than three times as high: 5 (Interquartile Range 3 - 7; $p < 0.001$) and control cohort C even more than tripple as high: 6.5 (Interquartile Range 4 - 8; $p < 0.001$).

Conclusions/Significance: Our data show that tungiasis was associated with severe morbidity. We also show that in a setting with intense transmission infestation intensity and tungiasis-associated morbidity can be controlled through the intermittent application of a plant-based repellent. The application every fourth week is not sufficient to reduce the tungiasis-associated morbidity and infestation intensity in cohort B acceptably. The Wistar rat model mirrors human tungiasis in topographic distribution.

2. Abstrakt

Hintergrund: Die Tungiasis stellt ein häufiges Gesundheitsproblem in ökonomisch schwachen Bevölkerungen tropisch und subtropischer Länder in Südamerika, der Karibik und in Afrika südlich der Sahara dar ^{1, 2, 3, 4, 5}. Das Ziel der Arbeit bestand darin, den Einfluss einer Intervallapplikation des Repellents Zanzarin® auf die Infestationsintensität und klinische Pathologie der Tungiasis in einer Feldinterventionsstudie zu untersuchen. Eine weitere Zielsetzung war, die topographische Verteilung penetrierter Sandflöhe bei Wistar-Ratten und beim Menschen zu vergleichen.

Methoden: In einem Armenviertel in Fortaleza (Nordost-Brasilien) wurde eine randomisierte kontrollierte Interventionsstudie mit einem gegen Sandflöhe wirksamen Repellent (Zanzarin ®) durchgeführt. Zu Beginn wurden die demographischen und sozioökonomischen Charakteristika der 142 Teilnehmer erhoben und Infestationsintensität, die klinische Pathologie und die topographische Verteilung der Sandflohläsionen bestimmt. Zum Vergleich der topographischen Verteilung der penetrierten Sandflöhe bei Mensch und Ratte wurden 80 Wistar-Ratten in Käfigen auf dem Erdboden platziert und zwei Wochen lang täglich auf neue Tungiasis-Läsionen untersucht.

In der ersten Studienphase der Interventionsstudie wurde vier Wochen lang, zweimal täglich das

Repellent auf die Füße der Teilnehmer der Studie aufgetragen, um die Infestationsintensität auf Null zu senken. Dann wurden die Partizipanten in drei Gruppen (A, B und C) randomisiert. Teilnehmer aus der Gruppe A erhielten jede zweite Woche, Teilnehmer der Gruppe B jede vierte Woche, für jeweils eine Woche das Repellent. Gruppe C wurde nicht behandelt und diente als Kontrollgruppe. Die Infestationsintensität und Tungiasis-assoziierte klinische Pathologie wurden im Wochenabstand dokumentiert.

Ergebnisse: 64,7 % der Haushalte hatten ihre Häuser aus recyceltem Material konstruiert und 50,7 % der Häuser verfügten über keinen festen Boden (Holz, Beton, Stein). 97 % der Haushalte hatten Anschluss an das Stromnetz, 83 % der Haushalte waren an die öffentliche Wasserversorgung angeschlossen. Das mittlere monatliche Einkommen lag bei 119 Real (Interquartilabstand 60 – 200 Real), ungefähr 52 € (Interquartilabstand 25 – 81 €). Der Altersmedian lag bei acht Jahren (Minimum 1 – Maximum 66). 48 % der Teilnehmer waren männlichen und 52 % weiblichen Geschlechts. Bei der Basisuntersuchung war die Tungiasis-assoziierte klinische Pathologie sehr ausgeprägt. Bei 93 % der Teilnehmer fanden sich Ödeme an Füßen, 70,9 % der Teilnehmer hatten Fissuren und Schmerzen beim Laufen und 99,3 % zeigten Nageldeformationen. Es fanden sich insgesamt 3,445 *T. penetrans* Läsionen (Median 17 Läsionen, Minimal 5, Maximal 98 Läsionen).

Nach 14 Tagen Exposition waren 59 von 80 Tieren (74 %) infestiert. Pro Tier penetrierten im Median zwei Sandflöhe (Interquartilabstand 1 – 6). Die topographische Verteilung der penetrierten Sandflöhe war bei Wistar-Ratten und Patienten nahezu identisch. Die Patienten hatten 70,2 % der Läsionen an den Zehen, und die Wistar-Ratten 65,7 % an den Phalangen ($p = 0.79$). Zeh und Digitus 1 und 5 waren signifikant häufiger betroffen als die anderen Zehen ($p=0.004$ und $p=0.002$).

Während der fünfmonatigen Intervallapplikation des Repellents lag die Infestationsintensität in Gruppe A im Median bei 4 (Interquartilabstand 1 – 9). In Gruppe B fand sich im Vergleich zu Gruppe A eine zweimal so hohe Infestationsintensität: Median = 8 (Interquartilabstand 9 – 16; $p = 0.0035$), und in Kontrollgruppe C eine dreieinhalbfach erhöhte Infestationsintensität: Median = 14 (Interquartilabstand 7 – 26; $p = 0.004$). Der Index für akute Tungiasis-assoziierte klinische Pathologie (SSAT) sank in der Gruppe A während der gesamten Intervention auf einen Median Wert von 2 (Interquartilabstand 1 – 4, Ausgangswert 12, $p < 0.001$). Im Vergleich zu Gruppe A blieb der Medianwert des SSAT-Index in Gruppe B zweieinhalbfach so hoch: 5 (Interquartilabstand 3 – 7; $p < 0.001$) und in der Kontrollgruppe C mehr als dreimal so hoch: 6.5 (Interquartilabstand 4 – 8; $p < 0.001$).

Zusammenfassung: Es zeigte sich, dass in einem Armenviertel einer brasilianischen Großstadt die Tungiasis mit einer ausgeprägten klinischen Pathologie assoziiert ist. Durch die zweiwöchentliche Intervallapplikation von Zanzarin® wurden die Tungiasis-assoziierte klinische Pathologie und die Infestationsintensität der Tungiasis signifikant reduziert. Die Anwendung des Repellents jede vierte Woche in Gruppe B reichte nicht aus, um die Infestationsintensität und klinische Pathologie angemessen zu senken. Die topographische Verteilung der penetrierten Sandflöhe ist bei Patienten und Wistar-Ratten nahezu identisch.

3. Einleitung

Tungiasis stellt ein häufiges Gesundheitsproblem in ökonomisch schwachen Bevölkerungen tropisch und subtropischer Länder in Südamerika, der Karibik und in Afrika südlich der Sahara dar. Prävalenzen in der Gesamtbevölkerung von 50 % sind häufig^{1, 2, 3, 4, 5}. Die Ektoparasitose ist mit Armut assoziiert und kommt in Slums, im unterentwickelten Hinterland oder in Dörfern entlang der Küste vor^{6, 7, 8, 2, 5, 6, 9, 10, 11, 12}. Altersspezifische Prävalenzkurven zeigen ein Maximum bei Kindern von fünf bis 14 Jahren und bei Erwachsenen über 60 Jahren^{1, 10}. Nur der weibliche Sandfloh (*Tunga penetrans*) penetriert permanent in die Epidermis und saugt Blut aus den Kapillaren der Dermis. Innerhalb von zehn Tagen nach der Penetration vergrößert sich das Abdomen etwa um den Faktor 2000¹³. Der Sandfloh expulsiert in einem Zeitraum von 20 – 30 Tagen ca. 200 Eier¹³. Dann stirbt er intradermal ab, und Überreste des toten Parasiten werden sukzessive von der nachwachsenden Epidermis eliminiert^{9, 14}.

