

**Aus der Klinik für Tropenmedizin  
am Klinikum Würzburg Mitte gGmbH**

Akademisches Lehrkrankenhaus der Universität Würzburg

Chefarzt: Prof. Dr. med. August Stich

**Kinetik der Schistosomen-spezifischen DNA nach Behandlung mit Praziquantel  
und Bestimmung der Schistosomiasis-Prävalenz einer in einem Nicht-  
Endemiegebiet lebenden Risikopopulation sowie der Evaluation ausgewählter  
diagnostischer Verfahren**

**Inauguraldissertation**

zur Erlangung der Doktorwürde der Medizinischen Fakultät der

**Julius-Maximilians-Universität Würzburg**

**vorgelegt von**

Felix Höflein

aus Mannheim

**Würzburg, Dezember 2022**





**Referent:** apl. Prof. Dr. med habil. August Stich

**Koreferent/Koreferentin:** Univ.-Prof. Dr. med. Oliver Kurzai

**Dekan:** Prof. Dr. med. Matthias Frosch

**Tag der mündlichen Prüfung:** 12.12.2022

**Der Promovend ist Arzt**



## **Widmung**

*Die Arbeit ist Heike und Stefan, meinen Eltern,  
meiner Oma Ursula und meinem Opa Paul gewidmet.*



# Inhaltsverzeichnis

<b>1</b>	<b>EINLEITUNG .....</b>	<b>1</b>
1.1	Überblick und Krankheitsbild .....	1
1.2	Exkurs in die Geschichte der Schistosomiasis .....	3
1.3	Lebenszyklus des Erregers.....	5
1.4	Epidemiologie und globale Last .....	7
1.5	Therapie und Präventionsstrategien .....	11
1.6	Diagnostik.....	13
1.6.1	Mikroskopie.....	13
1.6.2	Antikörperdiagnostik.....	15
1.6.3	Schnelltests.....	15
1.6.4	Molekularbiologische Verfahren .....	16
1.7	Zielsetzung der Arbeit und Hypothese.....	17
<b>2</b>	<b>MATERIAL UND METHODEN.....</b>	<b>20</b>
2.1	Studienkontext .....	20
2.1.1	Voraussetzungen .....	20
2.1.2	Überblick über den Studienablauf.....	20
2.1.3	Studienpopulation.....	22
2.1.4	Biometrische Aspekte.....	23
2.1.4.1	Studiendesign .....	23
2.1.4.2	Definition der Endpunkte.....	23
2.1.4.3	Biometrische Formulierung der Hauptfragestellungen .....	23
2.1.4.4	Biometrische Begründung der Fallzahlen .....	24
2.1.5	Risiko-Nutzen-Abwägung .....	25
2.1.6	Aufklärung, Einwilligung und Studieneinschluss .....	25
2.1.7	Probenmanagement.....	27
2.2	Screening und Analyse der dabei gewonnenen Proben .....	28
2.2.1	Urin-Schnelltest .....	28
2.2.2	Urin-Mikroskopie.....	30
2.2.3	Schistosomiasis-Serologie .....	31
2.2.4	Stuhl-Mikroskopie .....	32

2.3	Sicherung der Diagnose und Intervention .....	32
2.4	Follow-up und Analyse der dabei gewonnenen Proben .....	34
2.4.1	Probenasservierung.....	34
2.4.2	Extraktion der freien Schistosomen-DNA aus Serum .....	34
2.4.3	Detektion und Quantifizierung von Schistosomen-DNA mittels qPCR.....	34
2.5	Datenmanagement .....	37
2.5.1	Zusätzliche erhobene Daten.....	37
2.5.2	Datenschutz.....	37
2.5.3	Datenanalyse.....	38
<b>3</b>	<b>ERGEBNISSE .....</b>	<b>39</b>
3.1	Übersicht.....	39
3.2	Analyse der Screening-Befunde und Merkmale der Studienpopulation.....	40
3.2.1	CCA-Nachweis mittels Urin-Schnelltests .....	40
3.2.1.1	Einfluss der Befunde des Urinstreifentests.....	41
3.2.1.2	Einfluss von Alter und Geschlecht .....	45
3.2.1.3	Einfluss des Herkunftslandes .....	46
3.2.1.4	Einfluss der Aufenthaltsdauer.....	48
3.2.2	Befunde der Urinmikroskopie .....	50
3.2.3	Befunde der Stuhlmikroskopie .....	50
3.2.4	Schistosomen-Antikörper-Nachweis mittels ICT .....	50
3.3	Detektion von freier Schistosomen-DNA mittels qPCR.....	53
3.4	Therapierte Teilnehmende .....	55
3.5	Kinetik der Schistosomen-spezifischen DNA.....	56
3.5.1	Exkurs: Praktische Anwendung .....	61
3.6	Prävalenzbestimmung.....	62
<b>4</b>	<b>DISKUSSION .....</b>	<b>64</b>
4.1	Bewertung der Methoden und Ergebnisse .....	64
4.1.1	Rekrutierung der Teilnehmenden und Compliance .....	64
4.1.2	Gegenüberstellung und Evaluation der ausgewählten diagnostischen Testverfahren anhand der ermittelten Ergebnisse .....	66
4.1.3	DNA-Kinetik .....	72



4.2	Empfehlungen und Fazit .....	75
<b>5</b>	<b>ZUSAMMENFASSUNG .....</b>	<b>77</b>
<b>6</b>	<b>LITERATURVERZEICHNIS.....</b>	<b>78</b>



# 1 EINLEITUNG

## 1.1 Überblick und Krankheitsbild

Die Schistosomiasis, auch als Bilharziose bezeichnet, ist eine parasitäre Infektionskrankheit, die durch verschiedene Arten von Saugwürmern (Trematoda) der Gattung Pärchenegel (*Schistosoma*) verursacht wird. Sie zählt zu den vernachlässigten Krankheiten in tropischen und subtropischen Ländern (Neglected Tropical Diseases, NTD) und tritt vor allem in Gebieten mit schlechtem Zugang zu sanitären Einrichtungen und Trinkwasserquellen auf. Eine wichtige Rolle im Lebenszyklus der Schistosomen spielen bestimmte Süßwasserschneckenarten, die als Zwischenwirte fungieren und für die Larvenreifung des Parasiten benötigt werden. Dieses im Wasser lebende, als Gabelschwanzlarve oder Zerkarie bezeichnete Stadium stellt die für den Menschen infektiöse Form dar (CDC - *Schistosomiasis - FAQs*, 2019; WHO | *Schistosomiasis*, o. J.). Bei Kontakt mit kontaminiertem Wasser kann die Larve durch die Haut in den Körper des Wirtes eindringen und dort nach einigen Wochen (14 - 84 Tage) diverse Symptome, wie Fieber, Husten, Myalgien, Cephalgien, Diarrhö oder abdominellen Schmerzen verursachen. Diese akute Form der Schistosomiasis wird auch als Katayama-Syndrom bezeichnet, beruht auf einer immunoallergischen Reaktion und tritt in der Regel im Rahmen der Erstinfektion nicht-immuner Individuen auf (Gobbi et al., 2020; Löscher, 2010). Durch die zeitliche Latenz zwischen Infektion und erster Symptomatik ist es nicht verwunderlich, weshalb solche Symptome auch von Spezialisten häufig nicht mit einer Schistosomiasis assoziiert werden und sich die Diagnosestellung zum Teil erheblich verzögern kann (Gobbi et al., 2020; Ross et al., 2007). In seltenen Fällen tritt innerhalb von 24 Stunden nach der Hautpenetration eine Dermatitis auf, welche mit Prurigo einhergeht und sich in Form eines makulopapulösen Exanthems manifestiert. In der Regel setzt auch ohne Therapie innerhalb weniger Tage eine vollständige Rückbildung ein (Bourée & Caumes, 2004; Herold, 2016). Neben der akuten Verlaufsform der Schistosomiasis existieren ebenfalls chronische Manifestationen. Diese wiederum lassen sich in zwei große Untergruppen einteilen: Die intestinale bzw. hepatolienale und die urogenitale Form, welche durch unterschiedliche Pärchenegel-Arten ausgelöst

werden. In den Mittel- und Hochprävalenzländern Afrikas, zu denen unter anderem Äthiopien, Eritrea, Nigeria, Somalia, Tansania und viele weitere zählen, findet sich als Erreger der intestinalen Form überwiegend die Art *Schistosoma mansoni*, während die urogenitale Form durch *Schistosoma haematobium* verursacht wird. Ebenfalls in Afrika verbreitet ist die Art *Schistosoma intercalatum*. Weitere wichtige Erreger der intestinalen Form sind *Schistosoma japonicum* und *Schistosoma mekongi*, die im asiatischen Raum vorkommen. Zu den möglichen Langzeitkomplikationen der durch *S. haematobium* ausgelösten urogenitalen Form zählen mitunter Nierenschäden, Hämaturien, Blasenfibrosen und -karzinome sowie Infertilität. Eine Hepato- und Splenomegalie, die Leberfibrose, obere gastrointestinale Blutungen als Folge portaler Hypertension, die Hämatochezie, die pulmonale Hypertonie mit Cor pulmonale und die Lungenfibrose sind der durch *S. mansoni* ausgelösten intestinalen Schistosomiasis zuzuordnen (Colley et al., 2014; Herold, 2016; Löscher, 2010; Opio et al., 2016; *Schistosomiasis*, o. J.). Aufgrund bestimmter pathophysiologischer Gemeinsamkeiten von akuter und chronischer Schistosomiasis, welche durch die *in situ*-Eiablage wandernder Würmer hervorgerufen werden (bspw. das Auftreten von Lungenläsionen), schlagen einige Autoren neuerdings vor, den Begriff der chronischen Schistosomiasis zu verlassen. Stattdessen wird eine Betrachtung von reversiblen (z.B. pulmonale Noduli, Blasenpolypen) und irreversiblen (z.B. Blasenkarzinome, periportale Fibrose) Läsionen vorgeschlagen, welche unabhängig von der Zeit nach vermuteter Exposition auftreten (Gobbi et al., 2020).

Viele Berichte, die bis ins Altertum zurückreichen, zeugen von einer langen Geschichte einer Krankheit, die auch heute noch eine bedeutsame gesundheitliche Last für die Bevölkerung betroffener Gebiete darstellt. Neben weltweit unterschiedlicher endemischer Verbreitung weisen die verschiedenen Erreger einen komplexen Lebenszyklus auf, wodurch sich besondere Anforderungen an die Diagnostik und Prävention der Erkrankung ergeben. Nicht zuletzt ist die Schistosomiasis aufgrund ihrer vielen Facetten noch immer Gegenstand reger, aktueller Forschung. Im Folgenden sollen einzelne der genannten Aspekte genauer beleuchtet werden, um einen tieferen Einblick

in die Vielschichtigkeit der Schistosomiasis zu ermöglichen und um anschließend zur Zielsetzung dieser Arbeit überzuleiten.

## 1.2 Exkurs in die Geschichte der Schistosomiasis

Die erste wissenschaftliche Beschreibung der Schistosomiasis erfolgte im Jahr 1851 durch den deutschen Arzt und Naturforscher Theodor Maximilian Bilharz (1825 - 1862) während seiner Tätigkeit als Chirurg in Kairo. Seinem Entdecker entsprechend wurde die Krankheit einige Jahre später zunächst als Bilharziose bezeichnet (Bilharz, 1852; Cobbold, 1859; Di Bella et al., 2018; Tan & Ahana, 2007).

Obwohl sie damit bereits früh beschrieben war, scheint die Geschichte der Schistosomiasis und auch ihre Interaktion mit dem Menschen wesentlich älter zu sein. Bereits 1500 Jahre v. Chr. wurden im alten Ägypten mehrere medizinische Papyri verfasst, welche eine Krankheit beschreiben, die zu allgemeinen Leibschmerzen, Herz- und Magenbeschwerden, sowie zu Absonderungen aus dem Penis führte (Di Bella et al., 2018). Noch frühere Hinweise finden sich im Papyrus von Kahun (1900 v.Chr.), welches Hieroglyphen enthält, die eine Hämaturie beschreiben und sich auf die Schistosomiasis beziehen könnten (vgl. Abbildung 1) (Themes, 2016).



**Abbildung 1:** Hieroglyphen aus dem Papyrus von Kahun (1900 v.Chr.), die eine Hämaturie bezeichnen sollen.  
(Quelle: eigens erstellte Grafik, basierend auf basicmedicalkey.com, 2020; Badr M., 1981)

Obwohl diese als A-a-a-Krankheit bezeichnete Leiden auf verschiedenste Ursachen zurückzuführen sein können, wurde den damaligen Farmern, Fischern und anderen Wasserarbeitern geraten, verschmutzte Gewässer zu meiden und sich durch das Tragen von Leinenkleidung zu schützen. Die Berichte lassen somit vermuten, dass es sich bei der beschriebenen Krankheit tatsächlich um Symptome der Schistosomiasis handelt

haben könnte (Di Bella et al., 2018; Leake, 1952). Auch die Schriften der frühen assyrischen Medizin enthalten Schilderungen, welche aus heutiger Sicht mit den Symptomen der Schistosomiasis in Einklang gebracht werden könnten. Das Wort ‚mūsu‘ wurde dabei zur Beschreibung von Urin unnatürlicher Farbe oder Konsistenz, sowie peniler Absonderungen und Blasenschmerzen verwendet (Di Bella et al., 2018; Scurlock & Andersen, 2010). Durch die Anwendung immunchromatographischer Methoden an Mumien konnte weiterhin gezeigt werden, dass Pharaonen bereits 5000 Jahre v.Chr. mit der Schistosomiasis infiziert gewesen sein müssen (Abou-El-Naga, 2018; Deelder et al., 1990). Es ist somit davon auszugehen, dass ein erheblicher Teil der ägyptischen, und auch der Bevölkerung anderer afrikanischer Länder sowie Vorderasiens bereits seit vielen tausend Jahren mit den Folgen der Krankheit zu kämpfen hatte. Auch im ostasiatischen Raum scheinen die Menschen schon lange von der Schistosomiasis begleitet zu werden. So wurden in China *S. japonicum*-Eier in weiblichen Leichen identifiziert, die auf 2100 Jahre alte Dynastien zurückgehen. Klinische Symptome die einem heute als Katayama-Syndrom bekannten Krankheitsbild ähneln wurden 400 Jahre v.Chr. in der traditionellen chinesischen Medizin beschrieben (Ross et al., 1997).

Über 50 Jahre nach der Erstbeschreibung durch Theodor Maximilian Bilharz, wurde im Jahr 1902 erstmalig die Möglichkeit eines Lebenszyklus mit Zwischenwirt durch den schottischen Parasitologen Patrick Manson (1844 - 1922), heute als Pionier der Tropenmedizin bekannt, erwogen. Zu seinen Ehren erfolgte im Jahr 1907 die Benennung des Erregers *S. mansoni* durch den britisch-italienischen Arzt Louis Westenra Sambon (1867 - 1931), der ebenfalls der Art *S. haematobium* ihren Namen gab (Birch, 1974; Sambon, 1907). An die Idee eines Lebenszyklus wurde von Robert Thomson Leiper (1881 - 1969) angeknüpft, der diesen in den Jahren 1915/16 vollständig aufdeckte. Außerdem gelang es Leiper im selben Jahr die Unterschiede zwischen *S. mansoni* und *S. haematobium* im Hinblick auf Eier, Aussehen und Schneckenwirt aufzudecken (Bergquist et al., 2016; Di Bella et al., 2018; Leiper, 1916; Manson, 1902). Im Verlauf des 20. Jahrhunderts wurden weitere wichtige Meilensteine, wie die Entwicklung, Verbesserung und Etablierung diagnostischer Instrumente und wirkungsvoller Therapiemöglichkeiten, sowie ein zunehmend besseres Verständnis über

die Krankheit erreicht. Auf diese Punkte soll nun, beginnend mit dem Lebenszyklus des Erregers, weiter eingegangen werden.

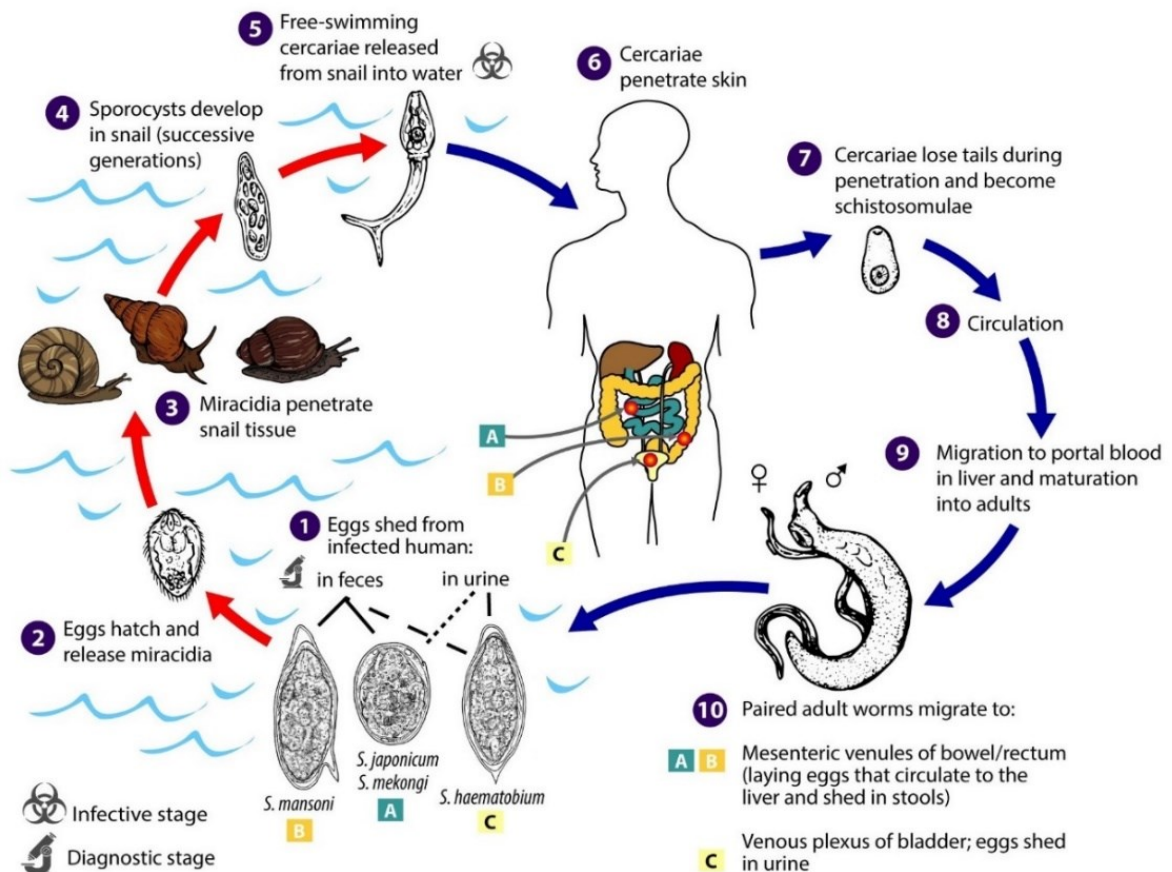
### 1.3 Lebenszyklus des Erregers

Der Lebenszyklus des Pärchenegels, der bei den verschiedenen Arten im Wesentlichen übereinstimmt und sich in eine asexuelle und eine sexuelle Reproduktionsphase einteilen lässt (vgl. Abbildung 2), gilt mittlerweile als vollständig entschlüsselt. Während die asexuelle Phase je nach Erregerspezies in verschiedenen Süßwasserschnecken der Gattungen *Biomphalaria* (Wirt für *S. mansoni*), *Bulinus* (Wirt für *S. haematobium*), *Oncomelania* (Wirt für *S. japonicum*) oder *Neutricula* (Wirt für *S. mekongi*) stattfindet, kann sich die sexuelle Reproduktionsphase ausschließlich in Säugetieren, wie bspw. dem Menschen, Affen, Nagetieren, Kühen, Pferden oder Hunden vollziehen (Löscher, 2010; Rokni, 2012).

Zur Veranschaulichung wird hier mit der Beschreibung der asexuellen Phase begonnen: Aus befruchteten Eiern, die über Exkremete eines infizierten Säugetieres ins Wasser gelangt sind (1), werden zunächst Mirazidien (Wimpernlarven) (2) freigesetzt, welche in der Lage sind die genannten Schneckenarten (3) zu infizieren. Innerhalb dieser entwickeln sich aus den Mirazidien Sporozysten (4), welche entweder eine weitere Reifung vollziehen und letztlich als Zerkarien ins Wasser ausscheiden (5) oder sie persistieren im Schneckenwirt und bilden ihrerseits Tochter-Sporozysten, aus denen wiederum Zerkarien entstehen können. Aus diesem Grund ist es möglich, dass eine einzelne Schnecke mehrere Hundert Zerkarien pro Tag produzieren kann. Für *S. mansoni* wurden dabei Zahlen von bis zu 600 Zerkarien pro Tag beschrieben. *S. haematobium* und *S. japonicum* können bis zu 200 bzw. 160 Larven pro Tag absondern (Braun et al., 2018).

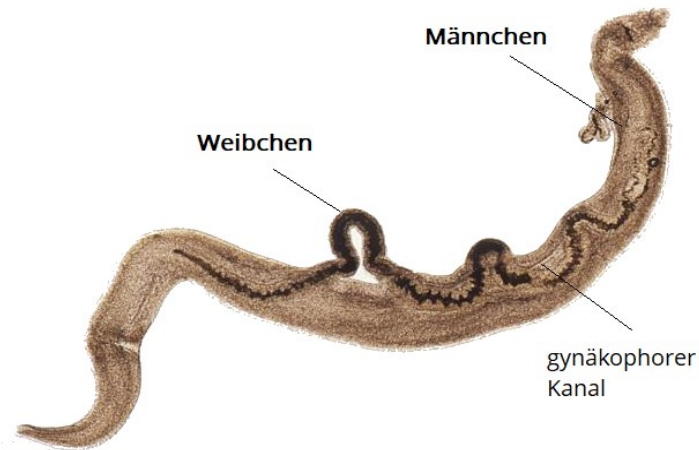
Für die weitere Entwicklung und Vollendung des Zyklus wird ein Säugetier als Endwirt benötigt. Bei Kontakt mit kontaminiertem Wasser, bspw. während Badeaktivitäten oder dem Wäschewaschen kann die Zerkarie nun über komplexe Interaktionsmechanismen mit der menschlichen Haut in den Wirt eindringen (6). Der Vorgang kann bereits nach 5 Minuten abgeschlossen sein, jedoch auch bis zu 24 Stunden dauern.

Bemerkenswerterweise geschieht die Penetration meist schmerzfrei und ohne Ausbildung von Wunden (McKerrow & Salter, 2002). Nach dem Durchdringen der Haut verlieren die Zerkarien ihren Schwanz und werden nun als Schistosomula (7) bezeichnet. Diese zirkulieren im Blut (8), passieren das Herz und die Lunge und vollziehen schließlich innerhalb des Gefäßsystems die Reifung zu adulten Würmern (9). In diesem Stadium beträgt die Lebenszeit der Parasiten normalerweise 3-5 Jahre (Löscher, 2010), allerdings wurden auch Überlebenszeiten von bis zu 37 Jahren berichtet (Chabasse et al., 1985). Die geschlechtsreifen Schistosomen bilden Paare, die sich in den Blutgefäßen der Harnwege (*S. haematobium*) oder des Darms (*S. mansoni*) ansiedeln (10). Das kleinere Weibchen befindet dabei sich in der Bauchfalte des größeren Männchens, welche als gynäkophorer Kanal bezeichnet wird (s. Abbildung 3).



**Abbildung 2!**: Lebenszyklus von *Schistosoma* spp. mit jeweiligen Stadien. **Linke Hälfte**: asexuelle, an Süßwasserschnecken gebundene Reproduktionsphase. **Rechte Hälfte**: sexuelle, an Säugetiere (*hier*: Mensch) gebundene Reproduktionsphase. (Public Health Image Library, CDC, 2022)



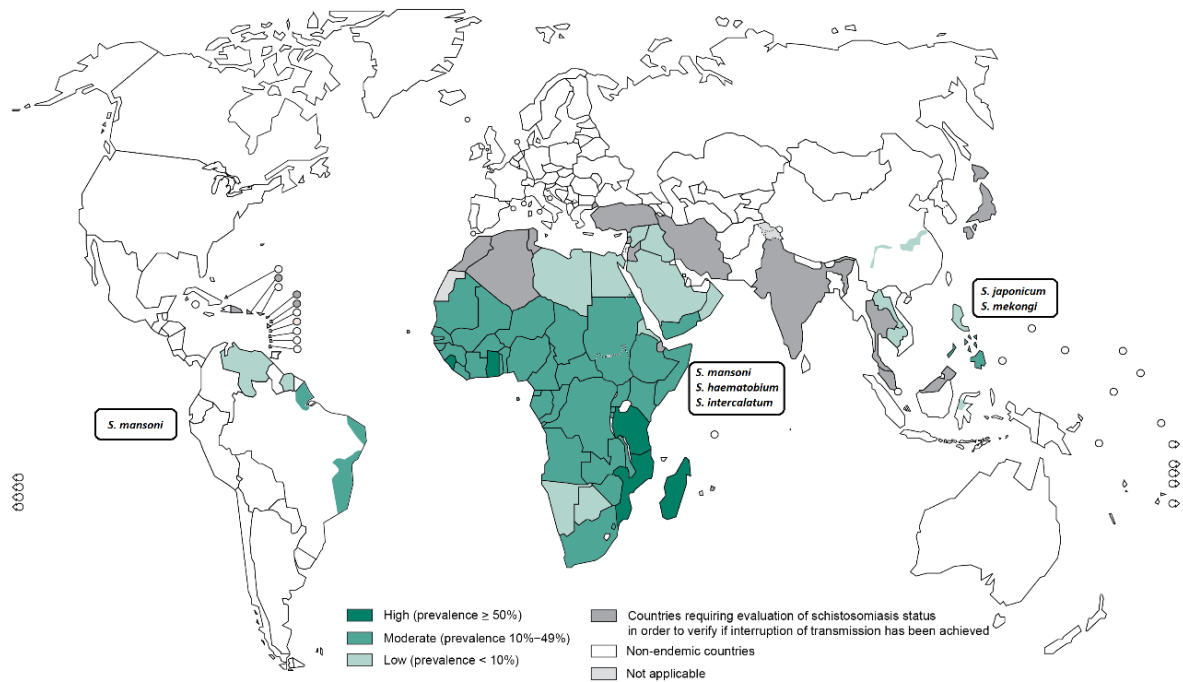


**Abbildung 3:** Mikroskopische Aufnahme eines kopulierten Schistosomen-Paares. Das kleinere Weibchen befindet sich im gynäkophoren Kanal des größeren Männchens. (Quelle: Public Health Image Library, CDC, 2022)

Nach der Paarung gibt das Weibchen befruchtete Eier in das umliegende Gewebe von Harnblase oder Darmwand ab. Um aus dem Körper ausgeschieden werden zu können, müssen die Eier das jeweilige Gewebe durchdringen und in das Lumen von Harnblase bzw. Darm gelangen. Dieser komplexe Mechanismus beruht auf immunmodulatorischen Effekten wie steriler Entzündung und Granulombildung, wodurch die Eier das Gewebe passiv durchwandern, in das jeweilige Lumen vordringen und schließlich über Urin oder Stuhl ausgeschiedenen werden (Costain et al., 2018). Gelangen die Eier ins Süßwasser wird der Zyklus geschlossen und die Entwicklung beginnt von vorne (Colley et al., 2014; Herold, 2016; Nelwan, 2019).

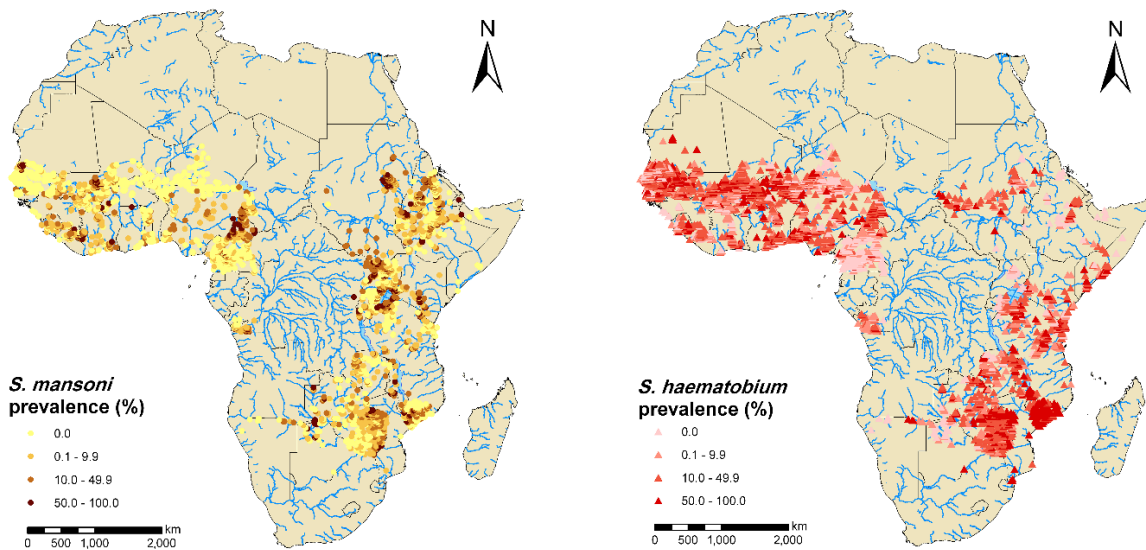
#### 1.4 Epidemiologie und globale Last

Die Schistosomiasis ist weltweit in tropischen und subtropischen Gebieten verbreitet. Dabei ist vor allem das sub-saharische Afrika betroffen, wo sich die höchste Prävalenz findet, aber auch einige Länder Süd-Ost-Asiens und Südamerikas gelten als Endemiegebiete der Schistosomiasis. Schätzungen gehen davon aus, dass weltweit 250 Millionen Menschen aus insgesamt 78 Ländern von der Krankheit betroffen sind und sie für 280 000 Tote jährlich verantwortlich gemacht wird (LoVerde, 2019). Je nach geografischer Region sind unterschiedliche Parasitenarten mit unterschiedlicher Prävalenz verbreitet (vgl. Abbildung 4) (Gryseels et al., 2006).



**Abbildung 4:** Weltweite Schistosomiasis-Prävalenz und geografische Verbreitung der unterschiedlichen Arten (Quelle: WHO ,2012; Gryseels et al., 2006).

In dieser Arbeit liegt der Fokus auf den Hochprävalenzgebieten Afrikas, wo im Jahr 2000 jährlich über 200 000 Todesfälle einer Schistosomiasis geschuldet waren. Die Weltgesundheitsorganisation (WHO) geht davon aus, dass 92 % der therapiebedürftigen Menschen in Afrika leben (WHO | *Schistosomiasis*, o. J.). Vor allem Kinder und junge Erwachsene nehmen dabei eine große Gruppe ein. Epidemiologische Studien in Ghana, Kenia, Nigeria und Uganda konnten zeigen, dass bis zu 86 % der Kinder unter 6 Jahren mit der Schistosomiasis infiziert sind (Adenowo et al., 2015; Ekpo et al., 2012). Innerhalb der betroffenen Gebiete ist die Prävalenz der Schistosomiasis stark ortsabhängig und variiert zwischen 0 und 100% (vgl. Abbildung 5) (Hürlimann et al., 2011).



**Abbildung 5:** Lokale Prävalenzen verschiedener Schistosomen-Arten in Afrika. **Links:** *S. mansoni*. **Rechts:** *S. haematobium*. (Quelle: Hürlimann et al., 2011)

Diese örtlichen Prävalenzunterschiede beruhen auf verschiedenen Faktoren, die sowohl durch den Schneckenwirt, den Menschen und auch den Parasiten selbst beeinflusst werden. Wichtige geo-ökologische Rahmenbedingung für die Schneckenentwicklung scheint dabei neben dem pH-Wert des Wassers, der Höhenlage des Gewässers und der Schneckenpopulationsdichte insbesondere die Wassertemperatur zu sein. Während Temperaturen zwischen 25°C und 30° als optimal gelten, wirken sich höhere Temperaturen schädlich auf das Überleben der Schnecken aus (Brooker, 2007). Nicht nur das Schneckenwachstum, sondern auch die in ihnen stattfindende Parasitenentwicklung und -freisetzung kann durch bestimmte Temperaturoptima günstig beeinflusst werden (Rowel et al., 2015). Generell ist somit davon auszugehen, dass menschliche Populationen, welche in der Nähe von Süßwasservorkommen mit günstigen Bedingungen für Zwischenwirt und Parasit leben, eine entsprechend erhöhte Infektionsrate aufweisen. Wegen eines zunehmenden Selektionsdrucks auf den Parasiten, unter anderem bedingt durch den Klimawandel, das Bauen neuer Dammkonstruktionen, geänderter landwirtschaftlicher Praktiken sowie Massenprogrammen zur Verabreichung von Arzneimitteln (MDA) werden mittlerweile lebensfähige Hybridisierungen zwischen tier- und humanpathogenen Schistosomen-

Spezies gefunden. Außerdem breiten sich bestimmte Arten zunehmend über die Grenzen ihrer ökologischen Nischen aus, wodurch zukünftig mit neuen Infektionsgebieten zu rechnen ist (Leger & Webster, 2017; Stensgaard et al., 2019).

Auch in Europa und Deutschland treten Schistosomen-Infektionen auf. Da die Krankheit in diesen Teilen der Welt nicht endemisch vorkommt, handelt es sich dabei in erster Linie um importierte Fälle durch Reiserückkehrer oder Geflüchtete aus den entsprechenden Ländern (Lingscheid et al., 2017), allerdings wurden auf der französischen Insel Korsika in den Jahren 2013 und 2014 über 100 *S. haematobium*- und *S. haematobium/S. bovis*-Hybrid-Infektionen gemeldet. Es wird davon ausgegangen, dass die Erreger von bereits infizierten Menschen aus Westafrika eingeführt wurden und sich in den heimischen *Bulinus*-Arten vermehren konnten, womit das potentielle Risiko von Ausbruchsherden innerhalb Europas unterstrichen wird (Boissier et al., 2015; Boissier et al., 2016). In einer 2017 veröffentlichten, schweizerischen Studie wurden Geflüchtete aus Eritrea auf infektiöse Krankheiten untersucht. Im Falle der Schistosomiasis zeigten 40,2 % (n = 107) der untersuchten Individuen einen positiven POC-CCA (Circulating Cathodic Antigen)-Urin-Schnelltest und 21,5 % (n = 107) einen Eiernachweis in der Stuhlmikroskopie. Ebenfalls 40,2 % (n = 107) der Gescreenteten wiesen eine positive Schistosomiasis-Serologie auf (Chernet et al., 2018). Eine Metaanalyse aus dem Jahr 2019 ergab eine Seroprävalenz von 24,1 % unter sub-saharischen Migranten (Asundi et al., 2019). Auch in Italien wurde versucht, die Schistosomiasis-Prävalenz unter Asylsuchenden und Immigranten aus Sub-Sahara-Afrika zu ermitteln. Eine retrospektive Analyse von Daten der Jahre 2010 - 2014 ergab, dass 34 % der insgesamt 373 Getesteten in zumindest einem diagnostischen Verfahren positiv auf Schistosomen getestet wurden. Im Detail zeigten 27,6 % eine positive Serologie, 17,4 % eine positive Mikroskopie und 12,6 % einen positiven Urin-CCA-Test (Beltrame et al., 2017). Aus diesen Daten lässt sich schlussfolgern, dass auch in Deutschland lebende Migranten und Asylsuchende ein durchaus relevantes Risiko aufweisen sollten, an einer Schistosomiasis erkrankt zu sein.

## 1.5 Therapie und Präventionsstrategien

In Deutschland erfolgt die Behandlung der Schistosomiasis laut Leitlinien der Deutschen Tropenmedizinischen Gesellschaft (DTG) mittels einer gewichtsadaptierten 3-tägigen Gabe von Praziquantel (PZQ, 40mg/kg Körpergewicht bei Infektionen durch *S. mansoni* oder *S. haematobium*). Das derzeitige Mittel der ersten Wahl weist keine Kontraindikationen auf und die Nebenwirkungen werden als gering beschrieben. Zu diesen zählen Schwindel, Benommenheit, Kopfschmerzen, Fieber, gastrointestinale Beschwerden, Übelkeit und Erbrechen und selten urtikarielle Hautreaktionen. Weiterhin zeichnet es sich durch gute Wirksamkeit, leichte Verteilbarkeit und geringe Kosten aus, was dazu führt, dass das Medikament jährlich bei Millionen von Menschen zum Einsatz kommt. Laut der S1-Leitlinie der Arbeitsgemeinschaft der Wissenschaftlichen Medizinischen Fachgesellschaften e.V. (AWMF) befürwortet die WHO eine Therapie in der Schwangerschaft, da der erwartete Schaden für den Fetus durch die Schistosomiasis größer als die Einnahme von Praziquantel ist (Stand 10/2017). Trotz guter Wirksamkeit greift die Substanz, deren Wirkmechanismus zum Teil noch unklar ist, nicht alle Stadien des Parasiten an und Resistenzentwicklungen werden - auch aufgrund fehlender Therapiealternativen - gefürchtet (Cioli et al., 2014; Cupit & Cunningham, 2015; *Leitlinie: Diagnostik und Therapie der Schistosomiasis*, o. J.; W. Wang et al., 2012). Als Verlaufskontrolle werden in den deutschen Leitlinien insgesamt drei Kontrolluntersuchungen nach 6, 12 und 24 Monaten empfohlen. Dabei sollen serologische Untersuchungen auf spezifische Antikörper, sowie die Suche nach Schistosomen-Eiern in Stuhl (*S. mansoni*) oder Sammelurin (*S. haematobium*) erfolgen. Auch nach erfolgreicher Therapie können die Eier noch bis zu 3 Monaten im Gewebe persistieren, bis sie schließlich absterben. Ein Nachweis vitaler Eier zu einem späteren Zeitpunkt ist daher als Therapieversagen zu werten oder liefert Hinweise auf eine Reinfektion (*Leitlinie: Diagnostik und Therapie der Schistosomiasis*, o. J.).

Da derzeit kein wirksamer Impfstoff gegen die Krankheit existiert (Molehin, 2020), wird versucht die Zahl der Infizierten durch alternative Präventionsprogramme stetig einzudämmen. Den wichtigsten Stellenwert nimmt dabei die Massenapplikation von Medikamenten (Mass Drug Administration, MDA) ein. Mittels Chemotherapie durch

Praziquantel konnten im Jahr 2018 beispielsweise ca. 95 Million Menschen weltweit einer Behandlung der Schistosomiasis zugeführt werden. Während bei therapiebedürftigen Schulkindern eine Abdeckung von 61,2 % erreicht werden konnte, wurden nur 18,2% der behandlungsbedürftigen Erwachsenen therapiert (*Schistosomiasis and Soil-Transmitted Helminthiasis*, o. J.), was zeigt, dass die Maßnahme der MDA bei Weitem nicht alle Erkrankten erreicht. Außerdem bietet sie keinen Schutz vor Reinfektionen und muss regelmäßig wiederholt werden, um eine dauerhafte Suppression der Infektionsraten zu erreichen (Inobaya et al., 2014).

Andere Präventionsstrategien fokussieren sich auf die Kontrolle des Schneckenwirts, wofür sich chemisch-toxische und biologische Ansätze etabliert haben. Der Einsatz niclosamid-haltiger Molluskizide gilt dabei grundsätzlich als sehr effektive Methode, die zu einer starken Reduktion der Schistosomiasis-Prävalenz führen kann. Probleme dieser Methode liegen einerseits in der nachteiligen Beeinflussung des Ökosystem und der menschlichen Gesundheit (Sokolow et al., 2018), andererseits scheitert der konsequente Einsatz häufig an der Tatsache, dass sich die betroffenen Länder die teilweise teuren Molluskizide nicht leisten können. Um das Ziel der WHO, die Schistosomiasis zu eliminieren erreichen zu können, werden daher neue Ansätze in der Schneckenkontrolle benötigt. Dazu zählen verbesserte, weniger umweltschädigende Molluskizide, die Förderung der Verbreitung natürlicher Feinde (z.B. Enten), die Aufklärung der Bevölkerung und die gezielte Abstimmung dieser Maßnahmen auf das zeitlich und örtlich variable Vorkommen der Schneckenpopulationen (Sokolow et al., 2016; WHO | *Schistosomiasis elimination*, o. J.).

Eine weitere wichtige Säule der Bekämpfung besteht in der Installation und dem Ausbau sanitärer Anlagen wie Toiletten, Brunnen oder Abwassersystemen. Durch ausbleibende Kontakte zu kontaminiertem Wasser kann es so gelingen den Lebenszyklus der Schistosomen zu unterbrechen und die Krankheit nachhaltig einzudämmen (Campbell et al., 2014; WHO | *Strategy*, o. J.). Dies verdeutlicht das signifikant niedrigere Infektionsrisiko in Gebieten, in denen solche Maßnahmen bereits umgesetzt werden konnten (Grimes et al., 2014). Außerdem bieten sie ebenfalls Schutz vor weiteren

wasserbezogenen Krankheiten wie der Diarrhö oder anderen Wurminfektionen (Esrey et al., 1991).

Trotz der großen Fortschritte und Bemühungen der letzten Jahre wirkt die Elimination der Schistosomiasis noch fern und mit vielen Herausforderungen konfrontiert. Optimistisch scheint die Kombination der oben genannten Präventionsstrategien zu stimmen (King et al., 2020). Daneben liegt ein besonderes Augenmerk auf den Diagnosemethoden der Schistosomiasis, die nun genauer betrachtet werden sollen.

## **1.6 Diagnostik**

Als Basisdiagnostik werden von der AWMF parasitologische Ei-Nachweise und serologische Untersuchungen auf spezifische Antikörper empfohlen. Urin-Schnelltests, wie der POC-CCA und molekularbiologische Methoden wie die Polymerase-Kettenreaktion (polymerase chain reaction = PCR) werden als im Einzelfall nützliche, direkte Nachweisverfahren beschrieben. Die einzelnen Verfahren werden im Folgenden genauer erläutert.

### **1.6.1 Mikroskopie**

Die mikroskopische Untersuchung ist eines der ältesten und am weitesten verbreitete diagnostische Verfahren und kann je nach Erregerverdacht aus Urin (*S. haematobium*), Stuhl (*S. mansoni*) oder Gewebeproben von Blase (*S. haematobium*) bzw. Darm (*S. mansoni*) erfolgen. Bei positivem Ei-Nachweis gilt die Diagnose Schistosomiasis als gesichert.

Da die Eiproduktion von *S. haematobium* 30-40 Tage nach der Erstinfektion beginnt, kann ab diesem Zeitpunkt ein Nachweis aus dem Urin erfolgen. Falls kein Nachweis aus Spontanurin möglich sein sollte, kann angereicherter Sammelurin verwendet werden. Die Probe wird nun ca. 1h sedimentieren gelassen oder - besser - durch Nylonnetzfilter gepresst werden, um Eier und eventuell bereits geschlüpfte Mirazidien abzufangen (Löscher, 2010). Anschließend erfolgt die Mikroskopie des Materials, wobei im Falle von

*S. haematobium* die Eier einen Sporn mittig am terminalen Pol aufweisen. Dies erlaubt die Unterscheidung zu *S. mansoni*-Eiern, welche einen lateralen Sporn aufweisen (vgl. Abbildung 6).



**Abbildung 6:** Mikroskopische Aufnahme von Schistosomen-Eiern. **Links:** Ei von *S. haematobium* mit mittigem Sporn am terminalen Pol. **Rechts:** Ei von *S. mansoni* mit lateralem Sporn (Quelle: Public Health Image Library, CDC, 2022; wikibooks.org, 2022)

Zur Stuhluntersuchung hat sich die Methode nach Kato-Katz als einfache, kostengünstige und effiziente Technik erwiesen. Dabei wird eine gesiebte Stuhlprobe mit standardisiertem Volumen auf einem Objektträger aufgebracht, angefärbt und anschließend mikroskopiert. Die Gesamtzahl der gefärbten Eier kann so gezählt und zur Berechnung der Anzahl der Eier pro Gramm (eggs per gram = epg) verwendet werden (Löscher, 2010). Die Sensitivität dieser weltweit am häufigsten verwendeten diagnostischen Methode hängt von der Anzahl der untersuchten Proben, sowie von der Anzahl der Eier pro Gramm Stuhl ab. Je mehr Proben untersucht werden und je höher die Ei-Last ist, desto sicherer kann eine Infektion detektiert werden (Bärenbold et al., 2017). So können bei entsprechend hoher Ei-Last (> 300 epg) und durch die Untersuchung mehrerer Proben Sensitivitäten von ca. 90% erreicht werden. Jedoch werden bei einer geringeren Anzahl von Eiern pro Gramm (< 100 epg) ca. 50% der Infizierten nicht detektiert (Bärenbold et al., 2017; Ebrahim et al., 1997), weshalb diese Testmethode auch aufgrund ihrer geringen Reproduzierbarkeit und Objektivierbarkeit als limitiert anzusehen ist. In epidemiologischen Studien und Kontrollprogrammen findet sie dennoch Anwendung (Kongs et al., 2001). Insgesamt kann die Sensitivität der Mikroskopie laut einiger Autoren auf 40-60% und die Spezifität auf 100% festgelegt werden (Beltrame et al., 2017).