Als Ursachen für die ausgeprägte klinische Pathologie der Tungiasis werden mehrere Faktoren diskutiert^{15, 16}. Durch den in der Epidermis wachsenden Fremdkörper und den dadurch erhöhten Gewebedruck werden proinflammatorische Zytokine freigesetzt. Ein weiterer Pathomechanismus könnte mit der Präsenz von *Wolbachia* zusammenhängen. Dies sind endosymbiontische Bakterien, die fast immer bei penetrierten Sandflöhen nachgewiesen werden können. Wolbachien setzen beim Absterben Lipopolysaccharide mit einer starken entzündungsfördernden Wirkung frei^{15, 16}. Die regelmäßig vorhandene Superinfektion der Läsionen mit Staphylokokken und gramnegativen Keimen kann die Entzündungsreaktion ebenfalls verstärken^{15, 16}.

Eine wirksame Therapie gegen penetrierte Sandflöhe gibt es derzeit nicht^{1, 2, 3, 4, 5}. Prävention bildet daher die einzige Möglichkeit, eine Tungiasis-assoziierte klinische Pathologie zu verhindern. In einer früheren Feldstudie in Nordost-Brasilien führte die zweimal tägliche Anwendung eines Repellents auf Basis von Kokosöl (Zanzarin®) zu einer kompletten Reduktion

der Tungiasis-assoziierten klinischen Pathologie und senkte die Reinfestationsrate auf Null^{1,2}. Die Tungiasis ist eine klassische Zoonose und Katzen, Hunde, Schweine und Ratten sind wichtige Reservoirs¹⁷. Systematische Studien zur topographischen Verteilung bei Tieren existieren bisher nicht. Beim Menschen ist die topographische Verteilung der Sandflöhe ausgesprochen heterogen, wobei die Prädispositionsstellen die periungualen Bereiche, Ferse und der laterale Fußrand sind. Häufig liegen die Läsionen in Clustern¹⁸. Die Tungiasis ist in über 97 % der Fälle an den Füßen lokalisiert¹⁸.

Die vorliegende Dissertation war Teil eines übergeordneten Forschungsprojekts zur Epidemiologie, Morbidität und Kontrolle der Tungiasis in brasilianischen Armensiedlungen. Das Ziel der Dissertation bestand darin, den Einfluss einer Intervallapplikation des Repellents Zanzarin® auf die Infestationsintensität und klinische Pathologie der Tungiasis in einer Feldinterventionssstudie regelmäßig zu untersuchen. Eine weitere Zielsetzung war, die topographische Verteilung penetrierter Sandflöhe bei Wistar-Ratten und beim Menschen zu vergleichen.

4. Methoden

4.1 Studiengebiete

Das Studiengebiet für die Interventionsstudie war die Favela Vicente Prinzón (eine typische urbane Armensiedlung) in Fortaleza, der Hauptstadt des Bundesstaats Ceará, im Nordosten Brasiliens. Die Favela liegt auf Sanddünen an der Peripherie von Fortaleza. Sie wurde in den 1950er Jahren durch Wanderarbeiter aus dem armen Hinterland besiedelt¹³. 2007 lebten dort ungefähr 20.000 Einwohner. Die Lebensbedingungen sind prekär. Es existiert keine Kanalisation und keine funktionierende Müllabfuhr. Es herrschen Analphabetismus und hohe Arbeitslosigkeit^{10, 11, 13}. Drogenhandel und -missbrauch, Alkoholismus, Kriminalität, häusliche Gewalt und jugendliche Prostitution stellen große soziale Probleme dar. Parasitäre Hauterkrankungen (Skabies, Pediculosis capitis und cutane Larva migrans) sind weit verbreitet^{19, 20, 21}.

Als weiteres Gebiet für die Studie über den Vergleich der topographischen Verteilung von Sandflohläsionen bei Wistar-Ratten und Menschen wurde neben der Favela Vicente Prinzón, das Fischerdorf Balbino gewählt. Balbino liegt ca. 60 km südlich von Fortaleza auf einer Düne und umfasste zum Zeitpunkt der Studie ca. 680 Einwohner. Viele Familien besitzen Haustiere, meist Hunde und Katzen. Die Fußböden der Häuser bestehen fast immer aus Sand. Zum Zeitpunkt der Studie betrug die Prävalenz der Tungiasis in der Bevölkerung 51 %¹⁰. Beide Studiengebiete sind hinsichtlich ihrer epidemiologischen und demographischen Charakteristika vergleichbar^{1,10,18,20}.

4.2 Studiendesign:

4.2.1 Messung der Infestationsintensität und klinischen Pathologie

Mit Hilfe des Einwohnerkomitees und Mitarbeitern des lokalen Gesundheitszentrums wurden Einwohner mit Tungiasis ausfindig gemacht. Einschlusskriterium für die Interventionsstudie war das Vorliegen von mindestens fünf Sandflohläsionen im Stadium II-III der Fortaleza-Klassifikation¹³. Die Fortaleza-Klassifikation teilt die Tungiasis in fünf verschiedenen Stadien ein. Stadium I ist die Phase der Penetration, sie bleibt meist unbemerkt. Im Stadium II (ein bis zwei Tage nach der Penetration) entwickelt sich eine runde, gelblich-weiße, scharf begrenzte Erhebung der Haut mit einem zentralen schwarzen Punkt. Im Stadium III (zwei bis etwa 21 Tage nach Penetration) erreicht der Parasit mit einem Durchmesser von etwa 10 mm seine maximale Größe. Die Hypertrophie imponiert als weißlich runde, uhrglasartige Erhebung mit einer prall-elastischen Konsistenz. Im Stadium IV (drei bis fünf Wochen nach Penetration) verliert die Läsion ihre Konsistenz und wird von einer bräunlich-schwarzen kreisförmigen Kruste bedeckt. Im Stadium V sind die Überreste bereits durch Hautreparaturmechanismen eliminiert und eine kreisförmige Narbe erkennbar^{1,13}.

Bei allen Teilnehmern wurden zu Beginn die Infestationsintensität (Anzahl der Läsionen im Stadium II-III + manipulierte Läsionen), die topographische Verteilung und die assoziierte klinische Pathologie bestimmt. Die Stadieneinteilung erfolgte anhand der Fortaleza-Klassifikation¹³. Manipulierte Läsionen, die durch die Extraktion von Sandflöhen mit scharfen Instrumenten, wie beispielsweise Sicherheitsnadeln, entstehen, wurden ebenfalls dokumentiert. Die exakte topographische Lokalisation der einzelnen Läsionen wurde auf einem visuellen Dokumentationsbogen erfasst. Zusätzlich wurden die demographischen und sozioökonomischen Charakteristika der Haushalte erhoben. Um die Tungiasis-assoziierte akute klinische Pathologie zu quantifizieren, wurde der Severity Score for Acute Tungiasis (SSAT) genutzt¹. Der SSAT umfasst Schmerzen, Juckreiz, Gehschwierigkeiten und folgende Symptome: Erythem, Ödem, Überwärmung, Abszess, Suppuration, Fissur, Ulcus. Der SSAT-Index kann zwischen 0 – 24 Punkten schwanken. Die chronische Tungiasis-assoziierte Pathologie wurde anhand des Severity Score for Chronic Tungiasis (SSCT) gemessen¹. Der SSCT-Index wird aus dem Vorliegen von Hyperkeratose, hypertrophem Nagelwall, Deformation oder Verlust des Nagels und Deformation eines Zehes durch chronisches Ödem und/oder Narbeneinschnürungen gebildet¹. Der SSCT-Index kann zwischen 0 – 33 Punkten liegen.