### **1.6.2 Antikörperdiagnostik**

Der Schistosomen-Antikörper-Nachweis kann unter anderem durch die Anwendung unterschiedlicher serologischer Testverfahren, wie dem enzymatischen Immunadsorptionsverfahren (EIA = Enzyme Immunoassay, dazu zählt bspw. der ELISA = Enzyme-linked Immunosorbent Assay) und immunchromatografischen Tests (ICT) erfolgen (Beltrame et al., 2017; *Leitlinie: Diagnostik und Therapie der Schistosomiasis*, o. J.). Die Antikörper können sowohl innerhalb der verschiedenen Schistosomen-Arten, als auch mit anderen Helminthen kreuzreagieren, was in der Praxis jedoch eine untergeordnete Rolle zu spielen scheint (Löscher, 2010). Beltrame et al. ermittelten in einer 2017 veröffentlichten Arbeit die Sensitivität und Spezifität von Schistosomiasis-ICT und -ELISA. Der ICT zeigte dabei eine Sensitivität von 96%, der ELISA eine Spezifität von über 99% (Beltrame et al., 2017). Auch andere Autoren konnten vergleichbare Werte für Sensitivität und Spezifität der Testverfahren bestimmen, weshalb die Kombination beider Verfahren eine sichere Diagnosestellung zu erlauben scheint bzw. zum Ausschluss der Diagnose geeignet ist. Eine Unterscheidung zwischen aktiver oder spontan bzw. nach Therapie ausgeheilte Infektion ist allerdings nicht möglich und darüber hinaus sind die Testverfahren eher in späteren Krankheitsstadien geeignet. Die Anwendung serologischer Tests kann bei epidemiologischen Untersuchungen, für Kontrollprogramme oder in der Reisemedizin aufgrund vielfacher Bewertungen dennoch als durchaus nützlich und indiziert angesehen werden (Doenhoff et al., 1993; Hinz et al., 2017; Löscher, 2010).

### **1.6.3 Schnelltests**

Eine weitere diagnostische Methode besteht in der Durchführung von point-of-care (POC) Urin-Schnelltests, die leicht zu handhaben sind, schnell verfügbare Ergebnisse liefern und ohne zusätzliche Laborverfahren angewendet werden können (Luppa, 2008). Ihre Funktionsweise basiert auf der Detektion zirkulierender Antigene, wie dem zirkulierenden kathodischen Antigen (Circulating Cathodic Antigen, CCA) (*Zoonosen*, 2013), welches von lebenden Schistosomen kontinuierlich freigesetzt wird (van Dam et al., 1996). Sowohl Infektionen der urogenitalen als auch der intestinalen Form können mit diesem Testverfahren nachgewiesen werden, da das Antigen ins Blut abgegeben und

nach der Nierenpassage mit dem Urin ausgeschieden wird. Eine Unterscheidung der einzelnen Erreger ist nicht möglich, jedoch gilt der Test als sensitiver für *S. mansoni*-Infektionen (Ochodo et al., 2015). In zahlreichen Studien wurde gezeigt, dass der CCA-Schnelltest vor allem in Regionen mit limitierten diagnostischen Ressourcen als gut geeignete, günstige und einfach durchführbare Screening-Methode angesehen werden kann und zudem der Kato-Katz-Methode hinsichtlich der Sensitivität überlegen ist (Lamberton et al., 2014; Navaratnam et al., 2012; Okoyo et al., 2018; Sousa-Figueiredo et al., 2013; Stothard, 2009; Tchuente et al., 2012). Die Sensitivität von CCA-Schnelltests wird je nach Autor und Hersteller mit 73,5 % - 94,2 % angegeben, während die Spezifität zwischen 59,4 % - 93,0 % liegt (Beltrame, Guerriero, et al., 2017; Lamberton et al., 2014; Shane et al., 2011; Siqueira et al., 2016; Standley et al., 2010). Im Vergleich zu PCR-, Western Blot (WB) und immunochromatographischen Methoden scheint der Urin-Schnelltest hinsichtlich Sensitivität und Spezifität somit unterlegen (Beltrame, Guerriero, et al., 2017; Lodh et al., 2013; Obeng et al., 2008) und zudem bei niedriger Parasitenlast nicht ausreichend zur Detektion einer Schistosomen-Infektion geeignet zu sein (Coelho et al., 2016). Um eine möglichst hohe Sensitivität bei der Erfassung einer Schistosomen-Infektion zu erreichen schlagen manche Autoren auch eine Kombination mehrerer Diagnostik-Verfahren vor (Siqueira et al., 2016).

Auch der in Punkt 1.6.2 (S.15) genannte ICT existiert seit wenigen Jahren als Schnelltest-Variante, welche mit Serum durchgeführt wird. Bisher scheint sich der Test als gut geeignetes Screening-Tool behauptet zu haben, jedoch konnten zum Zeitpunkt der Erstellung dieser Arbeit nur wenige Studien zur Evaluation dieses Verfahrens gefunden werden.

#### **1.6.4 Molekularbiologische Verfahren**

In der derzeitigen aktuellen deutschen Leitlinie zur Diagnostik und Therapie der Schistosomiasis wird die PCR als fakultatives, im Einzelfall nützliches, direktes Nachweisverfahren erwähnt (*Leitlinie: Diagnostik und Therapie der Schistosomiasis*, o. J.). Prinzipiell kann mit diesem Verfahren freie Schistosomen-DNA sowohl in Blut, Serum, Urin und Stuhl detektiert werden und es gilt als hoch-sensitiv (92 %-100 %) und spezifisch (bis 99,9 %) Detektionsmethode, insbesondere in frühen Infektionsstadien,

in denen klassische parasitologische Verfahren, wie die Mikroskopie deutlich seltener einen Krankheitsnachweis erbringen können (Cnops et al., 2013; Espírito-Santo et al., 2014; Oliveira et al., 2010; Pontes et al., 2002; Sandoval et al., 2006; Wichmann et al., 2013). Der Nachweis von Schistosomen-DNA mittels PCR lässt sich daher als gut geeignete Methode für die Bestätigung einer floriden, behandlungsbedürftigen Infektion bezeichnen.

Mittels real-time PCR (= quantitative PCR = qPCR) ist es außerdem möglich, die aus dem jeweiligen Material bestimmte Schistosomen-DNA zu quantifizieren (Gomes et al., 2006). Bei der Bearbeitung von Stuhlproben durch ten Hove et al. konnte weiterhin dargelegt werden, dass die gemessene Menge an Schistosomen-DNA eine signifikante Korrelation zur im Stuhl enthaltenen Ei-Anzahl aufweist (ten Hove et al., 2008). Somit scheint über die Anwendung einer qPCR eine indirekte Aussage über die Parasitenlast möglich zu sein.

### **1.7 Zielsetzung der Arbeit und Hypothese**

In dieser Arbeit soll der zeitliche Verlauf der Menge an frei-zirkulierender Schistosomen-DNA im Blut nach der Intervention mit Praziquantel ermittelt und verglichen werden. Es stellt sich die Frage, wie lange nach der Therapie sich freie Schistosomen-DNA noch nachweisen lässt und wie sich die zirkulierende DNA-Menge im zeitlichen Verlauf verändert. Besonderes Interesse gilt dabei dem Zeitpunkt, ab dem sich keine DNA mehr detektieren lässt, da dies anzeigt, wie lange der betroffene Organismus benötigt, die Parasiten-Bestandteile zu eliminieren. Außerdem könnte die Elimination zirkulierender Parasiten-DNA als sicherer Therapieerfolg angesehen werden. Hierzu liegen bisher nur wenige Daten vor. Die Kenntnis einer solchen Schistosomen-DNA-Kinetik könnte zukünftig in die Entwicklung neuer diagnostischer Ansätze mit einfließen und es könnten sich alternative Wege für die Bestimmung des optimalen Zeitpunkts einer Kontrolluntersuchung nach erfolgter Therapie und für die Beurteilung des Behandlungserfolgs eröffnen. Beispielsweise wäre durch das Hinzuziehen dieses Wissen eine deutliche Überlegenheit hinsichtlich der Sensitivität gegenüber der bisher

angewandten Methode der Bestimmung der Ei-Ausscheidung zu erwarten. Mittelfristig ist die Entwicklung von auf dieser Kenntnis basierenden Schnelltests denkbar.

Vergleichbare Forschungen am Menschen scheinen nach derzeitigem Stand nur vereinzelt zu bestehen, jedoch existieren bereits Untersuchungen zum Verlauf der Schistosomen-DNA nach Therapie im Tiermodell. In Studien an mit Schistosomen infizierten Mäusen konnte bis zum 10. Tag nach der Therapie ein Anstieg der Menge an frei-zirkulierender Schistosomen-DNA beobachtet werden; gefolgt von einem kontinuierlichen Abfall (Eraky & Aly, 2016). Der Anstieg lässt sich dabei durch die abrupte Freisetzung großer DNA-Mengen aus den Überresten der abgetöteten Parasiten erklären. Ein ähnlicher Verlauf konnte auch in einer Arbeit mit infizierten Hasen beobachtet werden. Hier kam es innerhalb von 1-2 Wochen zu einem stetigen Anstieg der Menge an Schistosomen-DNA, dem dann ein über mehrere Wochen dauernder Abfall folgte (C. Wang et al., 2011). Zhou et. al zeigten außerdem im Maus-Modell, dass 4 Wochen nach der Therapie keine Schistosomen-DNA mehr nachweisbar war (Zhou et al., 2011).

Überträgt man diese Erkenntnisse auf den Menschen, ist zu erwarten, dass die freigesetzte Menge an Schistosomen-DNA nach der Therapie zunächst ebenfalls deutlich ansteigen wird. Wegen der kontinuierlichen Eliminierung der Parasiten-Überreste sollte es nach dem Erreichen eines Konzentrationsmaximums im Serum zu einem stetigen Abfall dieser Zerfallsprodukte - und damit auch der Menge an frei zirkulierender Schistosomen-DNA - kommen. Ebenso ist davon auszugehen, dass durch die im Gewebe persistierenden Schistosomen-Eier bis zu deren Untergang detektierbare DNA-Mengen freigesetzt werden. All diese Mengen können im zeitlichen Verlauf gemessen und so zur Erstellung einer Schistosomen-DNA-Kinetik genutzt werden.

Für die Realisierung dieses Vorhabens werden Studienteilnehmende benötigt, die gegenwärtig mit einer Schistosomiasis infiziert sind, noch keiner Behandlung zugeführt wurden und außerdem in endemie-freien Gebieten leben, da somit eine Reinfektion ausgeschlossen werden kann. Um diese in ausreichend hoher Zahl ausfindig zu machen, wurde Migranten und Asylsuchenden, die aus einem Mittel- oder Hochprävalenzland

stammen, die Teilnahme an einem Screening-Programm auf Schistosomiasis angeboten (genauer s. Material und Methoden). Dabei kamen ein Urin-Schnelltest, welcher Antigene (hier: CCA) nachweist, ein serologischer Schnelltest zum Antikörpernachweis (hier: ICT), die Urin- und Stuhlmikroskopie, sowie molekularbiologische Methoden wie die real-time quantitative PCR zum Einsatz. Die meisten dieser diagnostischen Verfahren wurden in der Vergangenheit bereits in einer Vielzahl von Studien evaluiert und leisten einen bedeutenden Beitrag zur weltweiten Kontrolle und Detektion der Schistosomiasis, allen voran in den Hochprävalenzländern Afrikas (vgl. Punkt 1.6, S.13). Eine andere Situation liegt in Regionen mit einer geringen oder unbekanntem Prävalenz vor. In diesen schwach bzw. nicht-endemischen Gebieten wurden von einigen Autoren bereits Zweifel an der Reliabilität und dem Stellenwert in der Therapiekontrolle insbesondere der Urin-Schnelltests geäußert (Bezerra et al., 2018; Neumayr et al., 2019; Peralta & Cavalcanti, 2018). Da diese Thematik in der aktuellen Fachliteratur bisher nur durch eine überschaubare Anzahl an Publikationen behandelt wurde und weitere Forschungserkenntnisse von Nutzen sein könnten, soll auch in dieser Arbeit eine Evaluation verschiedener diagnostischer Verfahren zum Screening einer Risikopopulation mit unbekannter Schistosomiasis-Prävalenz erfolgen. Als weiteres Ziel soll in diesem Rahmen außerdem die Prävalenz, der an einer Schistosomiasis erkrankten in diesem Personenkreis ermittelt werden.

Die Ziele der Arbeit lassen sich abschließend wie folgt zusammenfassen:

- Bestimmung einer Schistosomen-spezifischen DNA-Kinetik nach der Behandlung mit Praziquantel mit dem Treffen einer Aussage darüber, wann eine Kontrolluntersuchung bei mit Schistosomen infizierten Patienten angezeigt ist.
- Evaluation der angewendeten Testverfahren unter Berücksichtigung des Studien-Settings und unter Hinzuziehen einschlägiger Fachliteratur
- Bestimmung der Prävalenz der Schistosomiasis bei einer in Deutschland lebenden, ausgewählten Population von Migranten bzw. Asylsuchenden aus Mittel- und Hochprävalenzländern

## **2 MATERIAL UND METHODEN**

### **2.1 Studienkontext**

#### **2.1.1 Voraussetzungen**

Für das Vorhaben wurde im Vorfeld eine Beratung durch die Ethik-Kommission der Universität Würzburg eingeholt. Gegen die Durchführung der Studie wurden dabei keine Einwände erhoben (Mitteilung vom 19.04.2019, Zeichen: 214/18-sc).

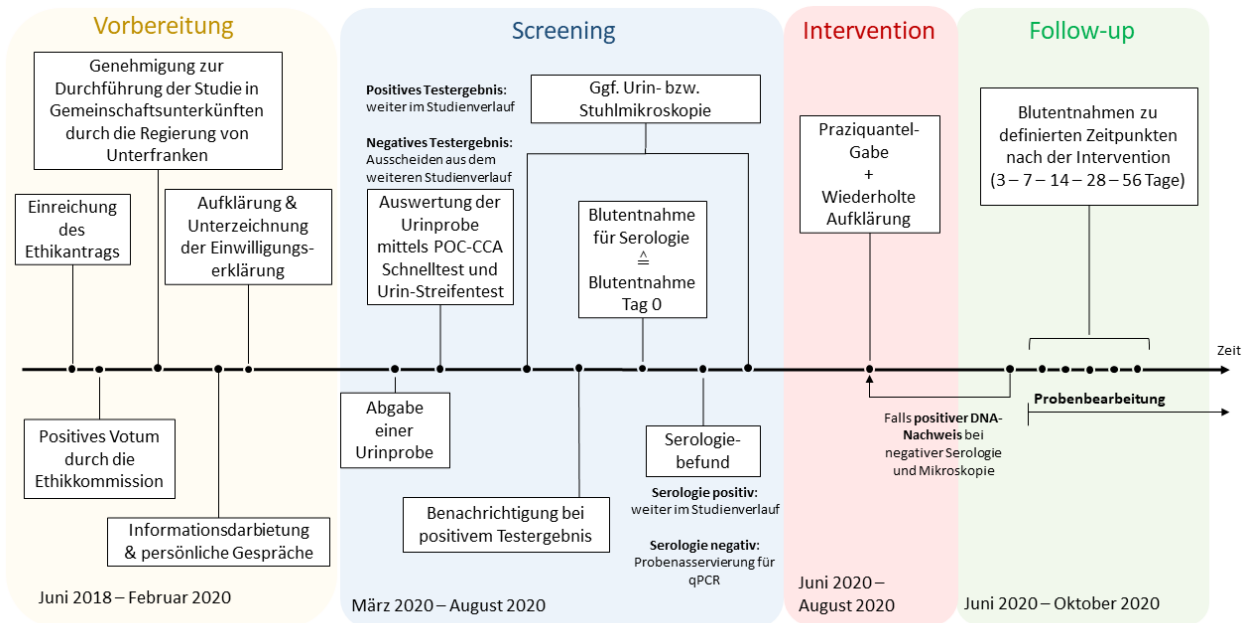
Für die Durchführung des Projekts an Würzburger Gemeinschaftsunterkünften (GU) für Geflüchtete (vgl. auch Punkt 2.1.3, S. 22) wurde am 03.03.2020 das Einverständnis seitens der Regierung von Unterfranken gegeben.

#### **2.1.2 Überblick über den Studienablauf**

Um Teilnehmende für die Studie zu gewinnen, wurden diese im ersten Schritt an ihrem Wohnsitz in der Gemeinschaftsunterkunft aufgesucht und krankheits- und studienbezogene Informationen anhand von Bildmaterial und persönlichen Gesprächen dargeboten. Entschied sich ein Kandidat oder eine Kandidatin zur Studienteilnahme, erfolgte nach der Aufklärung die Unterzeichnung der Einwilligungserklärung seitens der Teilnehmenden. Anschließend erfolgte das Screening auf eine Schistosomen-Infektion, wozu die Teilnehmenden um die Abgabe einer Urinprobe gebeten wurden, welche noch am selben Tag mittels eines CCA-Urin-Schnelltests ausgewertet wurde. Außerdem kam ein Urin-Steifentest zur semiquantitativen Bestimmung von Leukozyten, Erythrozyten und Protein zu Einsatz. Bei Vorliegen einer Erythrozyturie erfolgte unabhängig vom Schnelltest-Ergebnis die Urin-Mikroskopie, um eine eventuell vorliegende *S. haematobium*-Infektion durch einen Ei-Nachweis zu detektieren. Im Falle eines positiven Testergebnisses (Schnelltest oder Urin-Mikroskopie) wurde der Patient/die Patientin im Laufe von zwei Wochen über dieses informiert und erhielt einen Termin zur Blutentnahme für die Bestimmung einer Schistosomen-Serologie und zur Detektion von freier Schistosomen-DNA mittels PCR. Zusätzlich wurden alle Teilnehmenden welche einen G-Score von  $\geq 4$  (vgl. Tabelle 1, Punkt 2.2.1, S.28 und Punkt 2.2.4, S.32) im Urin-Schnelltest aufwiesen, um die Abgabe

einer Stuhlprobe zur Mikroskopie gebeten. Im Falle eines negativen Schnelltest-Ergebnisses wurde dieses nicht aktiv mitgeteilt und es folgte kein weiteres Fortschreiten im Studienverlauf. Dieses Vorgehen wurde den Teilnehmenden im Vorfeld erklärt. Gleiches galt für das Vorliegen eines negativen Serologie-Befundes oder einem ausbleibenden Ei-Nachweis in der Mikroskopie.

Lag ein positiver Serologie-Befund bzw. ein DNA- oder Ei-Nachweis vor, wurde die Praziquantel-Gabe geplant und der Patient/die Patientin erhielt einen erneuten Vorstellungstermin. Dabei wurde erneut aufgeklärt, mit dem Ziel an den weiteren Studienablauf zu erinnern und die Compliance zu fördern. Nach dem Verabreichen des Medikaments (Tag 0), schloss sich das Follow-up mit insgesamt fünf weiteren Blutentnahmen zu den definierten Zeitpunkten 3-7-14-28-56 Tage an. Eine Abweichung von  $\pm 1$  Tag wurde akzeptiert. Ebenfalls war eine Blutentnahme zum Tag 0 vorgesehen, welche nicht zwangsläufig am Tag der Intervention stattfinden musste, sondern bereits bei der Blutentnahme für die Serologie mit abgenommen werden konnte. Da im Zeitraum zwischen Diagnosestellung und Therapie keine großen Schwankungen der Schistosomen-DNA-Menge im Blutkreislauf zu erwarten sind, wurde dies als für die Datenerhebung vernachlässigbar angesehen und ersparte den Teilnehmenden eine zusätzliche Blutentnahme. Spätestens nach der letzten Probenentnahme erfolgte deren Auswertung mit Hilfe molekularbiologischer Methoden (qPCR), um Daten für die Erstellung der DNA-Kinetik zu gewinnen. Teilweise erfolgte dies bereits parallel zum Follow-up. Hatte sich hierbei gezeigt, dass schon zu den ersten Entnahme-Zeitpunkten keine Schistosomen-DNA nachweisbar war, wurde das weitere Follow-up abgebrochen, da davon ausgegangen wurde, dass keine floride Infektion vorlag (vgl. Punkt 2.3, S.32) und so den Teilnehmenden unnötiger Aufwand und Blutentnahmen erspart blieb. Zur Veranschaulichung ist der Studienablauf in Abbildung 7 nochmals grafisch dargestellt. Auf die einzelnen Schritte und Komponenten wird in den nachfolgenden Gliederungspunkten dieser Arbeit genauer eingegangen.



**Abbildung 7:** Schematische Darstellung des Studienablaufs mit den einzelnen Phasen in zeitlicher Abfolge. Die Abstände zwischen den einzelnen Schritten (schwarze Punkte) spiegeln keine fest definierten Zeiträume wider.

### 2.1.3 Studienpopulation

Da die Krankheit in Deutschland nicht vorkommt und nur selten bei Reiserückkehrenden entdeckt wird, spielte die Auswahl der Studienpopulation eine wichtige Rolle, um eine ausreichende Anzahl an Personen zu gewinnen, die zum damaligen Zeitpunkt an einer floriden Schistosomiasis erkrankt waren. Potenzielle Einschlusskandidaten und Einschlusskandidatinnen wurden daher in den Würzburger Gemeinschaftsunterkünften für Geflüchtete mit einem relevanten Anteil an Bewohner/-innen aus Mittel- oder Hochprävalenzländern (Prävalenz: 10 - 49 % bzw.  $\geq 50\%$ ; vgl. Abbildung 4) gesucht, da davon ausgegangen werden kann, dass diese ein relevantes Krankheits-Risiko aufweisen. Grundsätzlich war es aber allen Personen, welche die Einschlusskriterien (vgl. Punkt 2.1.6, S.25) erfüllten, möglich an der Studie teilzunehmen. Dies traf beispielsweise auf Patienten oder Patientinnen zu, die über die Tropenmedizinische Abteilung der Missionsärztlichen Klinik Würzburg angebunden werden konnten.



## **2.1.4 Biometrische Aspekte**

### **2.1.4.1 Studiendesign**

Die vorliegende Arbeit bedient sich je nach Fragestellung zweier unterschiedlicher Studiendesigns. Bei der Bestimmung der Schistosomen-DNA-Kinetik handelt es sich um eine Quasi-experimentelle Studie ohne Kontrollgruppe. Der Ein-Gruppen-Versuchsplan sieht eine einmalige Intervention (Praziquantel) mit anschließender, fünf-maliger Messung einer abhängigen Variable (Schistosomen-DNA im Serum) über die Zeit vor (Holling & Schmitz, 2010).