4.2.2 Interventionsstudie

Die Interventionsstudie wurde in zwei Phasen durchgeführt: In einer initialen vierwöchigen Intervention mit einer zweimal täglichen Behandlung der Füße mit Zanzarin®, mit dem Ziel, die Zahl der penetrierten Sandflöhe auf Null zu senken. In der zweiten Phase erfolgte eine fünfmonatige Applikation von Zanzarin®, in der die Schutzwirkung verschiedener Applikationsintervalle des Repellents verglichen und die optimale Therapiesequenz ermittelt wurde. Zu diesem Zweck wurden die Teilnehmer in drei Gruppen randomisiert (siehe unten). Teilnehmer der Gruppe A wurden alle zwei Wochen und Teilnehmer der Gruppe B alle vier Wochen jeweils für eine Woche (morgens und abends) mit Zanzarin® behandelt. Die Teilnehmer der Gruppe C erhielten kein Repellent (Kontrollgruppe). Während der fünfmonatigen Intervention wurden alle Teilnehmer in Abständen von zwei Wochen auf neue penetrierte Sandflöhe untersucht. Der SSAT- und SSCT-Index wurden alle vier Wochen erhoben.

Die Randomisierung in die Gruppen erfolgte nach Haushalten und mittels permutierter Blöcke. Durch die Randomisierung nach Haushalten sollten Verwechslungen bei unterschiedlichen Applikationsschemata innerhalb des gleichen Haushaltes vermieden werden. Dadurch wurde auch ausgeschlossen, dass Partizipanten aus der Kontroll- und Interventionsgruppe in einem Haushalt lebten. Um einen Unterschied in der Infestationsintensität von 50 % zwischen der Kontrollgruppe (keine Intervention) und den Gruppen A und B (Intervallapplikation von Zanzarin®) nachweisen zu können, mussten 42 Individuen pro Gruppe aufgenommen werden (Signifikanzniveau 95 %, Power 80 %). Es wurde ein Dropout-Rate von 15 % einkalkuliert, so dass eine Gruppe 50 Individuen enthalten sollte.

Applikation des Repellent: Die Lotion wurde zweimal täglich (zwischen 6 – 8 h und 16 – 18 h) durch ausgebildete Gesundheitsassistenten auf beide Füße bis zu den Knöcheln aufgetragen. Pro Studienteilnehmer und Besuch wurden dabei ca. 3 ml Zanzarin® gleichmäßig auf die Zehen, Interdigitalräume sowie Ferse und Fußsohle appliziert. Jede Applikation wurde von den Studienassistenten auf einer Liste dokumentiert. Um die korrekte Applikation der Lotion zu überprüfen, führte ich regelmäßig Stichproben durch. Zusätzlich wurden die Studienteilnehmer bei jeder Untersuchung befragt, ob die Applikationen des Repellents wie vorgesehen durchgeführt worden war. Zanzarin® (Engelhard Arzneimittel GmbH & Co KG, Niederdorfelden) enthält als wirksame Komponente Caprylsäure in einer Konzentration von 8 %. Caprylsäure ist eine Fettsäure aus *Cocos nucifera* (Kokospalme). Zanzarin® wird in Deutschland als Repellent mit schützenden Eigenschaften gegen Culicidae und Zecken eingesetzt.

Anfang Oktober wurde ein Mitarbeiter der Arbeitsgruppe auf offener Straße erschossen. Deshalb mussten die Nachuntersuchungen vom 7. November bis 21. November unterbrochen werden. Die Applikation des Repellent wurde durch die Gesundheitsassistenten wie vorgesehen weitergeführt.

4.2.3 Vergleich der topographischen Verteilung von Sandflohläsionen bei Wistar-Ratten und Menschen

Zum Vergleich der topographischen Verteilung der penetrierten Sandflöhe bei Ratte und Mensch wurden 80 im Labor gezüchtete, vier Wochen alte Wistar-Ratten (180 – 200 Gramm) in Käfigen à vier bis sechs Tieren im Fischerdorf Balbino platziert. Zwei Wochen lang wurden die Käfige im Schatten auf dem sandigen Boden abgestellt, sodass sich die Tiere in direktem Kontakt mit *T. penetrans* befanden. Die Käfige wurden um Haushalte platziert, in denen mindestens ein Mitglied Tungiasis aufwies. Die Ratten erhielten Futter und Wasser *ad libitum*. Sie wurden jeden Tag auf neu penetrierte Sandflöhe untersucht. Die topographische Verteilung der penetrierten Sandflöhe der Ratten im Stadium II-IV der Fortaleza-Klassifikation wurde dann mit der topographischen Verteilung bei den Patienten verglichen.

4.3 Statistische Auswertung

Die Daten wurden in eine Epi-Info-Datenbank (CDC, Atlanta, Ver. 6.04d) eingegeben. Zur Analyse der Daten wurden SigmaStat® und SigmaPlot® genutzt (Systat Software GmbH, San José, Version 2007). Da die Variablen nicht normalverteilt waren, wurden die Mediane und Interquartil-Abstände als Indikator für die zentrale Tendenz und die Streuung der Daten gewählt. Für die statistische Auswertung wurden parameterfreie Verfahren eingesetzt: der Spearman-Rank, Korrelationskoeffizient-Test und der Wilcoxon-Test für gepaarte Zielgrößen. Unverbundene Daten wurden mit dem Mann-Whitney-U-Test untersucht. Den primären Endpunkt der Interventionsstudie bildete die Infestationsintensität, den sekundären Endpunkt die Tungiasis-assoziierte klinische Pathologie.

4.4 Ethische Aspekte

Die Studie wurde durch die Ehtikkommission der Universidade Federal do Ceará, Brasilien genehmigt (43/05, SINESP) und bei Controlled-trials.com registriert (ISRCTN16910507). Schriftliche Einverständniserklärungen wurden von allen Studienteilnehmern und bei Minderjährigen von den Eltern oder deren gesetzlichen Vertretern eingeholt.

5. Ergebnisse

5.1 Messung der Infestationsintensität und klinischen Pathologie

In die Basisuntersuchung wurden 142 Patienten eingeschlossen. 64,7 % der Haushalte hatten ihre Häuser aus Bauresten und recyceltem Material konstruiert und 50,7 % der Häuser verfügten über keinen festen Boden (Holz, Beton, Stein). 97 % der Haushalte hatten Anschluss an das Stromnetz, 83 % der Haushalte waren an die öffentliche Wasserversorgung angeschlossen. 76,7 % der Haushalte verfügten über kein Mitglied mit abgeschlossener Schulbildung, nur in 23,3 % der Haushalte gab es ein Mitglied mit mittlerer Schulreife. Das mittlere monatliche Einkommen lag bei 119 Real (Interquartilabstand 60 – 200 Real), dies entsprach zum Zeitpunkt der Studie 52 € (Interquartilabstand 25 – 81 €). Der Altersmedian der 142 Patienten lag bei acht Jahren (Minimum 1 – Maximum 66). 48 % der Teilnehmer waren männlichen und 52 % weiblichen Geschlechts.

Bei der Basisuntersuchung fanden sich 3,445 *T. penetrans*-Läsionen (Median 17 Läsionen, Minimum 5, Maximum 98 Läsionen). Die Tungiasis-assoziierte akute klinische Pathologie war, gemessen mit dem SSAT-Index, stark ausgeprägt: Median 9 (Interquartilabstand 6 – 13). Die Tungiasis-assoziierte chronische klinische Pathologie (SSCT) war ebenfalls schwerwiegend: Median 12 (Interquartilabstand 9 – 15). Die Infestationsintensität und klinische Pathologie bei Basisuntersuchung sind in der Tabelle 1 zusammengefasst.

5.2 Initiale Intervention

Durch die vierwöchige initiale Intervention mit Zanzarin® wurde die Infestationsintensität im Median von 17 (Interquartilabstand 11 – 30) auf 0 (Interquartilabstand 0 – 1; $p < 0.001$) gesenkt (Abbildung 1; KW27 versus KW 30). Gleichzeitig sank der SSAT-Index von 9 (Interquartilabstand 6 – 13) auf 0 (Interquartilabstand 0 – 1; $p < 0.001$) (Abbildung 2; KW27 versus KW 30). Der Index für die chronische klinische Pathologie (SSCT) fiel von 12 (Interquartilabstand 9 – 15) auf 7 (Interquartilabstand 5 – 10; $p < 0.001$) (Abbildung 3; KW27 versus KW 30).