Die Bestimmung der Schistosomiasis-Prävalenz beruht auf einer Beobachtungsstudie mit Querschnitts-Design. Da die Prävalenzbestimmung nicht an einem einzigen Stichtag, sondern über einen Zeitraum von mehreren Monaten erfolgte, wäre der Begriff der Periodenprävalenz genau genommen als korrekte Beschreibung aufzufassen. Da eine Infektion in Deutschland jedoch ausgeschlossen ist und eine vernachlässigbare Fluktuation der Studienpopulation vorliegt, wurde der Begriff der Punktprävalenz vom Autor als zutreffende Bezeichnung angesehen. Wird die Prävalenzbestimmung nach der Erhebungsform eingeteilt, handelt es sich beim vorliegenden Studiendesign um eine Feldprävalenz.

### **2.1.4.2 Definition der Endpunkte**

Der primäre Endpunkt wurde wie folgt definiert: Reduktion der im Blut befindlichen Konzentration der Schistosomen-spezifischen-DNA im zeitlichen Verlauf nach Intervention durch Praziquantel bei Patienten aus Hoch- und Mittelprävalenzländern

### **2.1.4.3 Biometrische Formulierung der Hauptfragestellungen**

Ziel war es, einen quantitativen DNA-Nachweis zu definierten Zeitpunkten zu erhalten und im Verlauf hinsichtlich der Kinetik zu beurteilen. Dazu wurden zunächst Teilnehmende benötigt, welche mit einer Schistosomiasis infiziert waren.

Mehrere, zu definierten Zeitpunkten entnommene Serumproben von Positiv-getesteten, welche sich einer Behandlung unterzogen haben, wurden anschließend genutzt, um frei zirkulierende Schistosomen-DNA zu detektieren. Die Ergebnisse wurden dokumentiert und mit Hilfe geeigneter Software ausgewertet. Der zeitliche Verlauf der

erhobenen Parameter konnte so dargestellt und miteinander verglichen werden. Dabei wurden metrische Merkmale, unter Verwendung von Maßzahlen wie Mittelwerte, Standardabweichung, Varianz und Perzentilen herangezogen.

Die gewonnenen Daten wurden weiterhin für eine Prävalenzbestimmung der Schistosomiasis bei in Deutschland lebenden Asylsuchenden und Migranten aus relevanten Herkunftsländern genutzt.

#### 2.1.4.4 Biometrische Begründung der Fallzahlen

Vor Studienbeginn bzw. dem Screening-Programm war die Zahl der mit einer Schistosomiasis infizierten Bewohner/Bewohnerinnen der Unterkünfte nicht bekannt.

Bei der Rekrutierung der Teilnehmer/der Teilnehmerinnen war es nicht möglich, die genaue örtliche Schistosomiasis-Prävalenz ihrer Herkunftsgebiete zu ermitteln. Dies ist der Tatsache geschuldet, dass keine exakten Daten jedes einzelnen Gebietes der Welt zur Verfügung stehen und die Schistosomiasis-Prävalenz regional variiert. Um eine möglichst hohe Zahl an Infizierten zu identifizieren, konnten somit alle Personen, die aus Hoch- bzw. Mittelprävalenzländern stammen, an der Studie teilnehmen. Nach den Daten der WHO (vgl. Abbildung 4), sowie Abbildung 5 ergibt sich, dass die Schistosomiasis de facto im gesamten sub-saharischen Afrika endemisch ist.

Das Ziel dieser Studie war es, möglichst viele Infizierte zu detektieren, um einen aussagekräftigen Vergleich der DNA-Kinetik durch die Laboranalyse zu erhalten. Bei der Erstellung der DNA-Kinetik wurde die Änderung eines Laborparameters zu verschiedenen Zeitpunkten nach der Intervention durch Praziquantel untersucht.

Die Ermittlung der Prävalenz der Schistosomiasis bei in Deutschland lebenden Migranten aus Mittel- und Hochprävalenzländern war ein weiteres Studienziel.

Chernet et al, 2017 und Chernet et al, 2018 ermittelten bei zwei in der Schweiz durchgeführten Studien eine Schistosomiasis-Prävalenz von 35 % bzw. 21,5 % bei Geflüchteten aus Afrika (Chernet et al., 2017, 2018). Da die genaue Prävalenz bei in Deutschland lebenden Asylsuchenden und Migranten aus relevanten Herkunftsländern unbekannt ist, wurde als Referenz die kleinste Prävalenz aus der Schweiz angenommen.

### **2.1.5 Risiko-Nutzen-Abwägung**

Die Abgabe von Urin und Stuhl wurde für die Teilnehmer und Teilnehmerinnen als ungefährlich, einfach durchführbar und ohne gravierendes gesundheitliches Risiko für die zu untersuchende Person befunden.

Die Blutentnahmen erfolgten mit handelsüblichem, standardisiertem Punktionsmaterial (Kanülen, Butterflies, Monovetten) und wurden durch fachkundiges, geschultes Personal durchgeführt, um die Prozedur für die Teilnehmer/Teilnehmerinnen möglichst wenig unangenehm und ungefährlich zu gestalten. Blutentnahmen unterliegen grundsätzlich bestimmten, wenn auch geringen, Risiken. Diese belaufen sich auf Schmerzen an der Einstichstelle, sowie der Ausbildung eines Hämatoms, welches eventuell einige Tage lang sichtbar bleibt. In äußerst seltenen Fällen kann es zur Ausbildung eines Blutgerinnsels (Thrombose), einer örtlich begrenzten Entzündung und/oder einer Blutvergiftung kommen. Noch seltener kann es zu einer dauerhaften Schädigung von Nerven mit nachfolgender Empfindungsstörung oder sogar Lähmung kommen (Achtmann, 2012).

Der individuelle Nutzen für Personen, die freiwillig an der Studie teilnahmen, bestand darin, dass sie im Verlauf von der Therapie einer bisher unentdeckten Krankheit profitieren konnten.

Der wissenschaftliche Nutzen bestand im Erwerb von neuen Informationen zum Verlauf der Schistosomen-spezifischen DNA nach der Behandlung der Infektion, sowie zur Prävalenz der Schistosomiasis bei aus Hoch- bzw. Mittelprävalenzländern stammenden Geflüchteten. Dieses Wissen kann zukünftig als Grundlage zur Entwicklung neuer Diagnose-, Kontroll- und Therapiestrategien dienen.

### **2.1.6 Aufklärung, Einwilligung und Studieneinschluss**

Um geeignete Teilnehmer und Teilnehmerinnen für die Studienteilnahme zu gewinnen, wurden diese zunächst an ihrem Wohnsitz in der Gemeinschaftsunterkunft aufgesucht und bekamen krankheits- und studienbezogene Informationen durch persönliche Gespräche und in verständlicher Form und Sprache dargeboten. Die Aufklärung erfolgte

dabei durch den Autor der Arbeit oder den Studienleiter Dr. med. Andreas Müller. Kernaspekte der Aufklärung bestanden im Informieren über die Krankheit, den Studienablauf, die Risiken und den Nutzen (vgl. Punkt 2.1.5, S.25), sowie die Möglichkeit, die Studie jederzeit und ohne Angabe von Gründen verlassen zu können. Anschließend bestand die freiwillige Möglichkeit zur Studienteilnahme. Erklärten sich Interessierte dazu bereit, war zunächst die Unterzeichnung einer Einwilligungserklärung, sowie die Überprüfung der Ein- und Ausschlusskriterien erforderlich. Diese wurden wie folgt definiert:

a) Einschlusskriterien

- Der Teilnehmer/die Teilnehmerin muss aus einem Land stammen, in dem die Schistosomiasis als hoch- bzw. mittelprävalent gilt und endemisch ist.
- Der Teilnehmer/die Teilnehmerin muss mindestens 18 Jahre alt sein.
- Der Teilnehmer/die Teilnehmerin muss in der Lage sein, die Aufklärung verbal zu verstehen. Dies erfolgt mit Hilfe eines Dolmetschers in seiner Muttersprache oder einer ihm/ihr gut geläufigen Zweitsprache (Englisch, Französisch). Sollte eine ausreichende verbale Kommunikation nicht möglich sein, kann der Patient nicht in die Studie eingeschlossen werden. Die Einwilligungserklärung wird durch den Teilnehmer/die Teilnehmerin, oder wenn nur eine verbale Aufklärung möglich ist, vom Teilnehmer/der Teilnehmerin und einem Zeugen unterschrieben.

b) Ausschlusskriterien

- Der Teilnehmer/die Teilnehmerin darf in Deutschland noch nicht mit Praziquantel vorbehandelt worden sein. Das in Deutschland nach den Leitlinien der DTG eingesetzte Therapieprotokoll mit dreimaliger Behandlung mit Praziquantel führt in aller Regel zu einer Sanierung der Infektion. Darüber hinaus ist eine Reinfektion in Deutschland nicht möglich. Eine in Deutschland durchgeführte Behandlung ist demnach ein Ausschlusskriterium, da mit sehr

hoher Wahrscheinlichkeit keine Infektion mehr vorliegt. Eine noch im Heimatland durchgeführte zurückliegende Behandlung kann dagegen aufgrund des hohen Reinfektionsrisikos nicht als gesicherte Heilung angesehen werden.

### **2.1.7 Probenmanagement**

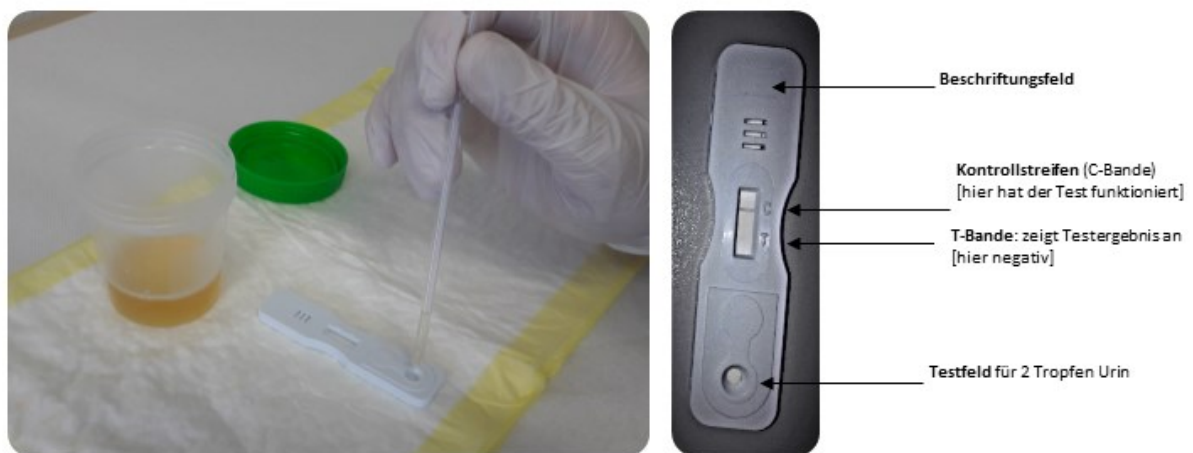
Nach dem Studieneinschluss sollten die Teilnehmenden auf das Vorliegen einer floriden Infektion gescreent werden und wurden daher zunächst um die Abgabe einer Urinprobe gebeten. Als Gefäß wurden handelsübliche Urinbecher verwendet. Die Becher wurden mit einer einmalig vergebenen Nummer versehen, welche weiterhin auf einer separaten Liste zusammen mit dem Namen, dem Geburtsdatum, dem Herkunftsland und den Testergebnissen des Teilnehmers/der Teilnehmerin aufgeführt wurde. Auf diese Weise wurde eine eindeutige Zuordnung der Teilnehmer und Teilnehmerinnen zu ihren Proben gewährleistet.

Die vergebene Nummer blieb den Teilnehmenden bis zum Ende der Studie erhalten. Alle weiteren gewonnenen Proben wurden ebenfalls mit dieser Nummer gekennzeichnet, wodurch stets die eindeutige Zuordnung möglich war. Für das Follow-up erhielten die Teilnehmer/-innen einen Ausweis, welchen sie mit sich führten und an den Entnahmetermeninen vorzeigten. Dies sollte sowohl der Identifikation der Teilnehmenden dienen, als auch der Dokumentation der bereits erfolgten Blutentnahmen.

## 2.2 Screening und Analyse der dabei gewonnenen Proben

### 2.2.1 Urin-Schnelltest

Die abgegebene Urinprobe wurde noch am selben Tag durch einen Schistosomiasis-Schnelltest ausgewertet. Hierzu wurde der Schisto POC-CCA<sup>®</sup> (Batch-No. 190625067) der Firma Rapid Medical Diagnostics (Pretoria, Südafrika) verwendet. Laut Herstellerangaben beträgt die Sensitivität dieser Tests 100% bei mehr als 400 epg, kann aber auf bis zu 70% abnehmen (*Rapid Medical Diagnostics, o. J.*). Gemäß den Angaben in der Gebrauchsanweisung wurden 2 Tropfen Urin mit Hilfe der mitgelieferten Pipette auf das dafür vorgesehene Feld geträufelt. Nach 20 Minuten konnte das Ergebnis abgelesen werden. Verfärbte sich der Kontrollstreifen (C-Bande) hatte der Test funktioniert. Ein positives Ergebnis lag vor, wenn sich eine sichtbare Bande im entsprechenden Bereich (T-Bande) bildete (vgl. Abbildung 8).



**Abbildung 8: Links:** Anwendung des Schisto POC-CCA<sup>®</sup> Schnelltests. Das Probenfeld wird dabei mit 2 Tropfen Urin beträufelt. Die Urinprobe befindet sich in einem handelsüblichen Urinbecher.

**Rechts:** Nahaufnahme eines bereits ausgeführten Schnelltests mit Erklärung der einzelnen Komponenten.

Als Entscheidungshilfe, ob ein positives Testergebnis vorliegt, wurden die G-Scores herangezogen. Das Scoring-System wurde von Casacuberta-Partal et al. aus der Abteilung für Parasitologie der Universität Leiden (Niederlande) entwickelt und erlaubt eine standardisierte Bewertung der visuellen Intensität der T-Bande, welche als stark Untersucherabhängig gilt (vgl. Abbildung 9). Dabei erfolgt eine Graduierung in 10 Stufen (G1 - G10), wobei die Intensität der Bande positiv mit der fäkalen Ei-Last korreliert

(Casacuberta-Partal et al., 2019; Kittur et al., 2016). In dieser Arbeit wurde ein Schnelltestergebnis des Schisto POC-CCA<sup>®</sup> ab einer Einteilung zu G2 ( $\cong$  Trace), gemäß der Herstellerempfehlung und den Angaben in der Fachliteratur als positiv gewertet (vgl. Tabelle 1) (Casacuberta-Partal et al., 2019; *Rapid Medical Diagnostics*, o. J.).

**Tabelle 1:** G-Scores und korrespondierende visuelle Intensität. Entnommen aus Casacuberta-Partal et al. 2019.

G-Score	Visuelle Intensität
G 1	0
G 2	Trace
G 3	Trace
G 4	1+
G 5	1+
G 6	2+
G 7	2+
G 8	3+
G 9	3+
G 10	3+



**Abbildung 9:** Einteilung positiver Schistosomiasis-Schnelltests nach G-Score. Die Einteilung erfolgt in 10 Grade (G1-G10), wobei die visuelle Intensität der roten T-Bande von G1 nach G10 zunimmt.

Es ist anzumerken, dass ein einzelnes Testergebnis laut Hersteller nicht als alleiniges Kriterium für die Diagnosestellung herangezogen werden soll und dies auf der Basis weiterer klinischer oder laborchemischer Befunde erfolgen sollte (*Rapid Medical Diagnostics*, o. J.). Außerdem ist bekannt, dass der verwendete Schnelltest bei Vorliegen

einer Leukozyt- oder Hämaturie falsch positive Ergebnisse liefern kann (Greter et al., 2016; *Rapid Medical Diagnostics*, o. J.). Auch eine bestehende Schwangerschaft kann das Testergebnis mancher Schnelltests verfälschen und zu falsch-positiven Resultaten führen (Greter et al., 2016). Zum Zeitpunkt der Schnelltest-Durchführung erfolgte daher ebenfalls die semiquantitative Eruiierung des Urinstatus mit Hilfe eines Urineststreifentests (Combur<sup>10</sup> Test<sup>®</sup> der Firma Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Deutschland). Der Nachweis von Leukozyten, Erythrozyten und Protein wurde entsprechend der durch den Hersteller vorgegebenen Graduierung (0, 1+, 2+, 3+, 4+) dokumentiert. Alle Teilnehmenden die ein positives Ergebnis im CCA-Urin-Schnelltest (G2 - G10) zeigten, qualifizierten sich für die weitere Diagnostik in Form eines Serologie-Schnelltests, der PCR und ggf. der Stuhl-Mikroskopie(s. Punkt 2.2.3, S.31 und 2.4, S.34).

### **2.2.2 Urin-Mikroskopie**

Da *S. haematobium*-Infektionen mit einer Mikrohämaturie einhergehen können, erfolgte sowohl bei positivem als auch bei negativem CCA-Schnelltestergebnis die Mikroskopie des abgegebenen Urins, sofern Erythrozyten im Urin-Streifentest detektiert wurden. Dies geschah noch am Tag der CCA-Testung, um ein Schlüpfen von Mirazidien aus den Eiern zu vermeiden. War die Urin-Mikroskopie nicht am selben Tag möglich, so wurde der Patient/die Patientin zu einem anderen Zeitpunkt um die erneute Abgabe einer Urin-Probe gebeten, welche dann umgehend mikroskopiert wurde. Für die Mikroskopie wurden 20ml der Urin-Probe in eine Spritze aufgezogen und durch einen Membranfilter (Porengröße 20µm), welcher in eine Spritzenvorsatzhalterung gelegt wurde, gedrückt. Der Membranfilter wurde anschließend mit einer Pinzette auf einen Objektträger aufgebracht, mit einem weiteren Tropfen Urin beträufelt und mit einem Deckglas bedeckt. Anschließend erfolgte die Mikroskopie bei 10-facher Vergrößerung mit systematischer Durchmusterung des Membranfilters.



### 2.2.3 Schistosomiasis-Serologie

Um das Screening zu vervollständigen und die Diagnosesicherheit zu erhöhen, erfolgte im Falle eines positiven CCA-Schnelltest-Ergebnisses die Bestimmung einer Schistosomiasis-Serologie. Unter Berücksichtigung der Herkunft aus einem Hoch- bzw. Mittelprävalenzgebiet wurde davon ausgegangen werden, dass die Kombination von positivem Urin-Schnelltest und positiver Serologie eine hohe Diagnosesicherheit für das tatsächliche Vorliegen einer floriden Schistosomiasis bietet (Chernet et al., 2017; Siqueira et al., 2016).

Vor der Blutentnahme wurde der Patient/die Patientin über das positive CCA-Schnelltest-Ergebnis informiert und darüber aufgeklärt, dass vor der Therapieeinleitung weitere Untersuchungen nötig seien. Die Blutproben (2 braune Serum-Monovetten) wurden über die Tropenmedizinische Abteilung der Missionsärztlichen Klinik Würzburg an das Labor der Infektions- und Tropenmedizin der LMU München zur Serologie-Bestimmung (EIA, ICT IgG-IgM, WB) weitergeleitet bzw. für die später nachfolgende PCR-Untersuchung aufbereitet und konserviert (vgl. Punkt 2.4, S.34). Da der Versicherungsstatus relevant für die Kostenübernahme von serologischer Diagnostik und Therapie war, wurde dieser durch Mitarbeiter der Migrantenmedizin der Tropenmedizinischen Abteilung der Missionsärztlichen Klinik Würzburg eruiert. Sozialversicherte erhielten dabei eine direkte Kostenübernahme, während Versicherte der Krankenkassen zunächst eine Überweisung ihres Hausarztes einholen mussten, um an die Tropenmedizinische Abteilung angebunden werden zu können.

Um Abläufe zu vereinfachen und zu beschleunigen erfolgte im Verlauf die eigenständige serologische Testung, wofür der Schistosoma ICT IgG-IgM (LDBIO Diagnostics, Lyon, Frankreich) ausgewählt wurde. Nach telefonischer Rücksprache wurde bestätigt, dass es sich hierbei um den gleichen Test handelte, der auch vom Münchner Labor verwendet wurde. Die immunchromatografischen Tests (ICT) wurden gemäß den Herstellerangaben mit 30µl Serum und 3 Tropfen bereitgestellter Pufferlösung benetzt. Nach 20-30 Minuten Wartezeit konnte das Testergebnis abgelesen werden. In Analogie zu den Schisto POC-CCA®-Schnelltests zeigte eine blaue Kontrollbande (C) einen

funktionierenden Test an und eine rote T-Bande (T) zeigte ein positives Ergebnis an (vgl. Abbildung 16).

Bestätigte sich eine positive Schistosomiasis-Serologie, schritten die Teilnehmenden im weiteren Studienverlauf fort, welcher die medikamentöse Intervention vorsah. Bei negativem serologischem Befund wurde die Diagnose vorläufig ausgeschlossen und das zuvor erhaltene Resultat im Urin-Schnelltest als falsch-positiv gewertet. Sollte sich nachträglich ein Nachweis von Schistosomen-DNA in der qPCR (vgl. Punkt 2.3, S.32) ergeben, wurde der Diagnoseausschluss wieder revidiert und eine Therapie wurde eingeleitet.

#### **2.2.4 Stuhl-Mikroskopie**

Alle Teilnehmenden, welche einen G-Score von  $\geq 4$  ( $\triangleq$  Intensität 1+ nach visueller Graduierung) oder höher im Urin-Schnelltest zeigten, wurden zum Zweck der Diagnosesicherung (vgl. Punkt 2.3) um eine Abgabe einer Stuhlprobe zur Mikroskopie gebeten. Ebenfalls wurde der Stuhl von all jenen Teilnehmenden mikroskopiert, welche zwar einen G-Score  $< 4$  zeigten, jedoch einen positiven Serologie-Befund aufwiesen. Die Konservierung der Proben erfolgte durch das Versetzen dieser mit Formalin-Lösung, die Aufbereitung erfolgte mittels des FPC<sup>®</sup> Fecal Parasite Concentrator Kit (Evergreen Scientific, Los Angeles, USA) gemäß den Schritten in der Gebrauchsanweisung. Anschließend erfolgte die Mikroskopie bei 10-facher Vergrößerung.