5.3 Interventionsstudie

Von den 142 Studienteilnehmern wurden 25 von der Datenauswertung ausgeschlossen, da sie bei zwei aufeinander folgenden Nachuntersuchungen nicht angetroffen wurden. Von den 117 verbleibenden Studienteilnehmern gehörten 43 zu der Gruppe A, 33 zu der Gruppe B und 41 zu der Kontrollgruppe C. Die demographischen und klinischen Charakteristika der Teilnehmer der drei Gruppen unterschieden sich nicht.

Tabelle 1: Infestationsintensität und klinische Pathologie bei der Basisuntersuchung

Merkmal	n = 142
Infestationsintensität	Median (Interquartilabstand)
Anzahl Gesamtläsionen	17 (12 – 30)
Anzahl vitalen Läsionen (Stadium I-IV)	6 (4 – 11)
Anzahl manipulierte Läsionen	4,5 (3 – 8,5)
Akute klinische Pathologie	n (%)
Severity Score for Acute Tungiasis (SSAT) (Median + Interquartilabstand)	9 (6 – 13)
Ödem und Erythem	133 (93,7)
Juckreiz	114 (80,3)
Druckschmerz	100 (70,9)
Fissur	98 (69)
Gehbeschwerden	85 (58,9)
Abszess/Suppuration	59 (41,6)
Ulzeration	38 (26,8)
Chronische klinische Pathologie	n (%)
Severity Score for Chronic Tungiasis (SSCT) (Median + Interquartilabstand)	12 (9 – 15)
Nageldeformation	141 (99,3)
Hyperkeratose	132 (93)
Desquamation	131 (92,3)
Nagelverlust	65 (45,8)
Zehdeformation	35 (24,6)

5.3.1 Infestationsintensität

Die Gesamtzahl der Läsionen (Stadium II-IV + manipulierte Läsionen) während des Interventionszeitraums ist in Abbildung 1 dargestellt.

In Gruppe A zeigte sich ein Anstieg der Infestationsintensität von einem Median von 0 auf maximal 6 (Interquartilabstand 2 – 8) zwischen der Kalenderwoche (KW) 31 und 40 beobachtet ($p < 0.001$). Im weiteren Behandlungszeitraum ging die Infestationsintensität auf einen Median von 2 (Interquartilabstand 0 – 7) in KW 44 zurück. Am Ende des Interventionszeitraums (KW 52) lag die Infestationsintensität bei einem Median von 5 (Interquartilabstand 1 – 10; $p < 0.001$) und damit signifikant unter dem Ausgangswert der KW 27.

In Gruppe B wurde während des gesamten Interventionszeitraums ein stärkerer Anstieg der Infestationsintensität gemessen. Sie erhöhte sich von einem Median von 0 bis auf maximal 9

(Interquartilabstand 3 – 18; $p > 0.002$; (verglichen mit Gruppe A)) in KW 44. Am Ende des Beobachtungszeitraums (KW 52) lag die Infestationsintensität bei einem Median von 8 (Interquartilabstand 4 – 16; $p < 0.001$; (verglichen mit Gruppe A)) (Abbildung 1).

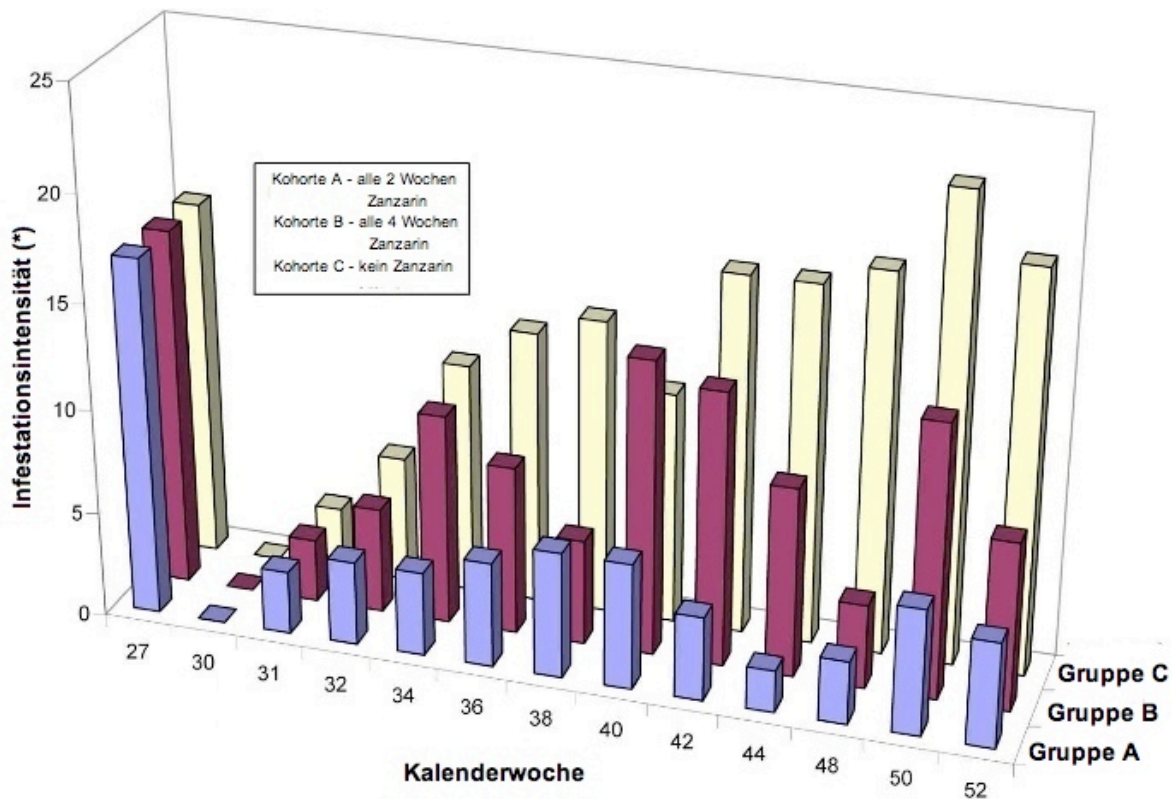


Abbildung 1: Median der Infestationsintensität in den drei Gruppen während des gesamten Studienzeitraums (KW 27-52) *(Anzahl der vitalen Läsionen im Stadium I-IV der Fortaleza Klassifikation und manipulierten Läsionen)

In der Kontrollgruppe C zeigte sich ein konstanter Anstieg der Infestationsintensität von einem Median von 0 auf maximal 19 (Interquartilabstand 10 – 34) in KW 50. Die Infestationsintensität während des gesamten Interventionszeitraums (KW 31 – 52) war in Gruppe C im Median signifikant höher als in Gruppe A ($p = 0.004$) und Gruppe B ($p = 0.01$).