### **2.3 Sicherung der Diagnose und Intervention**

Laut der aktuell gültigen Leitlinien der DTG/AWMF und den Herstellerangaben der verwendeten CCA-Urin-Schnelltests ist ein einzelner CCA-Nachweis nicht ausreichend, um die Diagnose einer floriden Schistosomiasis zu belegen, weshalb ergänzende Untersuchungen empfohlen werden. Somit mussten Kriterien definiert werden, welche eine Infektion ausreichend wahrscheinlich machen bzw. sichern und eine Therapieeinleitung rechtfertigten.

Folgende Konstellationen wurden als Kriterien für die Therapieindikation gewertet\*:

- Positiver CCA Urin-Schnelltest + Ei-Nachweis in Urin- oder Stuhlmikroskopie
- Positiver CCA Urin-Schnelltest + positiver Serologie-Befund (ICT)
- Positiver CCA Urin-Schnelltest + Nachweis von freier Schistosomen-DNA durch die PCR

\*Es ist anzumerken, dass nur diejenigen Teilnehmenden weiteren diagnostischen Schritten zugeführt wurden, welche auch ein positives Ergebnis im CCA-Urin-Schnelltest zeigten. Personen, mit einem hier möglicherweise falsch-negativen Befund betraf dies somit nicht. Eine Ausnahme bildete der Nachweis einer Erythrozyturie, was unabhängig vom CCA-Urin-Schnelltestergebnis eine Urin-Mikroskopie nach sich zog (vgl. Punkt 2.2.2, S. 30).

Als Goldstandard zur Diagnosesicherung gilt nach wie vor die Stuhl-Mikroskopie (vgl. Punkt 1.6.1, S.13), jedoch weist diese zum Teil erhebliche Schwächen hinsichtlich der Sensitivität auf. Ein positiver Ei-Nachweis wurde somit zur Sicherung der Diagnose als ausreichend angesehen, jedoch konnte eine Schistosomiasis bei ausbleibendem Ei-Nachweis nicht sicher ausgeschlossen werden. Um eine aktive Infektion zu belegen, wurde für diese Studie die Detektion freier Schistosomen-DNA mittels PCR als gleichwertig verlässliche Nachweismethode und darüber hinaus als Referenzstandard für die Evaluation der anderen Testverfahren angesehen. Diese Entscheidung beruht auf der Tatsache, dass die PCR als bewährtes hoch-sensitives und -spezifisches Verfahren zur Detektion von Schistosomen-DNA gilt (vgl. Punkt 1.6.4, S.16). Zu beachten ist, dass anhand dieses Verfahrens keine Differenzierung möglich ist, ob die detektierte DNA von lebenden Schistosomen oder deren Zerfallsprodukten stammt, wie sie beispielsweise nach einer bereits erfolgten Therapie auftreten könnten. Durch die Erklärung der Teilnehmenden, noch nicht zuvor in Deutschland mit Praziquantel behandelt worden zu sein, wurde diese Eventualität (unter Voraussetzung einer wissentlich wahrheitsgemäßen Angabe) weitestgehend ausgeräumt. Die Diagnosestellung wurde rückwirkend als definitiv gesichert angesehen, wenn die Menge an freier Schistosomen-DNA nach der Therapie deutlich anstieg und im Verlauf wieder abfiel, da dies auf den Zerfall von im Organismus befindlichen Parasiten zurückzuführen ist (vgl. Punkt 1.7, S.17).

Waren die genannten Kriterien erfüllt, erfolgte die gewichtsadaptierte (40mg/kg Körpergewicht/Tag), 3-tägige Gabe von Praziquantel. Die Therapiekosten wurden je nach Versicherungsstatus von der Sozialversicherung oder der Krankenkasse übernommen. Zuvor wurden die Teilnehmenden darüber informiert, wie das Medikament einzunehmen ist und es wurde auf die möglichen Nebenwirkungen wie Übelkeit, Erbrechen, Kopf- und Bauchschmerzen hingewiesen. Anschließend wurden sie erneut über den weiteren Studienablauf informiert und aufgeklärt und erhielten im Falle einer freiwilligen Teilnahme ihre Termine für die nachfolgenden Blutentnahmen.

## **2.4 Follow-up und Analyse der dabei gewonnenen Proben**

### **2.4.1 Probenasservierung**

Die entnommenen Blutproben wurden zunächst in zwei Durchläufen zentrifugiert. Der erste Durchlauf erfolgte bei 3000 rpm und 4°C für 10 Minuten. Der Überstand wurde abpipettiert und in ein 15ml Zentrifugenröhrchen überführt. Anschließend erfolgte eine weitere Zentrifugation bei 3000 g und 4°C für 15 Minuten. Der Überstand wurde erneut abpipettiert und in ein 2ml Kryoröhrchen, welches zur eindeutigen Identifikation beschriftet war, überführt. Die mit Serum befüllten Kryoröhrchen wurden bis zur weiteren Aufbereitung bei -20°C eingefroren.

### **2.4.2 Extraktion der freien Schistosomen-DNA aus Serum**

In Vorbereitung zur molekularbiologischen Analyse erfolgte zunächst die Schistosomen-DNA-Extraktion aus den asservierten Serum-Proben. Hierfür kam das QIAamp® Circulating Nucleid Acid Kit (Qiagen, Hilden, Deutschland) zur Isolation freizirkulierender DNA zum Einsatz. Die einzelnen Arbeitsschritte wurden dabei wie in der Herstelleranleitung beschrieben durchgeführt. Im Anschluss wurden die Proben bis zur Analyse mittels Real-Time PCR bei -20°C eingefroren.

### **2.4.3 Detektion und Quantifizierung von Schistosomen-DNA mittels qPCR**

Alle Serum-Proben wurden unabhängig von den vorherigen Testergebnissen, also auch bei einer negativen Serologie und/oder Urin-Mikroskopie der molekularbiologischen Analyse unterzogen (vgl. Punkt 2.3, S. 32). Für die Detektion und Bestimmung freier

Schistosomen-DNA wurde das QuantiFast® Pathogen PCR + IC Kit (400) der Firma QIAGEN verwendet. Jede Probe wurde sowohl auf das Vorliegen von *S. mansoni*- als auch *S. haematobium*-DNA untersucht. Die Primer-Sequenzen für die Detektion von Schistosomen-DNA wurden von Eurofins Genomics, Ebersberg, Deutschland synthetisiert.

Für die Detektion von *S. mansoni*-DNA waren die Sequenzen:

Sm FW 5'-CCG ACC AAC CGT TCT ATG A-3'

Sm RV 5' CAC GC TCT CG C AAA TAA TCT AAA-3'

Sm probe 5'-[FAM] TCG TTG TAT CTC CGA AAC CAC TGG ACG [(BHQ1)]-3'

Die *S. haematobium*-Primer-Sequenzen lauteten:

Sh FW 5'-GAT CTC ACC TAT CAG ACG AAA C-3'

Sh RV 5'-TCA CAA CGA TAC GAC CAA C-3'

Sh probe 5'-[FAM] TGT TGG AAG TGC CTG TTT CGC AA [(BHQ1)]-3'

Die Proben wurden getrennt auf die beiden Erreger untersucht. Alle Reagenzien und benötigten Materialien wurden zunächst ordnungsgemäß bereitgestellt (vgl. Tabelle 2). Die benötigte Anzahl an PCR-Röhrchen wurde dabei auf einer 48-Well Platte platziert. Pro Röhrchen wurde ein Standardansatz bestehend aus 5µl Pathogen MasterMix, 2,5 µl Primer-und-Probe (≙Sonde) -Mix (PP-Mix), 2,5µl ICA, 0,5µl ROX, 9,5µl destilliertem Wasser und 2,5µl IPC-DNA (nicht bei Negativkontrolle, s.u.) benötigt (Gesamtvolumen: 22,5µl). Dieser wurde in die PCR-Röhrchen pipettiert und mit weiteren 2,5µl der zuvor extrahierten DNA-Probe (s. Punkt 2.4.2, S.34) versetzt, so dass jedes PCR-Röhrchen insgesamt 25µl Volumen enthielt. Der PP-Mix wurde aus 12,5µl je Primer, 7,5µl TaqMan-Sonde (Reporterfluoreszenz-Farbstoff: FAM) und 217,5µl destilliertem Wasser hergestellt. Weiterhin wurden bei jedem Durchgang zwei Röhrchen für die Negativkontrolle wie folgt befüllt: Standardansatz (hier ohne IPC-DNA und ohne DNA-Probe; Volumen demnach 20µl) + 5µl destilliertem Wasser (zwecks Auffüllen auf 25µl). Für die Positivkontrolle wurden weitere zwei Röhrchen mit dem Standardansatz befüllt und anstelle von 2,5µl DNA-Probe mit 2,5µl destillierten Wasser

versetzt. Ein weiteres Röhrchen enthielt eine mit 2,5µl Schistosomen-DNA (*S. mansoni* bzw. *S. haematobium*) versetzte Probe, welche ebenfalls zur Kontrolle diente.

**Tabelle 2:** Zusammensetzung von Standardansatz, Negativkontrolle und Positivkontrolle.

	<b>Standardansatz</b>	<b>Negativkontrolle</b>	<b>Positivkontrolle</b>
	5µl Pathogen MasterMix	5µl Pathogen MasterMix	5µl Pathogen MasterMix
	2,5 µl Primer-und-Probe (≙ Sonde)-Mix (PP-Mix)	2,5 µl Primer-und-Probe (≙ Sonde)-Mix (PP-Mix)	2,5 µl Primer-und-Probe (≙ Sonde)-Mix (PP-Mix)
	2,5µl ICA	2,5µl ICA	2,5µl ICA
	0,5µl ROX	0,5µl ROX	0,5µl ROX
	9,5µl Aqua dest.	9,5µl Aqua dest.	9,5µl Aqua dest.
	2,5µl IPC-DNA		2,5µl IPC-DNA
Zusatz	2,5µl DNA-Probe	5µl Aqua dest.	2,5µl Aqua dest.
Gesamtvolumen	25 µl	25µl	25µl

Nach der Befüllung aller für den jeweiligen Durchgang benötigten PCR-Röhrchen, wurden diese im StepOne real-time PCR-System (Applied Biosystems) zur nachfolgenden Analyse platziert. Dabei wurden folgende Einstellungen vorgenommen: Initiales Aufheizen auf 95°C für 5 Minuten, gefolgt von 40 Einzelzyklen, jeweils für 15s bei 95°C und 30s bei 60°C. Die DNA wurde durch die Betrachtung der  $C_t$ -Werte (*engl.* threshold cycle) detektiert, welche von dem Gerät angezeigt wurden. Der  $C_t$ -Wert gibt die Zahl desjenigen Zyklus an, ab dem die amplifizierten DNA-Mengen detektiert werden können. Je größer die Ausgangsmenge an DNA in einer Probe ist, desto früher ist eine detektierbare DNA-Menge amplifiziert worden und desto kleiner ist der  $C_t$ -Wert. Eine Probe wurde als positiv für das Vorliegen von Schistosomen-DNA gewertet, wenn innerhalb von 35 Zyklen ( $C_t < 36$ ) eine DNA-Amplifikation stattfand. Demnach wird ein  $C_t$ -Wert von 36 in dieser Arbeit nachfolgend als Schwellenwert bezeichnet. Die maximale Zyklusanzahl betrug 40 ( $C_t = 40$ ), weshalb dies in dieser Arbeit im Folgenden als Detektionsgrenze bezeichnet wird.

Aus Zwecken der Anschaulichkeit bzgl. der Erstellung graphischer Abbildung wurde an einigen Stellen der reziproke  $C_t$ -Wert verwendet ( $= \frac{1}{C_t} = C_t^{-1}$ ).

## **2.5 Datenmanagement**

### **2.5.1 Zusätzliche erhobene Daten**

Neben den Daten, welche aus der Analyse der oben genannten Biomaterialien erhoben wurden, erfolgte die Erfassung bestimmter personenbezogener Daten wie dem Alter, dem Geschlecht, dem Herkunftsland und der Aufenthaltsdauer in den Würzburger Gemeinschaftsunterkünften. Alter, Geschlecht und Herkunftsland wurden dabei durch die Angabe der Teilnehmenden ermittelt und mit bereits hinterlegten Dokumentationen (z.B. durch bereitgestellte Bewohnerlisten) abgeglichen. Anhand dieser Listen konnte auch die Gesamtzahl der Bewohnenden ermittelt werden, welche die Einschlusskriterien grundsätzlich erfüllten. Die Bestimmung der Aufenthaltsdauer in der Würzburger GU erfolgte anhand der ersten Eintragung in den dort genutzten medizinischen Dokumentationssystemen. Eine quantitative Bestimmung der Aufenthaltsdauer in anderen Gemeinschaftsunterkünften Deutschlands oder Europas war aufgrund fehlender bzw. unzugänglicher Informationen nicht möglich.

### **2.5.2 Datenschutz**

Die Erfassung der Daten (Name, Geburtsdatum, Wohnort, Geschlecht, Herkunftsland, Testergebnis) erfolgte zunächst durch die Studienmitarbeiter zum Zeitpunkt der Einwilligung des Teilnehmers/der Teilnehmerin. Eine Anonymisierung blieb aus und es wurde jedem Probanden eine Nummer zum Zweck der Zuordnung zugewiesen. Die Möglichkeit der Zuordnung blieb nur jenen Personen vorbehalten, welche unmittelbar an der Durchführung der Studie beteiligt waren. Zugang zu den Daten hatte ausschließlich das an der Gewinnung und Analyse der gewonnen Daten beteiligte Studienteam.

Die Einwilligungserklärung, sowie die separat erstellte Namensliste mit zugeordneter Nummer werden unter Verschluss gehalten und gelangen nicht an die Öffentlichkeit. Die Einwilligung zur Teilnahme an der Studie konnte und kann jederzeit widerrufen werden. In diesem Fall werden die Daten aus der Datenbank gelöscht und vorhandene Proben vernichtet.

Die erhobenen Daten aus den Screening-Ergebnissen, der Behandlung und der nachfolgenden Laboranalyse wurden digitalisiert und in MS<sup>®</sup> Excel eingetragen. Dabei wurden sie so nummeriert, dass sie anhand der unter Verschluss gehaltenen, nicht-digitalisierten Namensliste einer bestimmten Person zugeordnet werden können. Datenübermittlungen erfolgten durch die direkte Weitergabe dieser Medien oder über verschlüsselte Internetverbindungen, beispielsweise per E-Mail und ausschließlich an Mitarbeiter, die an der Studie beteiligt waren. Die Weitergabe von Daten erfolgte zum Zweck der Datenanalyse oder für eine Publikation in der Fachliteratur.

Im Falle eines Widerrufs werden die Daten umgehend gelöscht und die Proben vernichtet. Eine Weiterverwendung pseudonymisierter Daten oder pseudonymisierter/anonymisierter Proben erfolgt nicht bzw. nur mit ausdrücklicher Zustimmung des Teilnehmers/der Teilnehmerin zum Zeitpunkt des Widerrufs.

Die Archivierung nach Studienende erfolgt durch das Missionsärztliche Institut Würzburg. Eine Vernichtung der erhobenen Daten erfolgt nach 10 Jahren in anonymisierter Form. Die verbliebenen Biomaterialien werden nach 5 Jahren vernichtet.

### **2.5.3 Datenanalyse**

Die digitale Dokumentation der Daten erfolgte mit den Programmen MS<sup>®</sup> Word und MS<sup>®</sup> Excel für Microsoft 365 (Microsoft, Redmond, USA), jeweils in der aktuellen Version.

Zur Erstellung von Grafiken und der Datenanalyse wurden MS<sup>®</sup> Excel und MS<sup>®</sup> PowerPoint für Microsoft 365 (Microsoft, Redmond, USA), die Statistik- und Analysesoftware OriginPro 2020 (OriginLab Corporation, Northampton, USA), sowie die freizugängliche Software R (v4.0.2) verwendet.

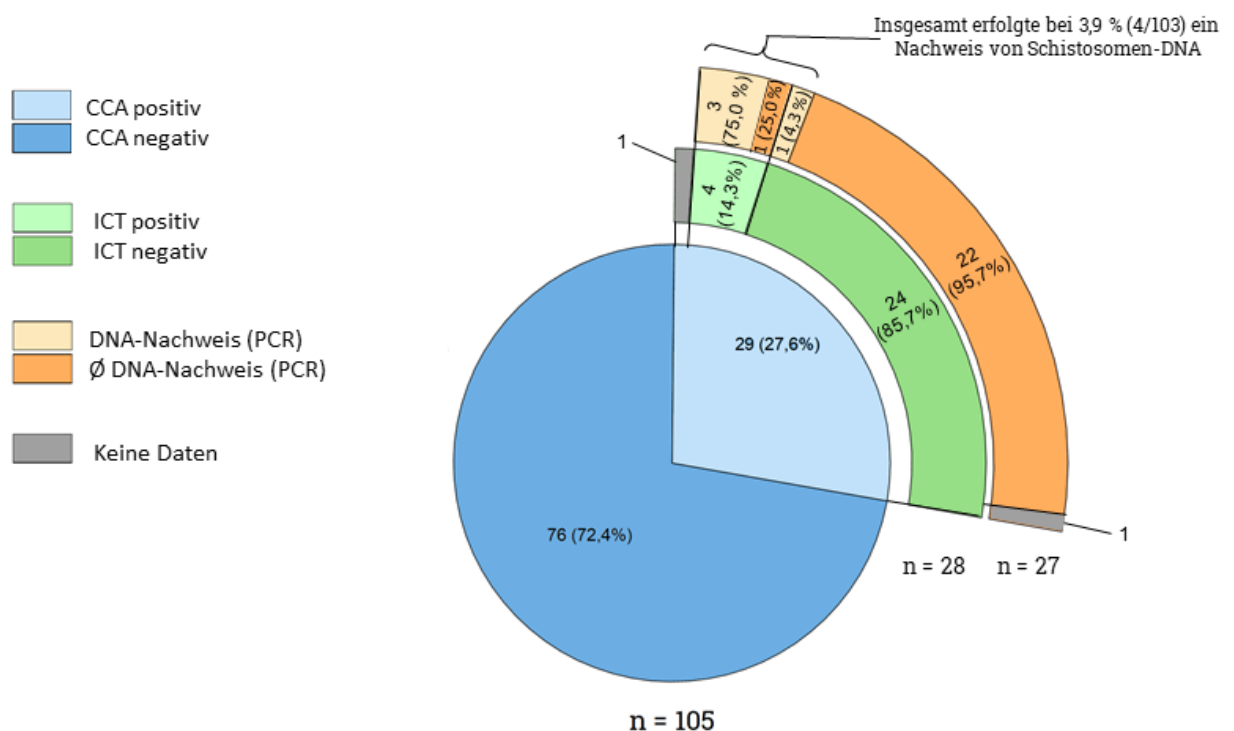
Die Niederschrift dieser Arbeit erfolgte mit MS<sup>®</sup> Word für Microsoft 365 (Microsoft, Redmond, USA).



### 3 ERGEBNISSE

#### 3.1 Übersicht

Um den Lesenden einen besseren Überblick zu verschaffen und den nachfolgenden Ergebnisteil verständlicher zu strukturieren, werden an dieser Stelle die Kernresultate der CCA-, ICT- und PCR-Diagnostik in kompakter Form präsentiert (s. Abbildung 10). Die detaillierte Bearbeitung dieses Teils der Arbeit findet sich in den nachfolgenden Unterpunkten 3.2 (S.40) und 3.3 (S.53).



**Abbildung 10:** Übersicht über die Ergebnisse des Screenings unter Einbezug der verschiedenen angewandten Testverfahren

Von insgesamt 120 Bewohnern und Bewohnerinnen der Gemeinschaftsunterkünfte Würzburgs, welche im Zeitraum von März 2020 bis August 2020 die Einschlusskriterien erfüllten, konnten 105 in die Studie eingeschlossen und auf das Vorliegen einer Schistosomen-Infektion gescreent werden. Unter diesen ergab sich bei 29 (27,6 %) ein positiver CCA-Schnelltest, so dass bei dieser Gruppe weitere diagnostische Maßnahmen eingeleitet wurden. Eine (1) Person stellte hierfür keine Blutprobe für die ICT-Diagnostik

---

bereit. Bei 4 der verbliebenen 28 CCA-Positiven (14,3 %) wurden Schistosomen-Antikörper durch den ICT nachgewiesen, woraufhin - den Diagnosesicherungs-Kriterien entsprechend - die Therapie mittels Praziquantel erfolgte. Die übrigen 24/28 (85,7%) CCA-Positiven zeigten einen negativen ICT. Die nachfolgende molekularbiologische Analyse (PCR) erfolgte bei insgesamt 27 Serum-Proben, da eine der vorherigen Proben nicht mehr zu Verfügung stand. Von diesen 27 Proben konnte bei 3/4 (75,0 %) der Personen mit positivem CCA-Nachweis und zusätzlich positivem ICT ein Nachweis von Schistosomen-DNA gelingen. Eine (1/4; 25,0 %) dieser Personen zeigte trotz positivem ICT keinen DNA-Nachweis in der PCR-Diagnostik. In der Personengruppe mit positivem CCA-Test, aber negativem ICT ergab sich bei 22/23 (95,7%) auch in der PCR-Diagnostik kein Schistosomen-Nachweis. Bei einer (1/23; 4,3 %) weiteren Person gelang ein DNA-Nachweis bei zuvor positivem CCA-Test, aber negativ ausgefallenem ICT, so dass diese ebenfalls im Anschluss therapiert wurde. Insgesamt zeigte sich, dass von den initial 105 eingeschlossenen Personen bei 4/103 (3,9 %) Personen ein DNA-Nachweis erfolgen konnte (*Anmerkung*: Von zwei Personen stand keine Serum-Probe zur Verfügung, weshalb diese nicht in die Gesamtberechnung mit eingehen).

## **3.2 Analyse der Screening-Befunde und Merkmale der Studienpopulation**

### **3.2.1 CCA-Nachweis mittels Urin-Schnelltests**

Von den 105 gescreenten Teilnehmenden, gelang bei 29 ein positiver CCA-Nachweis, was einem Anteil von 27,6 % entspricht. Bei den restlichen 76 Gescreenten (72,4%) zeigte sich keine T-Bande im entsprechenden Testfeld, weshalb das Testergebnis als negativ zu werten war. Weiterhin wurde bei allen positiven CCA-Schnelltests eine Einteilung nach der Intensität der Testbande unter Zuhilfenahme der G-Scores vorgenommen. Mögliche Ausprägungen werden beispielhaft in Abbildung 11 dargestellt.



**Abbildung 11:** Beispielhafte Befunde des Schisto POC-CCA<sup>®</sup> Urin-Schnelltests der Firma Rapid Diagnostics (C = Kontrollbande, T = Trace). **Linkes Bild:** Links: Negatives Testergebnis. **Mitte und rechts:** Sichtbare Banden im T-Bereich sprechen für ein positives Testergebnis. Unter Hinzuziehen des G-Scores wurde hier eine Einstufung in G5 (Mitte) und G4 (rechts) vorgenommen. **Rechtes Bild:** Deutlich sichtbare T-Bande mit Graduierung nach G9.

Die Einteilung nach einzelnen G-Scores (G2 - G10) ergab, dass über die Hälfte (62,1 %) aller positiven Schnelltests einem G-Score von 2 (34,5 %; 10/29) oder 3 (27,6 %; 8/29) entsprachen und damit die visuelle Intensität eines Trace-Befundes widerspiegeln. Die Verteilung der übrigen visuellen Intensitäten betrug 20,7 % bei 1+ ( $\cong$  G4 und G5), 10,3 % bei 2+ ( $\cong$  G6 und G7) und 6,9 % bei 3+ ( $\cong$  G8, G9 und G10) (s. Tabelle 3).

**Tabelle 3:** Verteilung der G-Scores und visuellen Intensität der Testbanden der positiven CCA-Schnelltests (n = 29).

G-Score	G2	G3	G4	G5	G6	G7	G8	G9	G10
Anzahl	10	8	3	3	1	2	1	1	0
(Anteil an n = 29 [%])	(34,5 %)	(27,6 %)	(10,35 %)	(10,35 %)	(3,4 %)	(6,9 %)	(3,45 %)	(3,45 %)	(0 %)
Visuelle Intensität	Trace		1+		2+		3+		
Anzahl	18		6		3		2		
(Anteil an n = 29 [%])	(62,1 %)		(20,7%)		(10,3 %)		(6,9 %)		

### 3.2.1.1 Einfluss der Befunde des Urinstreifentests

Die Urinproben aller 105 Teilnehmenden wurden neben der CCA-Testung ebenfalls auf das Vorliegen auffälliger Urinbefunde mit Hilfe eines Urinstreifentests untersucht. Im Speziellen wurde dabei die semiquantitative Menge an Leukozyten, Erythrozyten und Protein bestimmt.

Die Auswertung ergab, dass 69,5 % (73/105) der Gescreenten eine Leukozyturie, 11,4 % (12/105) eine Erythrozyturie und 8,6 % (9/105) eine Proteinurie aufwiesen. Von den 73 Personen mit einer Leukozyturie zeigten 68,5 % (50/73) ein negatives Ergebnis im CCA-Schnelltest, während 31,5 % (23/73) dort ein positives Ergebnis boten (s. Tabelle 4). Von denjenigen, die eine Erythrozyturie aufwiesen, hatten 75 % (9/12) ein negatives CCA-Schnelltest-Ergebnis. Bei 25 % (3/12) konnte hingegen ein CCA-Nachweis erfolgen (s. Tabelle 5). Die Teilnehmenden, welche eine Proteinurie aufwiesen, zeigten zu 44,4 % (4/9) einen negativen CCA-Befund, bei 55,6 % (5/9) fiel der Test positiv aus (s. Tabelle 6).

Von den 29 CCA-positiv Getesteten zeigten 79,3 % (23/29) eine Leukozyturie, 10,3 % (3/29) eine Erythrozyturie und 17,2 % (5/29) eine Proteinurie.

Weiterhin wurde untersucht, welcher ein Zusammenhang zwischen den Befunden der Urinstreifentests und einem positiven CCA-Nachweis besteht. Da es sich hierbei um nominalskalierte Variablen handelt (CCA-positiv / CCA-negativ bzw. Leukozyturie / keine Leukozyturie) wurde dafür der Chi-Quadrat-Test ( $\chi^2$ -Test) verwendet. Die Stärke des Zusammenhangs wurde anschließend durch den korrigierten Kontingenzkoeffizient nach Pearson ( $K_{\text{Korr.}}$ ) überprüft. Dazu wurden zunächst die beobachteten Häufigkeiten ( $h_B$ ) aus Urinstreifentest und CCA-Schnelltest in eine Vierfeldertafel übertragen und gegenübergestellt. Aus diesen wurden anschließend die erwarteten Häufigkeiten ( $h_E$ ) berechnet (s. Tabelle 4).

**Tabelle 4:** Vierfeldertafeln mit Verteilung von CCA-Befunden und Leukozyturie. *Links:* Beobachtete Häufigkeit ( $h_B$ ). *Rechts:* Erwartete Häufigkeit ( $h_E$ ).

$h_B$	Leukozyturie	keine Leukozyturie		$h_E$	Leukozyturie	keine Leukozyturie	
CCA-positiv	23 (a)	6 (b)	29	CCA-positiv	20,16 (a')	8,84 (b')	29
CCA-negativ	50 (c)	26 (d)	76	CCA-negativ	52,84 (c')	23,16 (d')	76
	73	32	105		73	32	105

$$\text{Beispielrechnung: } a' = \frac{(a+c)(a+b)}{a+b+c+d} = \frac{(23+50)(23+6)}{23+6+50+26} = \frac{2117}{105} = 20,16$$

Je größer die Abweichungen zwischen beobachteten und erwarteten Häufigkeiten sind, desto eher sollte ein Zusammenhang zwischen den Variablen bestehen. Schon bei der Betrachtung der Vierfeldertafeln fällt auf, dass die erwarteten Häufigkeiten nur geringfügig von den beobachteten Häufigkeiten abweichen, was nahelegt, dass kein Zusammenhang zwischen CCA-Ergebnis und Leukozyturie besteht. Um diese Vermutung zu prüfen, wurden folgende Hypothesen formuliert:

$H_0$ : Das Ergebnis des CCA-Schnelltests wird von einer Leukozyturie nicht beeinflusst.

$H_1$ : Eine Leukozyturie beeinflusst das CCA-Testergebnis.

Das Signifikanzniveau beträgt  $\alpha = 0,05$ . Die Berechnung der Prüfgröße erfolgte mit folgender Formel:

$$\chi^2 = \sum \frac{(\text{beobachtete Häufigkeit} - \text{erwartete Häufigkeit})^2}{\text{erwartete Häufigkeit}}$$

$$= 0,40 + 0,91 + 0,15 + 0,35 = \underline{1,81} ; (p = 0,1784)$$

Die Ergebnisse wurden mit Hilfe des Programms R auf Korrektheit überprüft. Die Interpretation erfolgte anhand einer Chi<sup>2</sup>-Verteilungstabelle. Da  $\chi^2 < 3,84$  bei  $\alpha = 0,05$  und einem Freiheitsgrad von 1 ( $FG = (\text{Spaltenanzahl} - 1) \cdot (\text{Zeilenanzahl} - 1)$ ), sowie  $p > 0,05$  kann die Nullhypothese nicht verworfen werden, wodurch angenommen wird, dass kein statistisch signifikanter Unterschied zwischen beobachteten und erwarteten Werten besteht.

Zur Berechnung des korrigierten Kontingenzkoeffizienten nach Pearson wurde folgende Formel verwendet:

$$K_{Korr.} = \sqrt{\left(\frac{m}{m-1}\right) \cdot \left(\frac{\chi^2}{\chi^2+n}\right)} = \sqrt{\left(\frac{2}{2-1}\right) \cdot \left(\frac{1,81^2}{1,81^2 + 105}\right)} = \underline{0,18}$$

( $m = \min\{\text{Spaltenanzahl}, \text{Zeilenanzahl}\}$ , hier: 2)

Bei stärkstem Zusammenhang der untersuchten Variablen wäre ein korrigierter Kontingenzkoeffizient von 1 zu erwarten, weshalb der errechnete Wert von  $K_{Korr.} = 0,18$

darauf hindeutet, dass die untersuchten Variablen unabhängig voneinander sind und das Ergebnis des CCA-Schnelltests nicht von einer Leukozyturie beeinflusst wird.

Im Falle der Erythrozyturie und der Proteinurie konnte keine Überprüfung eines statistischen Zusammenhangs mittels Chi-Quadrat-Test erfolgen, da hier erwartete Häufigkeiten  $< 5$  auftraten. Die Anwendung des Chi-Quadrat-Tests ist nur zulässig, sofern die erwartete Häufigkeit in einer Vierfeldertafel nicht kleiner als 5 ist (vgl. Tabelle 5 und 6).

**Tabelle 5:** Verteilung von CCA-Befunden und Erythrozyturie. *Links:* Beobachtete Häufigkeit. *Rechts:* Erwartete Häufigkeit.

$h_B$	Erythrozyturie	keine Erythrozyturie		$h_E$	Erythrozyturie	keine Erythrozyturie	
CCA-positiv	3	26	29	CCA-positiv	3,31	25,69	29
CCA-negativ	9	67	76	CCA-negativ	8,69	67,31	76
	12	93	105		12	93	105

**Tabelle 6:** Verteilung von CCA-Befunden und Erythrozyturie. *Links:* Beobachtete Werte. *Rechts:* Erwartete Häufigkeit.

$h_B$	Proteinurie	keine Proteinurie		$h_E$	Proteinurie	keine Proteinurie	
CCA-positiv	5	24	29	CCA-positiv	2,49	26,51	29
CCA-negativ	4	72	76	CCA-negativ	6,51	69,49	76
	9	96	105		9	96	105

Um dennoch auf einen bestehenden Zusammenhang zu testen wurde der exakte Test nach Fisher mit Hilfe von R angewandt. Die Hypothesen wurden analog zur obigen Formulierung verfasst:

$H_0$ : Der CCA-Schnelltest wird von einer Erythrozyturie bzw. Proteinurie nicht beeinflusst.

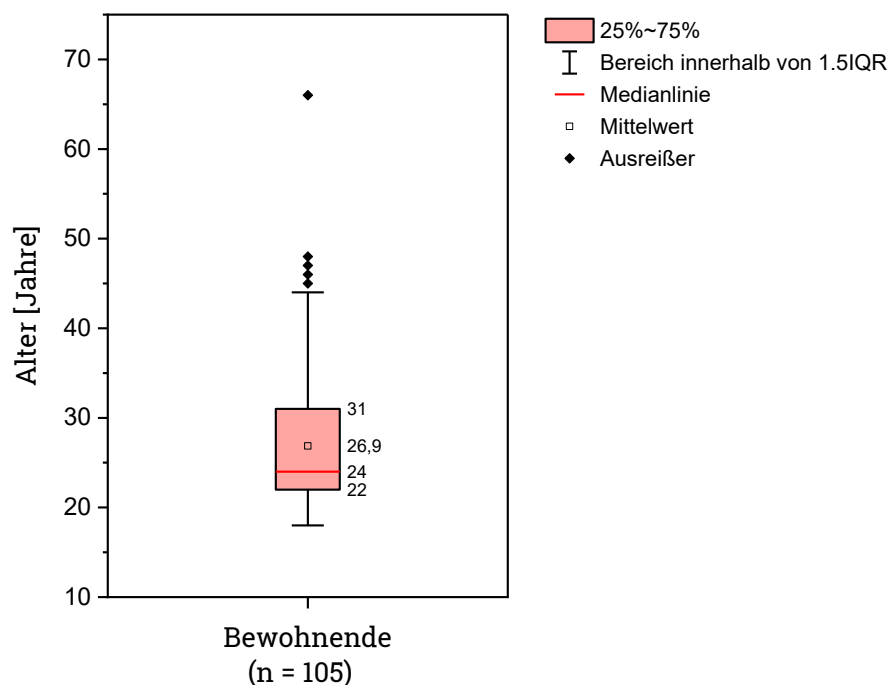
$H_1$ : Eine Erythrozyturie bzw. Proteinurie beeinflusst das CCA-Testergebnis.

Für den Zusammenhang des CCA-Testergebnisses mit einer Erythrozyturie ergab sich ein  $p$ -Wert von 1, bei der Proteinurie ergab sich ein  $p$ -Wert von 0,1108. Bei einem Signifikanzniveau von  $\alpha = 0,05$  wird dieses in beiden Fällen überschritten, weshalb die Alternativhypothesen nicht angenommen werden können und die Nullhypothese

beibehalten wird. Es kann somit nicht angenommen werden, dass ein Zusammenhang zwischen den Variablen besteht.

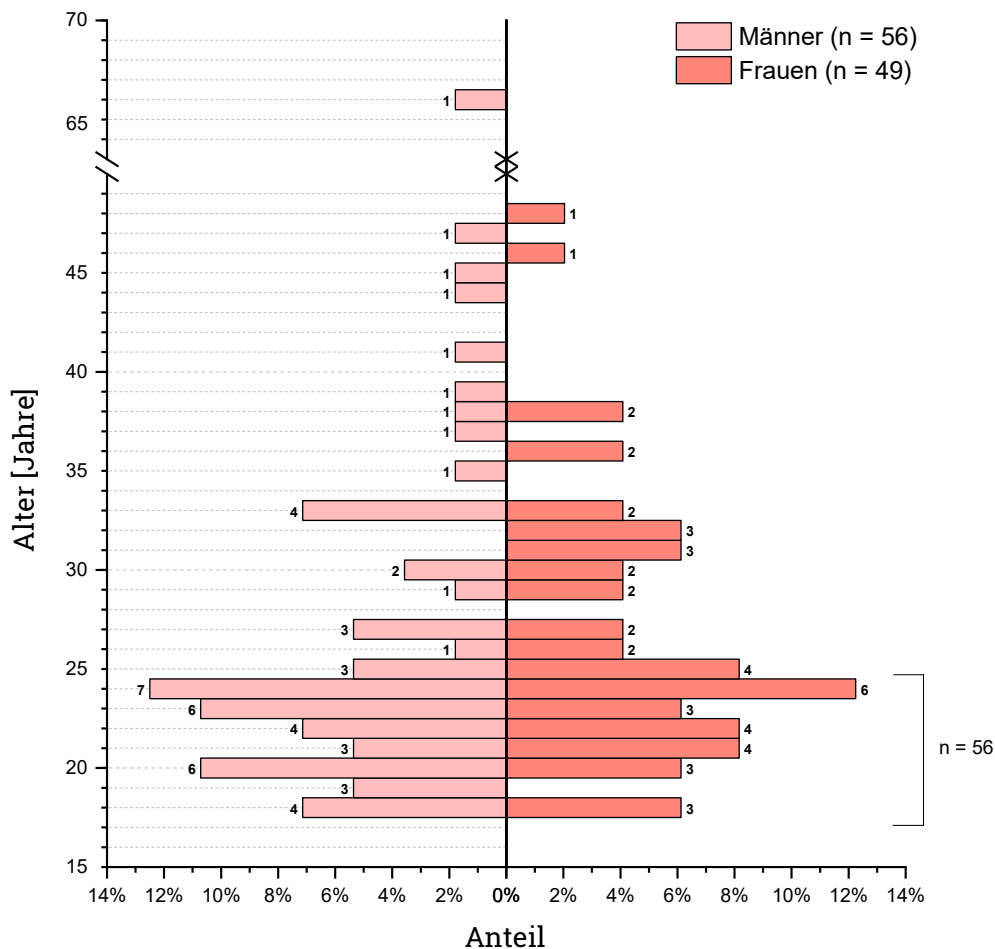
### 3.2.1.2 Einfluss von Alter und Geschlecht

Das mittlere Alter der Gescreenten betrug über beide Geschlechter hinweg 26,9 Jahre (SD:  $\pm 8$ ), wobei die jüngsten Teilnehmenden ein Alter von 18 Jahren und der/die älteste Teilnehmende ein Alter von 66 Jahren hatte. Der Medianwert liegt bei 24 Jahren. Die Hälfte (50%) aller teilgenommenen Bewohnenden hatte zum Zeitpunkt des Screenings ein Alter zwischen 22 und 31 Jahren (vgl. Abbildung 12).



**Abbildung 12:** Altersverteilung der gescreenten Bewohnenden über beide Geschlechter.

Von den 105 gescreenten Personen waren zum Zeitpunkt der Datenerhebung 56 Männer (53,3 %) und 49 Frauen (46,7 %). Die nachfolgende Grafik zeigt die prozentuale und absolute Verteilung der gescreenten Bewohnenden nach Geschlecht und Alter. Es zeigt sich, dass 53,3 % (56/105) der Teilnehmenden jünger als 25 Jahre waren (s. Abbildung 13).



**Abbildung 13:** Prozentuale und absolute Verteilung von Geschlecht und Alter der gescreenten Bewohnenden.

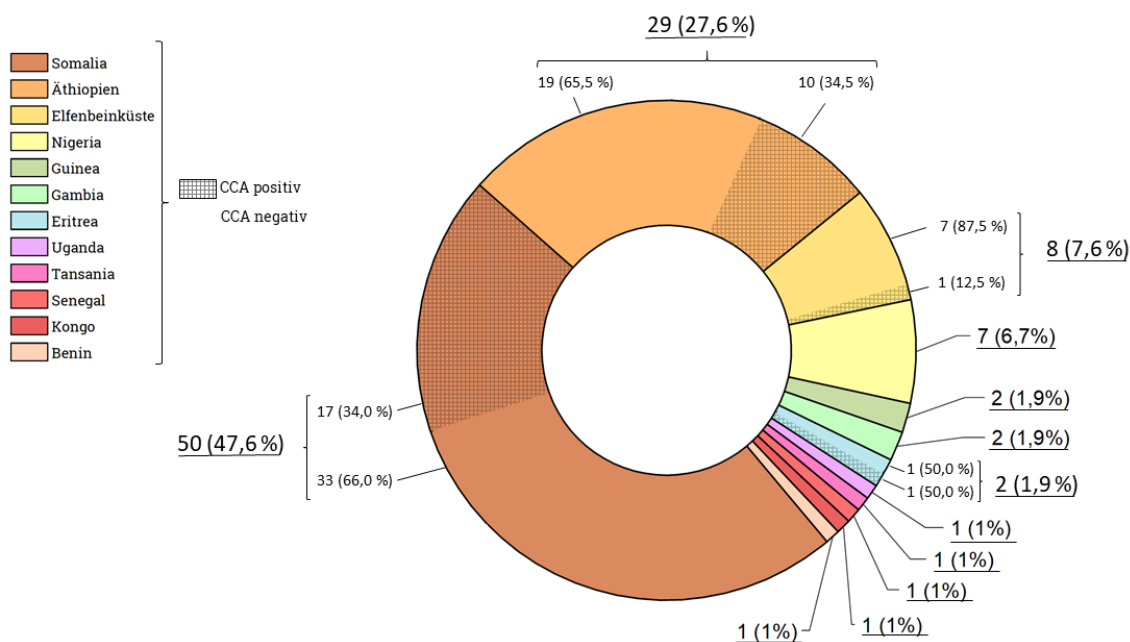
Mit Hilfe des Programms R wurde sowohl das Alter als auch das Geschlecht mit dem Ergebnis des CCA-Schnelltest korreliert, um einen möglicherweise bestehenden Zusammenhang der Variablen zu erkennen. Beide Korrelationen lieferten  $p$ -Werte  $> 0,05$  (Alter:  $p = 0,4307$  ; Geschlecht:  $p = 0,8401$ ). Folglich kann davon ausgegangen werden, dass das CCA-Ergebnis nicht vom Alter bzw. dem Geschlecht des Teilnehmers/der Teilnehmerin abhängt.

### 3.2.1.3 Einfluss des Herkunftslandes

Der Hauptanteil der insgesamt am Screening teilgenommenen Personen ( $n = 105$ ) gab als Herkunftsland Somalia an und entfällt auf 50 Personen (47,6 %). Weitere häufig vertretene Herkunftsländer waren Äthiopien mit 29 (27,6 %), Elfenbeinküste mit 8 (7,6 %) und Nigeria mit 7 (6,7 %) Teilnehmenden. Außerdem stammten 11 Menschen aus



den Ländern Guinea, Gambia, Eritrea, Uganda, Tansania, Senegal, Kongo und Benin. Eine detaillierte Übersicht der Länderverteilung und dem jeweiligen Anteil an gescreenten Personen zeigt das nachfolgende Kreisdiagramm. Weiterhin wird in diesem dargestellt, bei wie vielen Personen aus den jeweiligen Herkunftsländern ein positives bzw. negatives CCA-Ergebnis vorlag. Beispielsweise zeigten 17/50 (34,0%) der gescreenten Somalier/-innen ein positives CCA-Ergebnis (vgl. Abbildung 14).



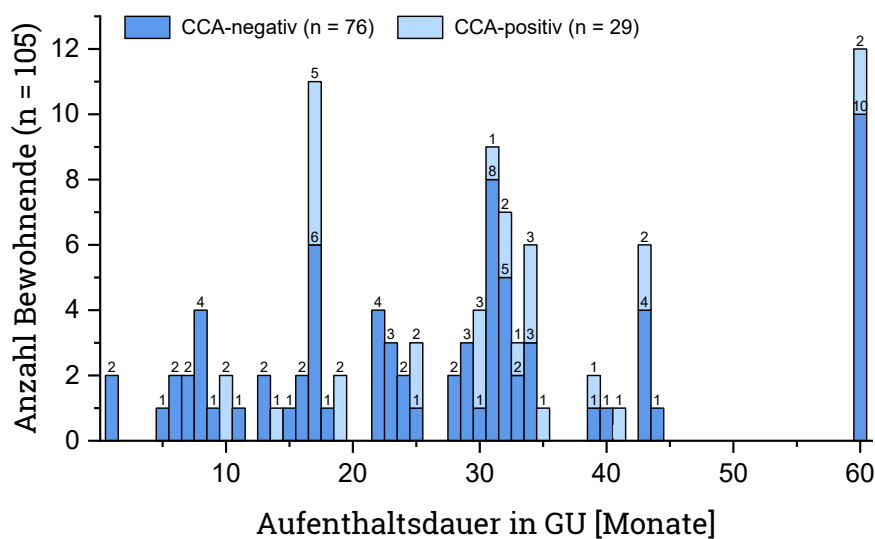
**Abbildung 14:** Prozentuale und absolute Verteilung der Herkunftsländer der gescreenten Personen (n = 105) mit jeweiligem Anteil an positiven bzw. negativen CCA-Befunden.

Bei allen aufgetretenen Herkunftsländern handelt es sich um Hoch- bzw. Mittelprävalenzgebiete Afrikas. Um dennoch zu untersuchen, ob das Ergebnis des CCA-Schnelltests durch das Herkunftsland beeinflusst wird, wurde der exakte Test nach Fisher mit Hilfe des Programms R angewandt. Die Auswertung lieferte einen p-Wert von  $p = 0,6908$ . Bei einem Signifikanzniveau von  $\alpha = 0,05$  kann davon ausgegangen werden, dass das Ergebnis im CCA-Schnelltest unabhängig von den hier aufgetretenen Herkunftsländern ist.