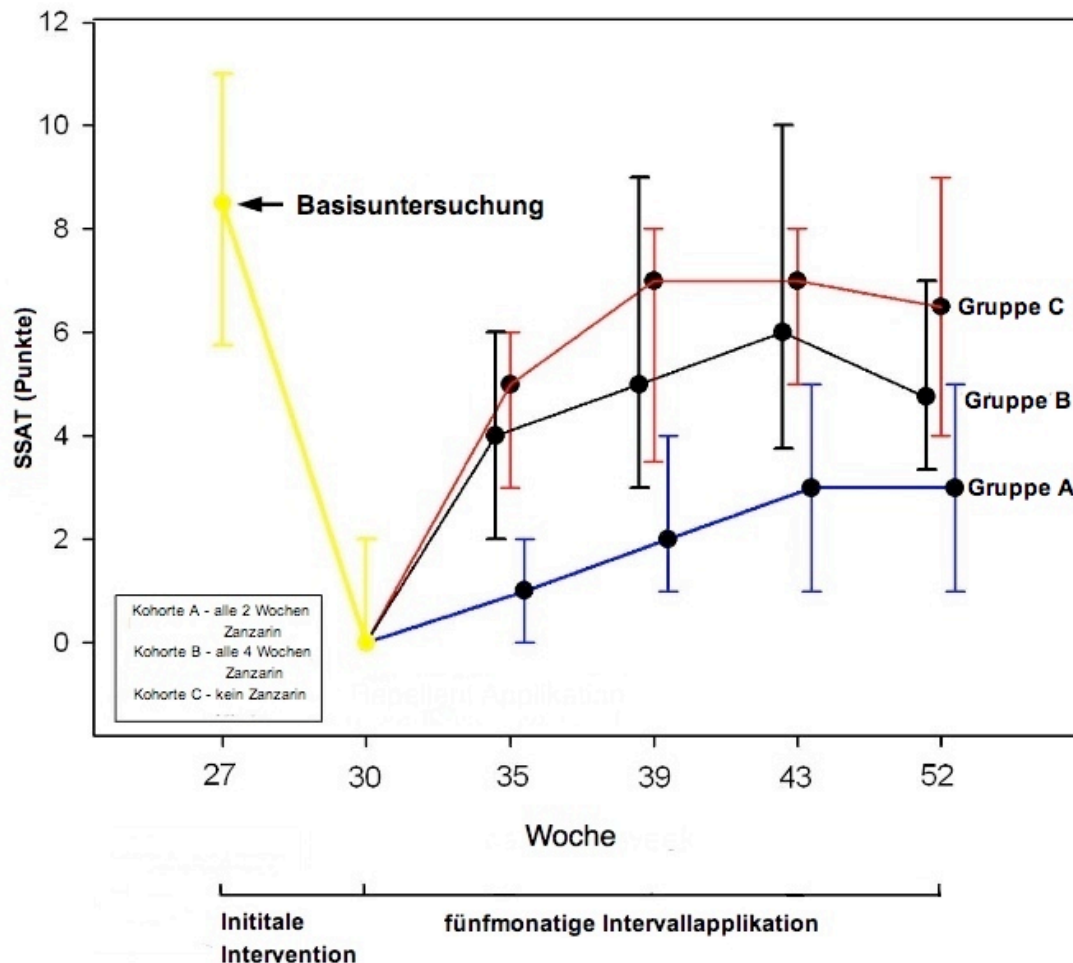


Abbildung 2: Veränderung des SSAT Index (Mediane + Interquartilabstände) bei der Basisuntersuchung und während der Interventionsstudie (zur besseren Lesbarkeit sind die Werte der Gruppe A um +0,2 und der Gruppe B um -0,2 Punkte auf der X-Achse verschoben)

5.3.2 Tungiasis-assoziierte klinische Pathologie

In Abbildung 2 ist der SSAT-Index während des Studienzeitraums dargestellt. In Gruppe A stieg der SSAT-Index im ersten Monat der Intervallapplikation von einem Median von 0 auf 2 (Interquartilabstand 2 – 4; $p < 0.001$) (KW 30 versus KW 35) und bis zum Ende der Studie (KW 52) auf 3 (Interquartilabstand 1 – 5) an. Dieser Wert lag signifikant unter dem Median von 9, der bei der Basisuntersuchung (KW 27) gemessen wurde ($p < 0.001$).

Im Vergleich zu Gruppe A war in den Gruppen B und C ein steilerer Anstieg des SSAT-Index ab KW 30 zu verzeichnen. In KW 35 zeigte sich in Gruppe B ein Median von 4 (Interquartilabstand 2 – 6; $p < 0.001$) im Vergleich zu Gruppe A und in Gruppe C ein Median von 5 (Interquartilabstand 3 – 6; $p < 0.001$) im Vergleich zu Gruppe A. Auch am Ende des

Interventionszeitraums (KW 52) war der SSAT-Index in den Gruppen B und C signifikant höher als in Gruppe A – in Gruppe B bei einem Median von 5 (Interquartilabstand 3 – 7; $p < 0.001$) und in Gruppe C bei einem Median von 7 (Interquartilabstand 4 – 8; $p < 0.001$).

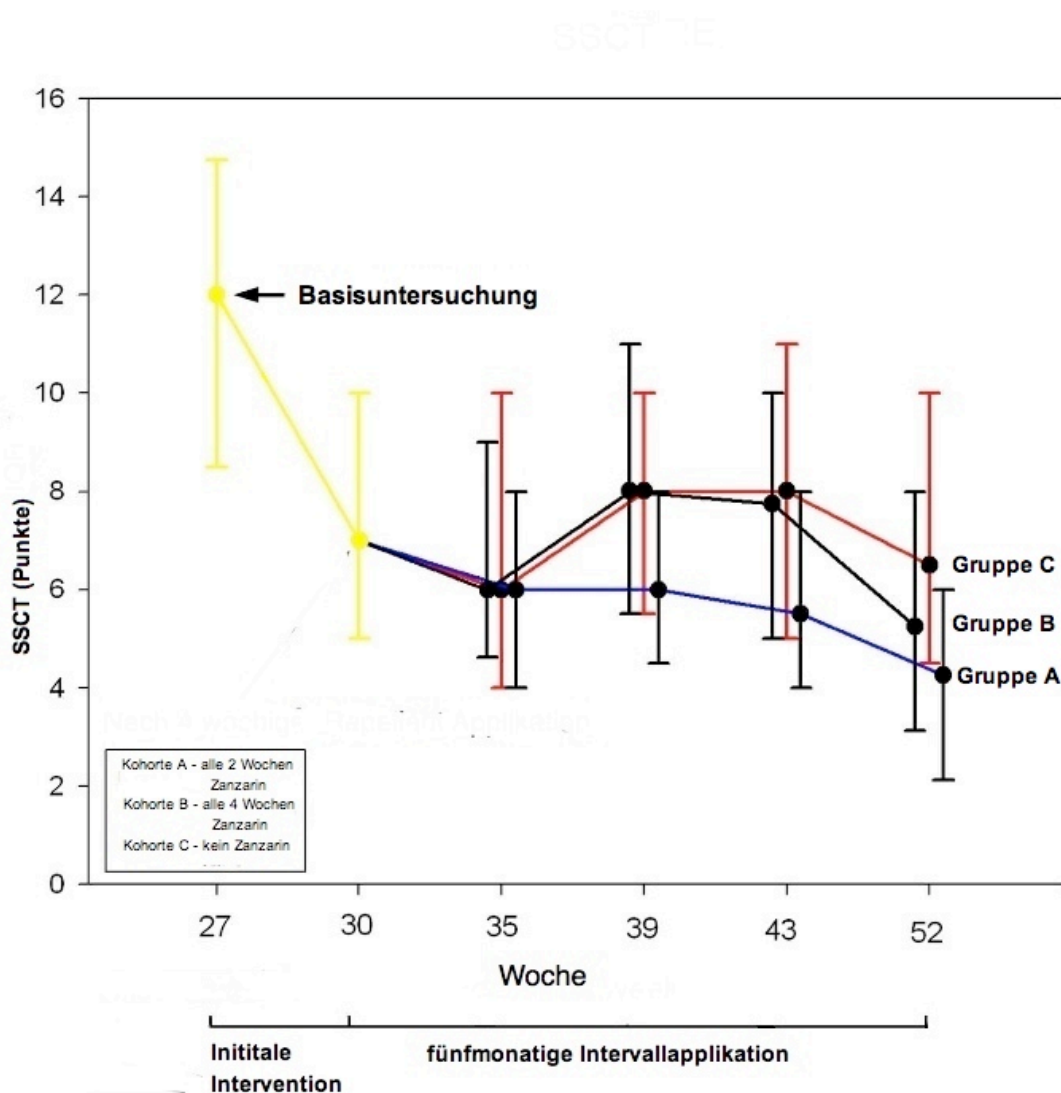


Abbildung 3: Veränderung des SSCT Index (Mediane + Interquartilabstände) bei der Basisuntersuchung und während der Intervallapplikation von Zanzarin® (zur besseren Lesbarkeit sind die Werte der Gruppe A um +0,2 und der Gruppe B um -0,2 Punkte auf der X-Achse verschoben)