### 3.2.1.4 Einfluss der Aufenthaltsdauer

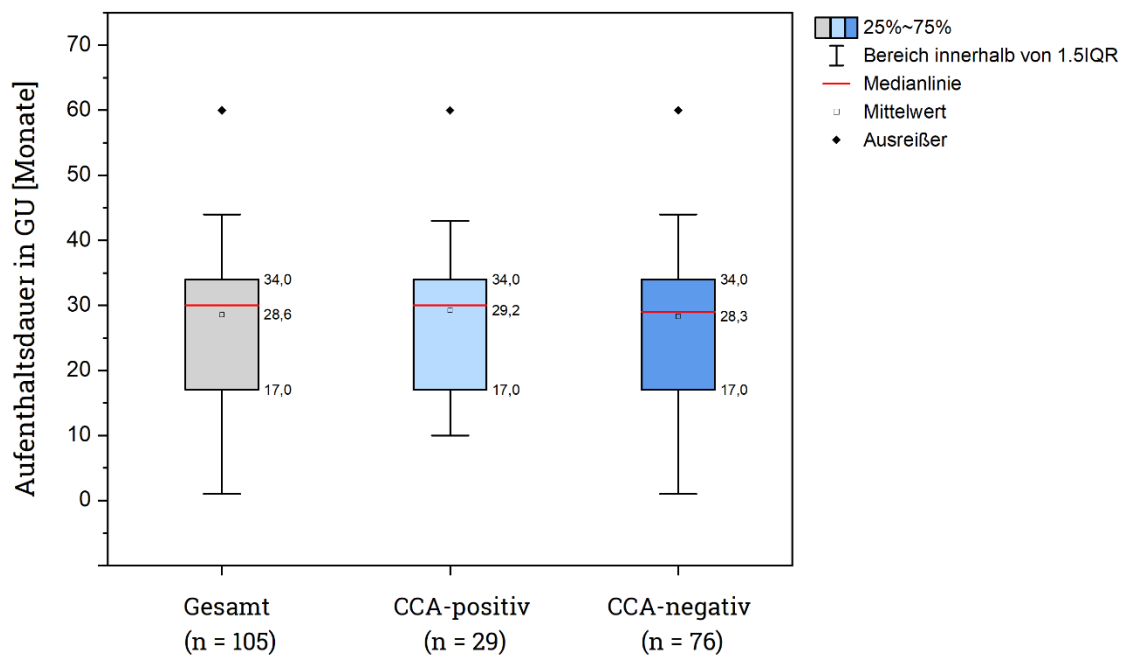
Es ist anzumerken, dass es sich bei der Aufenthaltsdauer um eine Mindestaufenthaltsdauer in den Würzburger Gemeinschaftsunterkünften handelt, die anhand der ältesten medizinischen Dokumentation bestimmt wurde. Bezüglich der Gesamt-Aufenthaltsdauer in Deutschland oder Europa standen keine dokumentierten Informationen zur Verfügung, weshalb einer quantitativen Bestimmung dieser wahren Aufenthaltsdauer nicht nachgegangen werden konnte. In vereinzelt Gesprächen mit den Teilnehmenden wurde berichtet, dass diese sich teilweise mehrere Jahre länger in Europa aufhielten, als es aus der zugänglichen Dokumentation hervorging. Somit lässt sich keine definitive Aussage darüber treffen, wie lange sich die betreffende Person tatsächlich in einem Schistosomiasis-freien Gebiet Europas aufhielt. Es muss jedoch in Betracht gezogen werden, dass diese Zeit bei der Mehrzahl der teilnehmenden Personen erheblich länger sein könnte, als es die in dieser Arbeit erhobenen Daten zeigen.

Die (Mindest-)Aufenthaltsdauer der gescreenten Bewohnenden (n = 105) wurde zur Veranschaulichung grafisch so dargestellt, dass die Aufenthaltsdauer derjenigen Teilnehmenden mit einem positiven CCA-Schnelltest erkennbar ist (vgl. Abbildung 15a). Die längste Aufenthaltsdauer betrug 60 Monate, während die kürzeste einen (1) Monat betrug. Im Mittel betrug sie 28,6 Monate (SD:  $\pm 15,4$ ) (vgl. Abbildung 15b).



**Abbildung 15a:** Aufenthaltsdauer der gescreenten Bewohnenden (n = 105) der Würzburger Gemeinschaftsunterkünfte in Monaten mit Unterteilung nach Ergebnis im CCA-Schnelltest.

Weiterhin sollte geklärt werden, inwiefern sich die Aufenthaltsdauer auf das Ergebnis des CCA-Schnelltests auswirkt. Die Aufenthaltsdauer wurde dabei im ersten Schritt nach den jeweiligen Testergebnissen geordnet und grafisch in Form eines Boxplot-Diagramms dargestellt, um die Verteilung zu veranschaulichen. Bei der Betrachtung ist nahezu keine Abweichung der Mittelwerte der Aufenthaltsdauer oder der Interquartilsabstände zwischen den einzelnen Gruppen erkennbar (vgl. Abbildung 15b).



**Abbildung 15b:** Vergleich der CCA-Schnelltest-Ergebnisse mit der Aufenthaltsdauer der zugehörigen Bewohnenden anhand von Boxplot-Diagrammen. *Links:* Gesamtzahl der gescreenten Bewohnenden (n = 105). *Mitte:* Davon CCA-positiv Getestete (n = 29). *Rechts:* Davon CCA-negativ Getestete (n = 76).

Die Überprüfung auf Zusammenhänge der Variablen erfolgte anschließend durch eine biseriale Rangkorrelation (Produkt-Moment Korrelation nach Pearson) mit Hilfe von R. Die Auswertung lieferte einen Korrelationskoeffizienten von  $r = 0,0269$  mit einem p-Wert von  $p = 0,7846$ . Somit kann bei einer nicht signifikanten Irrtumswahrscheinlichkeit von keinem Zusammenhang zwischen der Aufenthaltsdauer und Ergebnis im CCA-Schnelltest ausgegangen werden.

### **3.2.2 Befunde der Urinmikroskopie**

Alle 12 abgegebenen Urinproben (Personen mit einer Erythrozyturie) wurden noch am selben Tag bei 10-facher Vergrößerung mikroskopiert. In keiner (0/12) der Proben gelang ein Ei-Nachweis von *S. haematobium*.

### **3.2.3 Befunde der Stuhlmikroskopie**

Insgesamt erfüllten 12 Teilnehmende die Kriterien für eine Stuhlmikroskopie. Der größte Teil (11/12) qualifizierte sich durch einen G-Score  $\geq 4$ , während bei einer (1) weiteren Person mit einem G-Score von 3 aufgrund eines positiven ICT-Schnelltests die Entscheidung zur Stuhlmikroskopie getroffen wurde. Die Mikroskopie konnte bei 7 von 12 Personen durchgeführt werden. Die anderen 5 Teilnehmenden gaben keine Stuhlprobe ab. In keiner (0/7; 0 %) der mikroskopierten Proben waren *S. mansoni*-Eier nachzuweisen.

### **3.2.4 Schistosomen-Antikörper-Nachweis mittels ICT**

Alle 29 Personen, die ein positives CCA-Schnelltest-Ergebnis präsentierten, wurden um die Entnahme einer Blutprobe gebeten, um die serologische Testung auf Schistosomen-Antikörper anzuschließen. Aus diesem Personenkreis konnte von 28 Teilnehmenden eine Blutprobe gewonnen werden. Die Auswertung mittels Schistosoma ICT IgG-IgM ergab bei 14,3 % (4/28) einen Antikörper-Nachweis. Folglich fiel bei 24/28 (85,7%) der CCA-Positiven der nachfolgende ICT negativ aus. Abbildung 16 zeigt beispielhaft die Testkassetten des verwendeten ICT mit positiven und negativen Testresultaten.



**Abbildung 16:** Beispielhafte Ergebnisse des Schistoma ICT IgG-IgM -Schnelltests der Firma LDBIO Diagnostics (C = Kontrollbande (Blau), T = Trace (Rot)). *Links:* Zwei negative Testergebnisse mit fehlender T-Bande. *Rechts:* Sichtbare Banden im T-Bereich (Rot) sprechen für ein positives Testergebnis. Die blaue Kontrolle signalisiert, dass der Test bei allen Kassetten funktioniert hat.

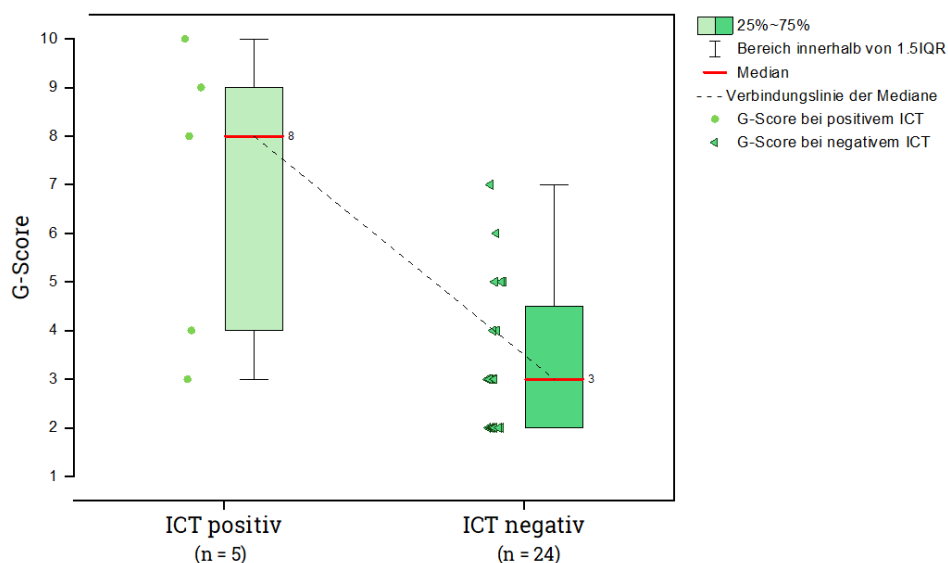
Eine Übersicht über die Verteilung von positivem bzw. negativem ICT und dazugehörigem G-Score der Gescreenten zeigt die nachfolgende Tabelle 7.

**Tabelle 7:** Zusammenhang zwischen ICT-Befund und dazugehörigem G-Score.

G-Score	ICT IgG-IgM		$\Sigma$
	Positiv	Negativ	
G2	0	9	9
G3	1	7	8
G4	1	2	3
G5	0	3	3
G6	0	1	1
G7	0	2	2
G8	1	0	1
G9	1	0	1
G10	0	0	0
$\Sigma$	4	24	28

Die weitere statistische Auswertung setzte sich zum Ziel, Zusammenhänge zwischen G-Score und ICT-Ergebnis aufzudecken. Da dies nicht mehr an das Screening in den Gemeinschaftsunterkünften gebunden war, konnte die Ausgangsdatenmenge in diesem Fall um eine (1) zusätzliche Person, welche über die Tropenmedizinische Abteilung der Missionsärztlichen Klinik Würzburg abgebunden wurde und deren G-Score (10) und ICT-Ergebnis (positiv) bekannt waren, erweitert werden (somit hier:  $n = 29$ ).

Die Werte wurden im nächsten Schritt grafisch in Form eines Punktdiagramms mit Lage der Medianwerte der G-Scores aufgetragen (s. Abbildung 17). Weiterhin wurden Boxplot-Diagramme zugefügt, um die Interquartilsabstände zu zeigen, in denen 50% der Stichprobenelemente liegen (hier: G-Score-Ergebnis). Zur Veranschaulichung wurde eine Verbindungslinie der Mediane eingefügt, die eine deutliche Steigung zeigt und damit einen positiven Zusammenhang zwischen einem positiven ICT-Resultat und einem höhergradigen G-Score andeutet. Ein niedriger G-Score korreliert hingegen mit einem negativen ICT.



**Abbildung 17:** Verteilung von positiven und negativen ICT-Befunden mit Beziehung zu den ermittelten G-Scores des CCA-Urin-Schnelltests.

Um zu prüfen, welche Beziehung zwischen der Höhe des G-Scores und einem positivem ICT besteht, wurde eine biseriale Rangkorrelation (Produkt-Moment Korrelation nach Pearson) des dichotomen, nominalskalierten Resultats des Serologie-Schnelltests (ICT

positiv / ICT negativ) mit dem ordinalskalierten G-Score durchgeführt. Für die Analyse wurde das Programm R genutzt.

Die Auswertung lieferte einen Korrelationskoeffizienten von  $r = 0,5696$  mit einem p-Wert von  $p = 0,0013$ . Die Ergebnisse sprechen nach den Richtlinien von Cohen (Cohen, 1988) für eine sehr signifikante ( $p < 0,01$ ), mittelstarke Korrelation zwischen höhergradigem G-Score im CCA-Urin-Schnelltest und einer positiven Serologie im ICT.

### 3.3 Detektion von freier Schistosomen-DNA mittels qPCR

Insgesamt gelang bei 4/27 (14,8 %) der insgesamt 29 CCA-Positiven Personen der Nachweis von Schistosomen-spezifischer DNA durch die molekularbiologische Serum-Analyse mittels qPCR. Alle Personen, bei denen ein molekularbiologischer DNA-Nachweis erfolgen konnte, waren männlich. Bei zwei (2) Personen stand keine Serumprobe für die PCR-Diagnostik bereit. Es wurde ausschließlich *S. mansoni*-DNA nachgewiesen (100 %). Keine (0 %) der untersuchten Proben enthielt *S. haematobium*-DNA. Eine (1) Serumprobe konnte nicht analysiert werden, da sie nicht abgenommen wurde, eine (1) weitere Serumprobe stand nur für die ICT-Diagnostik zu Verfügung. Bei den 4 Personen mit DNA-Nachweis war bei 75,0 % (3/4) der zuvor durchgeführte ICT ebenfalls positiv ausgefallen. Eine Serum-Probe (1/4; 25,0 %) lieferte somit trotz positivem ICT keinen DNA-Nachweis (s. Tabelle 8). Bei nahezu allen Teilnehmenden, welche einen positiven CCA-Schnelltest, jedoch einen negativen ICT aufwiesen (22/23; 95,7 %), gelang kein molekularbiologischer DNA-Nachweis. Bei 1/23 ICT-Negativen (4,3 %) lag somit ein falsch-negativer ICT vor.

**Tabelle 8:** Verteilung von ICT-Befunden und DNA-Nachweis in der qPCR.

$h_B$	DNA-Nachweis	kein DNA-Nachweis	
ICT-positiv	3	1	4
ICT-negativ	1	22	23
	4	23	27

Um zu zeigen, welchen Einfluss eine positive, durch den ICT bestimmte Schistosomen-Serologie auf einen DNA-Nachweis hat, wurde der exakte Test nach Fisher mit Hilfe von R angewandt. Folgende Hypothesen wurden formuliert:

$H_0$ : Eine positive Serologie im ICT macht einen DNA-Nachweis nicht wahrscheinlicher.

$H_1$ : Ein DNA-Nachweis wird bei Vorliegen einer positiven Serologie im ICT wahrscheinlicher.

Die Auswertung lieferte einen p-Wert von  $p = 0,0053$ . Bei einem Signifikanzniveau von  $\alpha = 0,05$  kann die Nullhypothese verworfen werden und es ist von einem sehr signifikanten ( $p < 0,01$ ), positiven Einfluss eines positiven ICT auf einen DNA-Nachweis auszugehen. Bei einem bereits vorliegenden, positiven ICT kann somit in der Regel ebenfalls ein DNA-Nachweis gelingen. Die Überprüfung eines Zusammenhangs zwischen DNA-Nachweis und CCA-Testergebnis (positiv vs. negativ) war nicht möglich, da diesbezüglich keine vollständige Datengrundlage existiert. Um diesen Zusammenhang zu prüfen, ist die Kenntnis erforderlich, bei wie vielen Personen mit negativem CCA-Testergebnis ein Nachweis von Schistosomen-DNA erfolgen konnte. Für diese Gruppe der Teilnehmenden war die Gewinnung einer Blutprobe zur weiteren Diagnostik im Rahmen dieser Arbeit nicht vorgesehen gewesen.

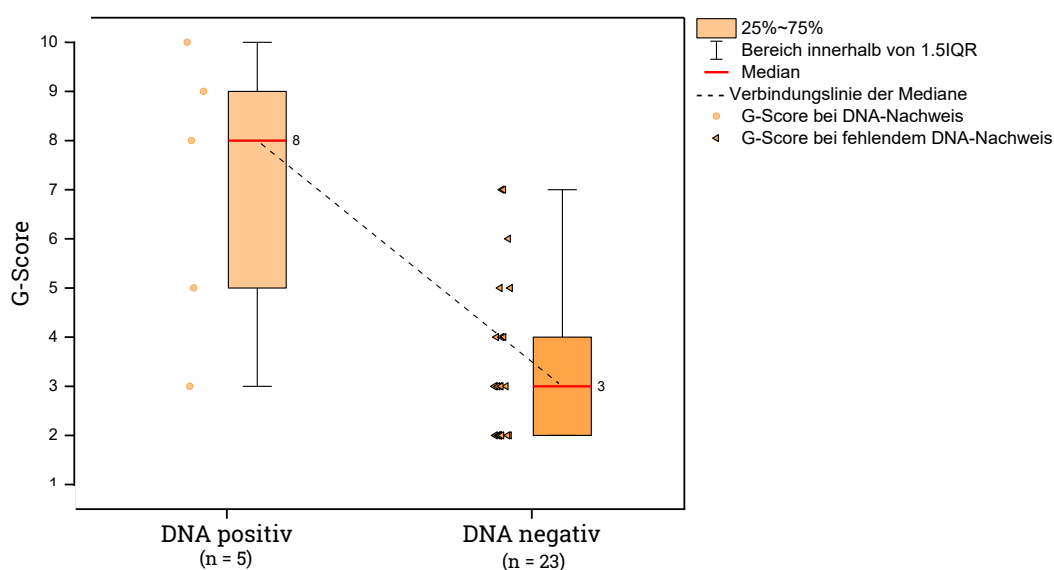
Allerdings war es möglich, das Auftreten eines DNA-Nachweises mit der Höhe des zuvor bestimmten G-Scores zu korrelieren. Eine Übersicht über die Verteilung von DNA-Nachweis und G-Score der Gescreenten zeigt die nachfolgende Tabelle 9.

**Tabelle 9:** Zusammenhang zwischen DNA-Nachweis mittels qPCR und G-Score.

G-Score	DNA-Nachweis mittels qPCR		
	Positiv	Negativ	$\Sigma$
G2	0	9	9
G3	1	6	7
G4	0	3	3
G5	1	2	3
G6	0	1	1
G7	0	2	2
G8	1	0	1
G9	1	0	1
G10	0	0	0
$\Sigma$	4	23	27



Zur Ermittlung des Zusammenhang wurde die biseriale Rangkorrelation (Produkt-Moment-Korrelation nach Pearson) analog zur Berechnung des Zusammenhangs zwischen ICT und G-Score in Punkt 3.2.4 (S.50) mit Hilfe von R vorgenommen und graphisch dargestellt (s. Abbildung 18). Auch in diesem Fall konnte die Ausgangsdatenmenge um eine (1) zusätzliche Person, welche über die Tropenmedizinische Abteilung der Missionsärztlichen Klinik Würzburg angebunden wurde und deren G-Score (10) bekannt war, erweitert werden (somit hier:  $n = 28$ ; *Anmerkung*: Die Person brach das Follow-up nach der ersten Blutentnahme ab).



**Abbildung 18:** Punktdiagramm mit Boxplots der Verteilung von Proben mit DNA-Nachweis bzw. fehlendem DNA-Nachweis mit Beziehung zu den ermittelten G-Scores des CCA-Urin-Schnelltests. Die Verbindungslinie der Mediane weist eine deutliche Steigung auf und signalisiert damit einen positiven Zusammenhang zwischen einem vorhandenen DNA-Nachweis und einem höhergradigen G-Score.

Die Berechnung lieferte einen Korrelationskoeffizienten von  $r = 0,6074$  mit einem  $p$ -Wert von  $p = 0,0006$ . Die Ergebnisse sprechen nach den Richtlinien von Cohen (Cohen, 1988) für eine hochsignifikante ( $p < 0,001$ ), mittelstarke-starke Korrelation zwischen höhergradigem G-Score im CCA-Urin-Schnelltest und einem positiven DNA-Nachweis in der PCR-Diagnostik.

### 3.4 Therapierte Teilnehmende

Durch das Screening in den Würzburger Gemeinschaftsunterkünften und die darauffolgenden, ergänzenden diagnostischen Maßnahmen konnten insgesamt

5 Teilnehmenden die Therapie in Form der 3-tägigen gewichtsadaptierten Gabe von Praziquantel (40mg/Kg KG/Tag) ermöglicht werden. Wie viele Personen welche Kriterien für die Therapieindikation erfüllten, zeigt die nachfolgende Tabelle 10. Voraussetzung für die ergänzenden Diagnostik war ein positiver CCA-Urin-Schnelltest (*Ausnahme*: Bei Nachweis einer Erythrozyturie wurde unabhängig vom CCA-Nachweis eine Urinmikroskopie angeschlossen).

**Tabelle 10:** Mögliche Konstellationen (positiver CCA-Test vorausgesetzt) für eine Therapieindikation mittels Praziquantel und Anzahl der die Kriterien erfüllenden Personen (vgl. auch Punkt 2.3, S.32).

Konstellation für Therapieindikation	Anzahl der Personen
Ei-Nachweis in Urin- oder Stuhlmikroskopie	0
Positiver Serologie-Befund (ICT)	4
Nachweis von freier Schistosomen-DNA durch qPCR (bei negativem ICT)	1
$\Sigma$	5

Es zeigt sich, dass eine (1) Person eine Therapie aufgrund eines DNA-Nachweises erhielt, ohne dass der ICT einen Antikörper-Nachweis erbrachte. In Verbindung mit den Erkenntnissen der DNA-Kinetik (vgl. Punkt 3.5, S.56) konnte nachträglich bestätigt werden, dass es sich dabei um eine floride Infektion gehandelt haben muss.

Eine (1) weitere Person erfüllte durch das Vorliegen eines positiven CCA-Schnelltestes in Kombination mit einem positiven ICT die Therapie-Kriterien, jedoch wurde nachträglich keine Schistosomen-DNA nachgewiesen, weshalb hier von einer unnötigen Therapie ausgegangen werden muss.