In Abbildung 3 ist der SSCT-Index während des Interventionszeitraums dargestellt. In Gruppe A war ein signifikanter Abfall des SSCT-Index von Median 12 (Interquartilabstand 9 – 15) bei der Basisuntersuchung (KW 27) auf 4 (Interquartilabstand 2 – 6, $p < 0.001$) in KW 52 messbar. Bei der Gruppe B kam es zunächst zu einem Abfall des SSCT-Index von einem Median von 12 (Interquartilabstand 9 – 15) bei der Basisuntersuchung auf einen Median von 6 (Interquartilabstand 4 - 8; $p < 0.001$) in KW 35. Dann stieg der SSCT-Index wieder bis auf einen

Median von 8 (Interquartilabstand 6 – 10) in KW 43 an. Am Ende des Interventionszeitraums in KW 52 lag der SSCT-Index bei einem Median von 5 (Interquartilabstand 3 – 8, $p < 0.001$) signifikant unter dem SSCT-Index bei der Basisuntersuchung. In der Kontrollgruppe C sank der SSCT-Index, ähnlich wie bei Gruppe B, auf einen Median von 6 (Interquartilabstand 4 – 8; $p < 0.001$) in KW 35 und stieg bis zur KW 43 auf einen Median von 8 (Interquartilabstand 7 – 11) an. Am Ende des Interventionszeitraums in KW 52 lag der Median bei 6.5 (Interquartilabstand 5 – 10; $p < 0.001$ (im Vergleich zu KW27)).

5.4 Vergleich der topographischen Verteilung von Sandflohläsionen bei Wistar-Ratten und Menschen

Nach 14 Tagen Exposition waren 59 von 80 Tieren (74 %) mit mindestens einem Sandfloh infestiert. Pro Tier penetrierten im Median zwei Sandflöhe (Interquartilabstand 1 – 6). Die hinteren Pfoten waren 9-mal häufiger betroffen als die vorderen Pfoten (90 % versus 10 %; $p < 0.01$). Das genaue Verteilungsmuster ist in Tabelle 2 wiedergegeben.

Die Patienten hatten 70.2 % der Läsionen an den Zehen, und die Wistar-Ratten 65,7 % der Sandflohläsionen an den Phalangen ($p = 0.79$). Bei Patienten und Ratten waren Zeh und Digitus 1 und 5 signifikant häufiger betroffen als die anderen Zehen: Zeh 1 und 5 enthielten 36 % aller Läsionen ($p = 0.004$) und Digitus 1 und 5 42,2 % aller Läsionen ($p = 0.002$) (im Vergleich Ratte und Mensch $p = 0.74$) (Tabelle 2). Bei den Patienten lagen 76 % der Läsionen periungual, bei den Ratten 67 % der Läsionen am distalen Ende der Phalanx ($p = 0.73$).

Tabelle 2: Topographisches Verteilungsmuster der penetrierten Sandflöhe im Stadium I-IV nach Fortaleza-Klassifikation bei Wistar-Ratten und Menschen

Topographische Verteilung	Wistar Ratten n (%)	Menschen n (%)	p- Wert
1. Digitus/Zeh	31 (22)	625 (20.9)	0.82
2. Digitus/Zeh	7 (5)	378 (12.7)	0.4
3. Digitus/Zeh	8 (5.6)	317 (10.6)	0.54
4. Digitus/Zeh	18 (12.8)	300 (10)	0.71
5. Digitus/Zeh	28 (20)	476 (16)	0.65
Fußsohle	48 (34.2)	888 (29.8)	0.76
Summe Σ	140 (100)	2984 (100)	/

6. Diskussion

6.1 Infestationsintensität und klinischen Pathologie

Tungiasis ist eine in den Tropen weit verbreitete parasitäre Hauterkrankung, die hauptsächlich arme Bevölkerungsschichten betrifft^{11, 20, 22}. In der von uns untersuchten Studienpopulation zeigte sich eine hohe Infestationsintensität mit einem Median von 17 Läsionen pro Teilnehmer (Interquartilabstand 12 – 30) und auch die Tungiasis-assoziierte klinische Pathologie war mit einem SSAT-Index im Median von 9 (Interquartilabstand 6 – 13) alarmierend. 93,7 % der Teilnehmer hatten Druckschmerzen und Ödeme an den Füßen, 80,3 % klagten über Juckreiz im Bereich der Läsionen. 51 % der Studienteilnehmer zeigten Schwierigkeiten beim Gehen und waren in ihrer Mobilität eingeschränkt. Die Schmerzen beim Laufen waren im häufig mit bakterieller Superinfektion (41,6 %) und Fissuren (69 %) assoziiert. In Feldstudien aus Nigeria von Ugbomoiko et al. (2007) und Brasilien, in denen ebenfalls die Tungiasis-assoziierte Pathologie und Infestationsintensität gemessen wurde, konnte eine vergleichbar hohe Morbidität nachgewiesen werden^{1, 2, 23}. Unsere Daten bestätigen, dass in einer brasilianischen Armensiedlung die Tungiasis ein ernstzunehmendes Gesundheitsproblem darstellt.

6.2 Prävention durch Applikation eines Repellent

Bisher gibt es keine wirksame Therapie der Tungiasis^{1, 2, 3, 4, 5}. Deshalb ist die Prävention die einzige Möglichkeit, Tungiasis-assoziiierter Morbidität vorzubeugen. In einer früheren Feldstudie von Kehr et al. in Nordost-Brasilien führte die zweimal täglich durchgeführte Anwendung von Zanzarin® über einen kurzen Zeitraum zu einer kompletten Reduktion der Tungiasis-assoziierten klinischen Pathologie und der Infestationsrate^{1, 2}.

Da typischerweise arme Bevölkerungsschichten von Tungiasis betroffen sind, muss eine Präventionsmaßnahme kostengünstig sein. Um eine optimale Applikationsdauer und Applikationsfrequenz zu erreichen, verglichen wir zwei verschiedene Intervallapplikationen des Repellents Zanzarin® (Gruppe A und B) mit einer Kontrollgruppe (Gruppe C), die keine Applikation erhielt. In der Gruppe A kam es während der zweiwöchigen Intervallapplikation lediglich zu einem leichten Anstieg der Infestationsintensität mit einem Minimum von zwei Läsionen (KW 44) und einem Maximum von sechs Läsionen (KW 40). In Gruppe B zeigte sich während der gesamten Interventionsdauer eine klare Tendenz zu einem stärkeren Anstieg der Infestationsintensität: In KW 44 betrug der Median das Vierfache im Vergleich zu Gruppe A. Die Infestationsintensität in der Kontrollgruppe C überstieg den Wert in den beiden anderen Gruppen um das bis zu Zehnfache. Damit ist klar, dass die Infestationsintensität nur durch eine Intervallapplikation mittelfristig reduziert werden kann, in der jede zweite Woche das Repellent

appliziert wird. Analog zur Messung der Infestationsintensität, zeigte die zweiwöchige Intervallapplikation des Repellents in Gruppe A, dass sich die Tungiasis-assoziierte akute Pathologie (SSAT) auf ein unerhebliches Maß zurückbildet. Während der Interventionsdauer lag der SSAT-Index in Gruppe A um durchschnittlich 65 – 88 % niedriger als bei der Basisuntersuchung. Wurde der Applikationsintervall des Repellents auf vier Wochen ausgedehnt, lag der SSAT-Index am Studienende (KW 52) in Gruppe B fast doppelt so hoch wie in Gruppe A. Die Tungiasis-assoziierte Pathologie in Gruppe B war also, ähnlich wie die Infestationsintensität, nur unwesentlich schwächer ausgeprägt als in der Kontrollgruppe C.

Die Reduktion der chronischen Tungiasis-assoziierte Pathologie (SSCT-Index) war geringer, als dies bei der akuten Pathologie (SSAT-Index) der Fall war. Die chronischen Hautveränderungen, wie zum Beispiel Nageldeformationen und Hyperkeratosen, sind meist durch eine jahrelange Infestation entstanden. Möglicherweise ist ein längerer Untersuchungszeitraum als sechs Monate notwendig, um eine signifikante Reduktion des SSCT-Index nachzuweisen. In Gruppe A konnte die chronische Tungiasis-assoziierte Pathologie während der Intervallapplikation leicht gesenkt werden. In Gruppe B und C kam es dagegen sogar zu einem Anstieg des SSCT-Index.

In unserer Studie konnte bewiesen werden, dass durch die zweiwöchentliche Intervallapplikation von Zanzarin® während des gesamten Untersuchungszeitraums von sechs Monaten die Tungiasis-assoziierte klinische Pathologie und Infestationsintensität signifikant reduziert werden können. Die Anwendung des Repellents jede vierte Woche in Gruppe B reichte nicht aus, um die Infestationsintensität und klinische Pathologie angemessen zu senken.

6.3 Vergleich der topographischen Verteilung von Sanflohläsionen bei Wistar-Ratten und Menschen

Beim Menschen ist die topographische Verteilung der Sandflöhe ausgesprochen heterogen, jedoch treten fast alle Läsionen an den Füßen auf^{10,18}. Prädilektionsstellen sind die periungualen Bereiche, Ferse und der laterale Fußrand¹⁸. Systematische Studien zur Tungiasis bei Tieren existieren bisher nicht. In Endemiegebieten sind die Infestationsintensität bei Tieren und Menschen positiv korreliert, praktisch jedes Säugetier welches mit seine Füßen den Boden berührt kann befallen werden^{17,21,24}. Bei den im Endemiegebiet ausgesetzten Wistar-Ratten waren die hinteren Extremitäten neunmal häufiger betroffen als die vorderen Extremitäten. Das hängt möglicherweise damit zusammen, dass die hinteren Extremitäten eine größere Fläche aufweisen als die vorderen Extremitäten. Außerdem ruhen Ratten auf ihren hinteren Extremitäten und heben dabei die vorderen Extremitäten in die Luft. 34% aller *T. penetrans* Läsionen bei Wistar-Ratten wurden an den Fußballen, beim Menschen 30% aller Läsionen an der Fußsohle dokumentiert. Auch in ländlichen Gebieten Nigerias fanden sich 34% der Läsionen

an der Fußsohle ²³. Sowohl bei Menschen als auch bei Ratten waren Zehe 1 und 5 stärker befallen als die anderen Zehen. Möglicherweise spielten die laterale Position an der Extremität und die größere exponierte Fläche für den Penetrationserfolg eine Rolle. Zusammenfassend lässt sich sagen, dass die Tungiasis bei den Wistar-Ratten auch in ihrer topographischen Verteilung der Tungiasis bei Menschen gleicht. In einer Studie über die histopathologischen Veränderungen nach der Penetration von *T. penetrans* bei Wistar-Ratten fand sich ein nahezu identisches Bild bei Ratten und Menschen ²⁵. Möglicherweise stellen Wistar-Ratten ein geeignetes Tiermodell dar um Wirt-Parasit-Interaktionen, Infestationsintensitäten, topographische Verteilungen und eventuelle pharmakologische Ansätze bei der Therapie der Tungiasis zu untersuchen.

Die Käfige mit den Wistar-Ratten wurden in zwei Studiengebieten platziert. In beiden Gebieten finden sich ähnliche altersspezifische Prävalenzen der Tungiasis ^{1,10,18,20}. Es scheint also ein vergleichbares epidemiologisches Grundmuster vorzuliegen. Man sollte jedoch beachten, dass sich neben der unterschiedlichen Populationsdichte auch andere Umweltfaktoren auf die Ergebnisse auswirken könnten.

7. Referenzen

1. Kehr JD, Heukelbach J, Mehlhorn H, Feldmeier H. Morbidity assessment in sand flea disease (tungiasis). *Parasitol Res* 2007;100:413-21.
2. Feldmeier H, Kehr JD, Heukelbach J. A plant-based repellent protects against *Tunga penetrans* infestation and sand flea disease. *Acta Trop* 2006;99:126-36.
3. 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.
4. Heukelbach J. Revision on tungiasis: Treatment options and prevention. *Expert Rev Anti Infect Ther* 2006;4:151-7.
5. Feldmeier H, Kehr JD, Poggensee G, Heukelbach J. High exposure to *Tunga penetrans* (Linnaeus, 1758) correlates with intensity of infestation. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2006;101:65-9.
6. Ade-Serrano MA, Ejezie GC. Prevalence of tungiasis in Oto-Ijanikin village, Badagry, Lagos State, Nigeria. *Ann Trop Med Parasitol* 1981;75:471-2.
7. Feldmeier H, Eisele M, Saboia-Moura RC, Heukelbach J. Severe tungiasis in underprivileged communities: case series from Brazil. *Emerg Infect Dis* 2003;9:949-55.
8. Chadee DD. Tungiasis among five communities in south-western Trinidad, West Indies. *Ann Trop Med Parasitol* 1998;92:107-13.
9. Feldmeier H, Eisele M, Van Marck E, Mehlhorn H, Ribeiro R, Heukelbach J. Investigations on the biology, epidemiology, pathology and control of *Tunga penetrans* in Brazil: IV. Clinical and histopathology. *Parasitol Res* 2004;94:275-282.
10. 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;90:449-55.
11. Heukelbach J, de Oliveira FA, Hesse G, Feldmeier H. Tungiasis: A neglected health problem of poor communities. *Trop Med Int Health* 2001;6:267-72.
12. Matias RS. Epidemia de tungíase no Rio Grande do Sul. *Rev Soc Bras Med Trop* 1989;22:137-42.
13. 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;90:87-99.

14. de Carvalho RW, de Almeida AB, Barbosa-Silva SC, Amorim M, Ribeiro PC, Serra-Freire NM. The patterns of tungiasis in Araruama township, state of Rio de Janeiro, Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2003;98:31-6.
15. Tungiasis Consensus Statement, First International Expert Meeting on Tungiasis, Berlin, unpublished document.
16. Feldmeier H, Sentongo E, Krantz I. Tungiasis (sand flea disease): A parasitic disease with particular challenges for public health. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2013;32:19-26.
17. Pampiglione S, Fioravanti ML, Gustinelli A, Onore G, Mantovani B, Luchetti A, Trentini M. Sand flea (*Tunga* spp.) infections in humans and domestic animals: State of the art. *Med Vet Entomol* 2009;23:172-86.
18. Heukelbach J, Wilcke T, Eisele M, Feldmeier H. Ectopic localization of tungiasis. *Am J Trop Med Hyg* 2002;67:214-6.
19. Pilger D, Schwalfenberg S, Heukelbach J, Witt L, Mencke N, Khakban A, Feldmeier H. Controlling tungiasis in an impoverished community: An intervention study. *PLoS Negl Trop Dis* 2008;2:e324.
20. Heukelbach J, Rump B, Wilcke T, Moura RC, Feldmeier H. Parasitic skin diseases: Health care-seeking in a slum in north-east Brazil. *Trop Med Int Health* 2003;8:368-73.
21. Pilger D, Schwalfenberg S, Heukelbach J, Witt L, Mehlhorn H, Mencke N, Khakban A, Feldmeier H. Investigations on the biology, epidemiology, pathology, and control of *Tunga penetrans* in Brazil: VII. The importance of animal reservoirs for human infestation. *Parasitol Res* 2008;102:875-80.
22. 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;100:970-4.
23. Ugbomoiko US, Ofoezie IE, Heukelbach J. Tungiasis: high prevalence, parasite load, and morbidity in a rural community in Lagos State, Nigeria. *Int J Dermatol* 2007;46:475-81
24. Pilger D, Schwalfenberg S, Heukelbach J, Witt L, Mehlhorn H, Mencke N, Khakban A, Feldmeier H. Investigations on the biology, epidemiology, pathology, and control of *Tunga penetrans* in Brazil: VII. The importance of animal reservoirs for human infestation. *Parasitol Res.* 2008 102:875-80
25. Feldmeier H, Witt L, Schwalfenberg S, Linardi PM, Ribeiro RA, Capaz RA, Van Marck E, Meckes O, Mehlhorn H, Mencke N, Heukelbach J. Investigations on the biology, epidemiology, pathology and control of *Tunga penetrans* in Brazil. VI. Natural history of the infestation in laboratory-raised Wistar rats. *Parasitol Res.* 2007 102:1-13

8. Anteilserklärung an den erfolgten Publikationen

Herr John Buckendahl hatte folgenden Anteil an den folgenden Publikationen:

PUBLIKATION 1: Ariza L, Seidenschwang M, Buckendahl J, Gomide M, Feldmeier H, Heukelbach J. Tungiasis: A neglected disease causing severe morbidity in a shantytown in Fortaleza, State of Ceará. Rev Soc Bras Med Trop 2007;40:63-67.

40 Prozent: Datenerhebung und teilweise Datenanalyse

PUBLIKATION 2: Buckendahl J, Heukelbach J, Witt L, Schwalfenberg S, Calheiros CM, Feldmeier H. Topographic distribution of the sand flea *Tunga penetrans* in Wistar rats and humans in two endemic areas in Brazil Am J Trop Med Hyg 2012;87:125-127

55 Prozent: Dateneingabe, Datenanalyse und Manuskriptentwurf

PUBLIKATION 3: Buckendahl J, Heukelbach J, Ariza L, Kehr JD, Seidenschwang M, Feldmeier H. Control of tungiasis through intermittent application of a plant-based repellent: An intervention study in a resource-poor community in Brazil. PloS Neglected Tropical Diseases 2010;e879

65 Prozent: Datenerhebung, Datenanalyse und Manuskriptentwurf

Unterschrift des Doktoranden/der Doktorandin

John Buckendahl

9. Druckexemplar Publikation 1

Ariza L, Seidenschwang M, Buckendahl J, Gomide M, Feldmeier H, Heukelbach J. Tungiasis: A neglected disease causing severe morbidity in a shantytown in Fortaleza, State of Ceará. *Rev Soc Bras Med Trop* 2007;40:63-67. DOI: 10.1590/S0037-86822007000100013

10. Druckexemplar Publikation 2

Buckendahl J, Heukelbach J, Witt L, Schwalfenberg S, Calheiros CM, Feldmeier H.

Topographic distribution of the sand flea *Tunga penetrans* in Wistar rats and humans in two endemic areas in Brazil *Am J Trop Med Hyg* 2012;87:125-127 DOI: 10.4269/ajtmh.2012.11-0073

11. Druckexemplar Publikation 3

Buckendahl J, Heukelbach, J, Ariza L, Kehr JD, Seidenschwang M, Feldmeier H. Control of tungiasis through intermittent application of a plant-based repellent: An intervention study in a resource-poor community in Brazil. *PloS Neglected Tropical Diseases* 2010;e879 DOI: 10.1371/journal.pntd.0000879

12. Lebenslauf

"Mein Lebenslauf wird aus datenschutzrechtlichen Gründen in der elektronischen Version meiner Arbeit nicht veröffentlicht."

13. Publikationsliste

Originalpublikationen nach Erscheinungsdatum:

1. Busch J, Hamborg K, Meyer HA, Buckendahl J, Magheli A, Lein M, Jung K, Miller K, Stephan C. Value of Prostate Specific Antigen Density and Percent Free Prostate Specific Antigen for Prostate Cancer Prognosis, J Urol 2012;88:2165-70
2. Buckendahl J, Heukelbach J, Witt L, Schwalfenberg S, Calheiros CM, Feldmeier H. Topographic distribution of the sand flea *Tunga penetrans* in Wistar rats and humans in two endemic areas in Brazil. Am J Trop Med Hyg 2012;87:125-7.
3. Friedersdorff F, Wolff I, Deger S, Roigas J, Buckendahl J, Cash H, Giessing M, Liefeldt L, Miller K, Fuller TF. No need for systemic heparinization during laparoscopic donor nephrectomy with short warm ischemia time. World J Urol 2011;29:561-6.
4. Friedersdorff F, Buckendahl J, Fuller TF, Cash H. Extracorporeal shock wave lithotripsy (ESWL) of a renal calculus in a liver transplant recipient: report of a severe complication--a case report. Transplant Proc 2010;42:3868-70.
5. Buckendahl J, Heukelbach J, Ariza L, Kehr JD, Seidenschwang M, Feldmeier H. Control of tungiasis through intermittent application of a plant-based repellent: An intervention study in a resource-poor community in Brazil. PLoS Negl Trop Dis 2010;4:e879.
6. Ariza L, Seidenschwang M, Buckendahl J, Gomide M, Feldmeier H, Heukelbach J. Tungiasis: A neglected disease causing severe morbidity in a shantytown in Fortaleza, State of Ceará. Rev Soc Bras Med Trop 2007;40:63-7.

14. Eidesstattliche Versicherung

„Ich, John Buckendahl, versichere an Eides statt durch meine eigenhändige Unterschrift, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema: „Klinische Pathologie bei der Tungiasis und Einfluss von Präventionsmaßnahmen in einem Endemiegebiet in Nordost-Brasilien“ selbstständig und ohne nicht offengelegte Hilfe Dritter verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel genutzt habe.

Alle Stellen, die wörtlich oder dem Sinne nach auf Publikationen oder Vorträgen anderer Autoren beruhen, sind als solche in korrekter Zitierung (siehe „Uniform Requirements for Manuscripts (URM)“ des ICMJE -www.icmje.org) kenntlich gemacht. Die Abschnitte zu Methodik (insbesondere praktische Arbeiten, Laborbestimmungen, statistische Aufarbeitung) und Resultaten (insbesondere Abbildungen, Graphiken und Tabellen) entsprechen den URM (s.o) und werden von mir verantwortet.

Meine Anteile an den ausgewählten Publikationen entsprechen denen, die in der untenstehenden gemeinsamen Erklärung mit dem/der Betreuer/in, angegeben sind. Sämtliche Publikationen, die aus dieser Dissertation hervorgegangen sind und bei denen ich Autor bin, entsprechen den URM (s.o) und werden von mir verantwortet.

Die Bedeutung dieser eidesstattlichen Versicherung und die strafrechtlichen Folgen einer unwahren eidesstattlichen Versicherung (§156,161 des Strafgesetzbuches) sind mir bekannt und bewusst.

Berlin, den 23.07.2013

Unterschrift

15. Danksagung

Ich danke meinem Doktorvater Prof. Feldmeier, den Organisatoren des Programms „Unibrál“ (DAAD), der Stiftung Mandacaru, Vania Santos de Andrade, Maria Fatima de Cavalcante, Laura Klinkner, meinen Eltern und meinen Schwestern.