### 3.5 Kinetik der Schistosomen-spezifischen DNA

Neben den Personen, welche sich durch das in Würzburger Gemeinschaftsunterkünften durchgeführten Screening für die Erstellung der DNA-Kinetik qualifizierten, konnten 3 weitere Teilnehmer über die Tropenmedizinische Abteilung der Missionsärztlichen Klinik Würzburg in die Studie eingebunden werden. Diese wurden der Abteilung aufgrund einer floriden Schistosomiasis zugewiesen und stellten sich nach erfolgter Therapie mit Praziquantel für die Blutentnahmen zur Erstellung der DNA-Kinetik zur

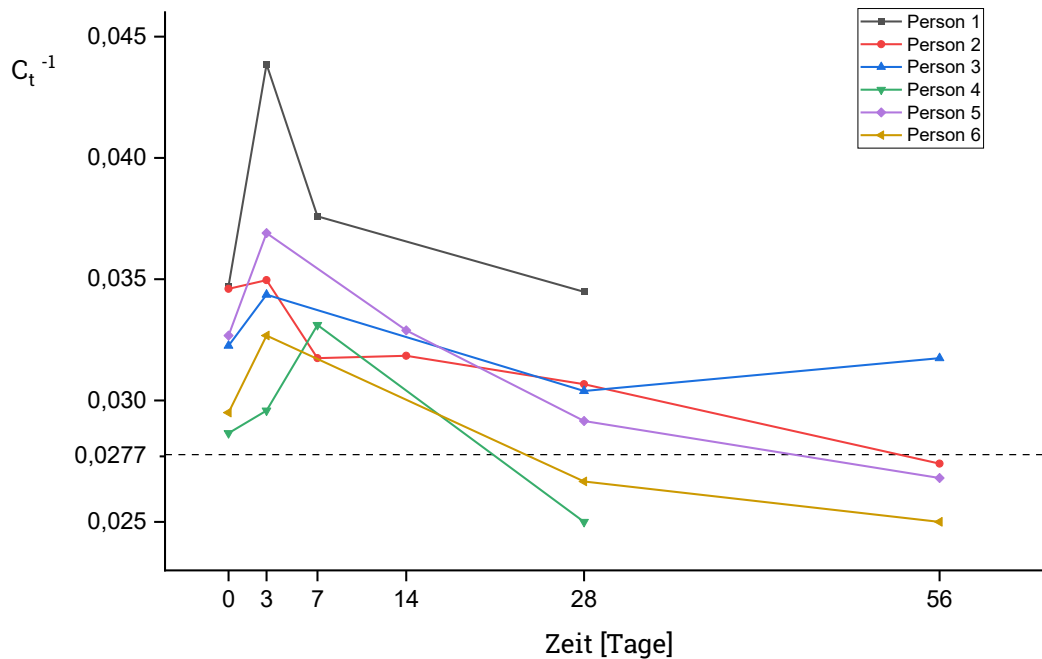
Verfügung. Eine (1) dieser insgesamt 7 für die Erstellung der DNA-Kinetik zur Verfügung stehenden Probanden/Probandinnen brach das Follow-up nach der ersten Blutentnahme ab und wird daher für weitere Berechnungen nicht in die Statistik aufgenommen, aus Gründen der Vollständigkeit aber dennoch aufgeführt. Weiterhin konnte bei den einzelnen Follow-ups nicht zu jedem der vorgesehenen Zeitpunkte eine Blutprobe gewonnen werden, da die Teilnehmenden ihre Blutentnahme-Termine nicht regelmäßig wahrnahmen. Die nachfolgende Tabelle 11 zeigt, wie viele Proben am jeweilig vorgesehenen Entnahme-Zeitpunkt gewonnen werden konnten und welche  $C_t$ -Werte sich aus der molekularbiologischen Analyse mittels qPCR ergaben. Je höher ein  $C_t$ -Wert ausfällt, desto mehr Zyklen werden benötigt, um DNA in der jeweiligen Probe nachzuweisen. Folglich zeigen ansteigende  $C_t$ -Werte eine niedrigere DNA-Konzentration und abfallende  $C_t$ -Werte eine ansteigende DNA-Konzentration an. Zur nachfolgenden besseren graphischen Veranschaulichung wurden außerdem die Kehrwerte der  $C_t$ -Werte ( $C_t^{-1}$ ), sowie die Mittelwerte und die Standardabweichung (SD) berechnet.

**Tabelle 11:** Übersicht über den zeitlichen Verlauf der  $C_t$ -Werte und Berechnung von Mittelwert und Standardabweichung aus den jeweiligen Kehrwerten ( $C_t^{-1}$ ). Da Minus-Zeichen (-) symbolisiert nicht wahrgenommene Blutentnahme-Termine.

Proband (#)	$C_t$ -Werte / $C_t^{-1}$ am jeweiligen Entnahmetag					
	0	3	7	14	28	56
1	28,8 / 0,0347	22,8 / 0,0439	26,6 / 0,0376	-	29,0 / 0,0345	-
2	28,9 / 0,0346	28,6 / 0,0350	31,5 / 0,0317	31,4 / 0,0318	32,6 / 0,0307	36,5 / 0,0274
3	31,0 / 0,0323	29,1 / 0,0344	-	-	32,9 / 0,0304	31,5 / 0,0317
4	34,9 / 0,0287	33,8 / 0,0296	30,2 / 0,0331	-	40,0 / 0,0250	-
5	30,6 / 0,0327	27,1 / 0,0369	-	30,4 / 0,0329	34,3 / 0,0292	37,3 / 0,0268
6	33,9 / 0,0295	30,6 / 0,0327	-	-	37,5 / 0,0267	40,0 / 0,0250
(7)	(26,3 / 0,0380)	-	-	-	-	-
<b>Mittelwert (<math>C_t^{-1}</math>)</b>	0,0321	0,0354	0,0342	0,0324	0,0294	0,0277
<b>SD</b>	0,00254	0,00482	0,00306	0,00074	0,00333	0,00286
<b>n</b>	6	6	3	2	6	4

Die graphische Darstellung der einzelnen  $C_t^{-1}$ -Verläufe über die Zeit zeigte, dass alle Teilnehmenden, welche am Follow-up teilnahmen, 3-7 Tage nach der Intervention mittels Praziquantel-Gabe an Tag 0 ein  $C_t^{-1}$ -Maximum erreichen. Der weitere Verlauf von

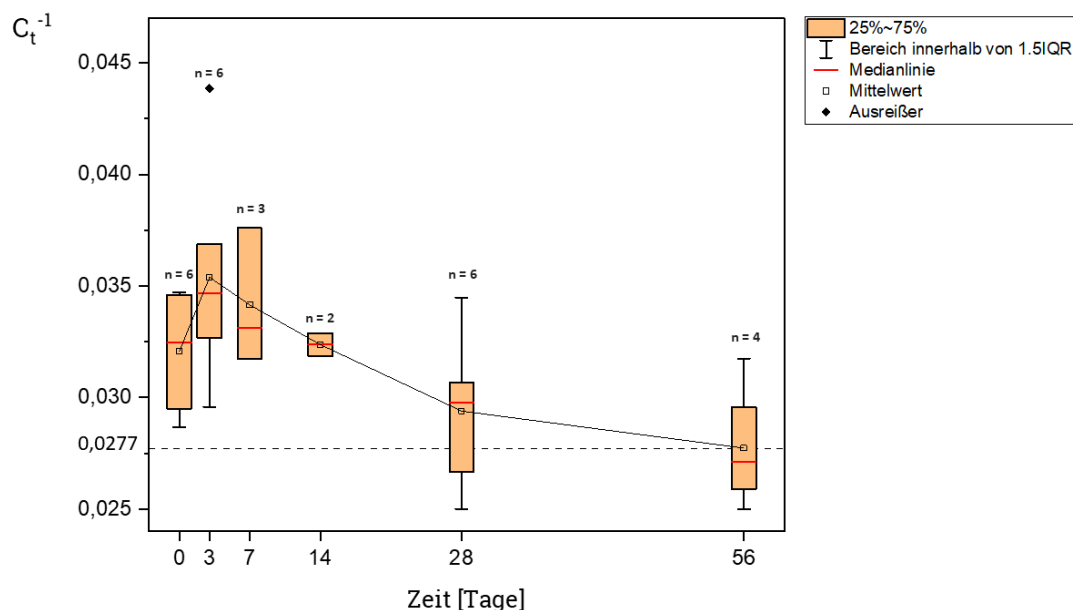
Person 1,2,4,5 und 6 ist von einem Abfall der  $C_t^{-1}$ -Werte geprägt. Bei Person 3 (blaue Linie) ist ein erneuter Anstieg des  $C_t^{-1}$ -Wertes zwischen Tag 28 und 56 zu beobachten. Die gestrichelte Gerade bei  $C_t^{-1} = 0,0277$  entspricht einem  $C_t$ -Wert von 36 und spiegelt den Schwellenwert wider, bei dem die Teilnehmenden auf Basis der PCR-Diagnostik initial als therapiebedürftig angesehen wurden. Es zeigt sich, dass 4/6 Personen (66,7%) diesen Schwellenwert im zeitlichen Verlauf von 56 Tagen nach der Therapie unterschreiten (s. Abbildung 19).



**Abbildung 19:** Zeitlicher Verlauf der reziproken  $C_t$ -Werte der einzelnen Therapierten (Person 1-6) nach Praziquantel-Gabe an Tag 0.

Zur graphischen Darstellung des Gesamtverlaufs der DNA-Kinetik über alle am Follow-up teilgenommenen Personen hinweg wurden Boxplot-Diagramme erstellt und den jeweiligen Entnahme-Zeitpunkten zugeordnet. Es zeigt sich, dass das Mittelwert-Maximum der reziproken  $C_t$ -Werte bei 3 Tagen nach Therapiebeginn liegt. Durch den Wilcoxon-Vorzeichen-Rang-Test wurde ein signifikanter Anstieg im Vergleich zu Tag 0 ermittelt ( $p < 0,05$ ). Im zeitlichen Verlauf ist ein kontinuierlicher Abfall der  $C_t^{-1}$ -Werte und damit ein indirekter Abfall der zirkulierenden DNA-Menge im Blut der Follow-up-Gruppe zu beobachten. An Tag 56 erreicht der Mittelwert den Schwellenwert von 0,0277 (s. Abbildung 20). Der Abfall des  $C_t^{-1}$  zwischen Tag 3 und Tag 56 konnte mit Hilfe des Wilcoxon-Vorzeichen-Rang-Tests aufgrund der zu geringen Stichprobengröße von 4

nicht auf Signifikanz getestet werden. Ein nachweislich signifikanter Abfall des  $C_t^{-1}$  findet sich jedoch zwischen Tag 3 und Tag 28 ( $p < 0,05$ ).



**Abbildung 20:** Boxplot-Diagramme der reziproken  $C_t$ -Werte an den jeweiligen Tagen 0-3-7-14-28-56 über alle therapierten Personen. Die schwarze durchgängige Linie verbindet die Mittelwerte, die gestrichelte Linie gibt den Schwellenwert  $C_t^{-1} = 0,0277$  an, welcher einem  $C_t$ -Wert von 36 ( $\triangleq$  Schwellenwert) entspricht.

Ausgehend von einem Maximum der DNA-Konzentration an Tag 3 nach der Erstgabe von Praziquantel wurde mit Hilfe von OriginPro 2020 eine Funktion anhand der vorliegenden Daten interpoliert, welche den Verlauf der einzelnen Messpunkte am besten wiedergibt.

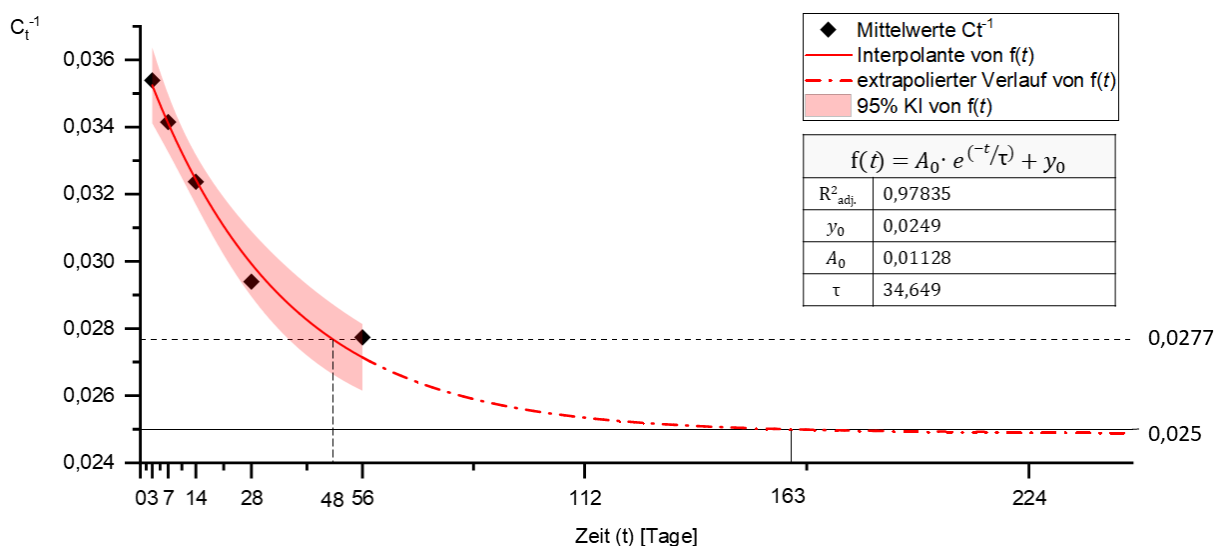
Die Interpolation lieferte folgende Funktion:

$$f(t) = 0,01128 \cdot e^{(-t/34,649)} + 0,0249$$

Das adjustierte Bestimmtheitsmaß ( $R^2_{adj.}$ ) zur Abschätzung der Güte dieser nicht-linearen Regression war  $R^2_{adj.} = 0,97835$ .

Auch wenn der Schwellenwert zur Therapieindikation in dieser Arbeit bei  $C_t^{-1} = 0,0277$  ( $\triangleq C_t = 36$ ) festgelegt wurde, beträgt der niedrigste mögliche Wert der durch das verwendete Messgerät (StepOne real-time PCR-System von Applied Biosystems) bestimmt werden kann,  $C_t^{-1} = 0,025$ , was einem  $C_t$ -Wert von 40 entspricht und die maximale Anzahl von 40 Zyklen ( $\triangleq$  Detektionsgrenze) wiedergibt. Als Festgröße

( $y_0$ ) für die Interpolation wurde daher  $C_t^{-1} = 0,0249$  gewählt, was einem  $C_t$ -Wert von 41 entspricht und welcher damit knapp oberhalb der Detektionsgrenze liegt und an welchen sich die Funktion asymptotisch annähert. Ein  $C_t$ -Wert von 41 wird daher nachfolgend als asymptotischer Grenzwert bezeichnet. Abbildung 21 stellt den Verlauf der Funktion  $f(t)$  dar. Es zeigt sich, dass alle erhobenen Messwerte innerhalb des 95%-Konfidenzintervalls der Interpolante von  $f(t)$  liegen. Die Interpolante schneidet den in dieser Arbeit festgelegten Schwellenwert von  $C_t^{-1} = 0,0277$  an Tag 48. Durch Extrapolation ab Tag 56 kann der weitere Verlauf bis zum Erreichen der Detektionsgrenze ( $C_t^{-1} = 0,025$ ) verfolgt werden, welche nach 163 Tagen erreicht werden würde.



**Abbildung 21:** Verlauf der Funktion  $f(t)$ , welche die Änderung der gemessenen Mittelwerte von  $C_t^{-1}$  über die Zeit beschreibt (*rote durchgängige Linie*: interpolierte Funktion; *rote gestrichelte Linie*: extrapolierte Funktion). Alle Messwerte (schwarze Rauten) liegen innerhalb des 95%-Konfidenzintervalls (hellroter Bereich) von  $f(t)$ . Die Schnittpunkte mit dem Schwellenwert  $C_t^{-1} = 0,0277$  und der Detektionsgrenze  $C_t^{-1} = 0,025$  liegen bei 48 Tagen und 163 Tagen.

Die interpolierte Formel folgt der allgemeinen Gesetzmäßigkeit  $f(t) = A_0 \cdot e^{(-t/\tau)} + y_0$  mit  $A_0$  = Ausgangswert (*hier*: 0,01128),  $t$  = Zeit,  $\tau$  = Zeitkonstante (*hier*: 34,649) und  $y_0$  = asymptotischer Grenzwert (*hier*: 0,0249) und beschreibt damit eine Eliminationskinetik 1. Ordnung.

Analog zu den Zerfallsgesetzen lassen sich die Halbwertszeit ( $t_{1/2}$ ) der im Blut befindlichen Schistosomen-DNA-Konzentration, sowie die Geschwindigkeitskonstante  $k$  wie folgt berechnen:

$$\begin{aligned}
 t_{1/2} &= \tau \cdot \ln 2 \\
 &= 34,649 \text{ d} \cdot \ln 2 = \underline{24,02 \text{ d}}
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 k &= \frac{1}{\tau} \\
 &= \frac{1}{34,649 \text{ d}} = \underline{0,0289 \text{ d}^{-1}}
 \end{aligned}$$

Aufgrund von  $\tau = k^{-1}$  kann  $f(t) = A_0 \cdot e^{(-t/\tau)} + y_0$  in  $f(t) = A_0 \cdot e^{-k \cdot t} + y_0$  umformuliert werden.

### 3.5.1 Exkurs: Praktische Anwendung

Angenommen, bei einem (gesichert) therapierten Patienten wird 4 Wochen (Zeitpunkt kann aber beliebig gewählt werden) nach der Therapie ein  $C_t$ -Wert von 28 festgestellt ( $C_t^{-1} = 0,0357$ ). Um nun herauszufinden, wann der Schwellenwert von  $C_t = 36$  ( $C_t^{-1} = 0,0277$ ) erreicht werden würde, kann dieser Zeitpunkt aufgrund des in dieser Arbeit ermittelten Zerfallsgesetzes und nun vorliegender Kenntnis der Geschwindigkeitskonstante  $k = 0,0289 \text{ d}^{-1}$  berechnet werden. Dazu wird die Gleichung  $f(t) = A_0 \cdot e^{-k \cdot t} + y_0$  nach der Zeit  $t$  aufgelöst. Es ergibt sich folgende Gleichung:

$$t = \frac{\ln\left(\frac{f(t)}{A_0} - \frac{y_0}{A_0}\right)}{-k}$$

Weiterhin gilt folgendes:

- $f(t)$  gibt den Schwellenwert an (*hier*:  $C_t^{-1} = 0,0277$ )
- $A_0$  gibt den gemessenen Ausgangswert an (*hier*:  $C_t^{-1} = 0,0357$ )
- $y_0$  gibt den asymptotischen Grenzwert an (*hier*:  $C_t^{-1} = 0,0249$ )

Durch Einsetzen ergibt sich:

$$\begin{aligned}
 t &= \frac{\ln\left(\frac{0,0277}{0,0357} - \frac{0,0249}{0,0357}\right)}{-k} \\
 &= \frac{\ln(0,776 - 0,697)}{-k} = \frac{\ln(0,079)}{-0,0289 \text{ d}^{-1}} = 87,83 \text{ d} \approx \underline{88 \text{ d}}
 \end{aligned}$$

Somit kann abgeschätzt werden, dass nach ungefähr 88 Tagen der Schwellenwert der DNA-Konzentration unterschritten wird, der ohne vorausgegangene Behandlung als

positiv und therapiebedürftig gewertet worden wäre. Bei erneutem Anstieg des  $C_t$ -Wertes sollte eine Reinfektion oder ein Therapieversagen in Betracht gezogen werden. Der Zeitraum bis zum Erreichen des Schwellenwertes ist abhängig vom Ausgangs- $C_t$ -Wert und verlängert sich, je niedriger dieser ist (bzw. je höher der  $C_t^{-1}$ -Wert ist). Beispielsweise würde bei einem Ausgangs- $C_t$ -Wert von 18 der Schwellenwert erst nach ca. 103 Tagen erreicht werden.

### 3.6 Prävalenzbestimmung

Aufgrund des hierarchischen Einsatzes der angewandten Testverfahren (1. CCA-Schnelltest, 2. ICT, 3. qPCR) unterscheidet sich die zu errechnende Prävalenz, je nachdem ob eine teilnehmende Person aufgrund ihrer bereits vorliegenden Testergebnisse als infiziert oder nicht-infiziert angesehen wird. Deshalb sollen an dieser Stelle drei Prävalenz-Szenarien angegeben werden.

Generell berechnet sich die Prävalenz wie folgt:

$$\text{Prävalenz} = \frac{\text{Anzahl der im Zeitraum als positiv Getestete } (n_{pos})}{\text{Anzahl der gescreenten Personen } (n_{ges})} [\%]$$

Darüber hinaus kann der positive prädiktive Wert (PPW) mit Hilfe der Formel

$$PPW = \frac{\text{Anzahl der richtig Positiven}}{\text{Anzahl der richtig Positiven} + \text{Anzahl der falsch Positiven}} [\%]$$

berechnet werden.

Werden ausschließlich die durch den CCA-Urin-Schnelltest bestimmten Screening-Ergebnisse zugrunde gelegt, ergibt sich folgende Schistosomiasis-Prävalenz in Würzburger Gemeinschaftsunterkünften für Geflüchtete:

$$\text{Prävalenz}_{CCA} = \frac{29}{105} = 0,276 = \underline{27,6 \%} \quad [95\% \text{ KI: } 0,200 - 0,368]$$

Da aufgrund der PCR-Diagnostik bekannt ist, dass insgesamt nur 4 Personen als richtig-positiv zu werten sind, kann der positive prädiktive Wert für die alleinige Anwendung des CCA-Schnelltest berechnet werden:



$$PPW_{CCA} = \frac{4}{4+23} = \frac{4}{27} = 0,148 = \underline{14,8 \%}$$

Wird zusätzlich das Ergebnis des ICT miteinbezogen, lassen sich folgende Krankheitshäufigkeit und folgender positiver prädiktiver Wert errechnen:

$$Prävalenz_{CCA+ICT} = \frac{4}{104} = 0,038 = \underline{3,8 \%} [95\% \text{ KI: } 0,015 - 0,097]$$

(Anmerkung: Eine (1) Probe stand nicht zur Verfügung, daher hier  $n_{ges} = 104$ )

$$PPW_{CCA+ICT} = \frac{4}{4+1} = \frac{4}{5} = 0,800 = \underline{80,0 \%}$$

Die Prävalenzbestimmung auf Basis der molekularbiologischen Diagnostik mittels qPCR mit vorausgegangenem CCA-Test und ICT ergibt:

$$Prävalenz_{CCA+ICT+qPCR} = \frac{4}{103} = 0,039 = \underline{3,9 \%} [95\% \text{ KI: } 0,015 - 0,096]$$

(Anmerkung: Zwei (2) Proben standen nicht zur Verfügung, daher hier  $n_{ges} = 103$ )

Da die qPCR-Diagnostik als Referenzstandard angenommen wurde, wird hier von einem positiven prädiktiven Wert von 100 % ausgegangen.

Es zeigt sich, dass die allein auf Basis des CCA-Schnelltest berechnete Prävalenz um mehr als 23 Prozentpunkte über denjenigen Prävalenzen liegt, welche durch die zusätzliche Kombination des CCA-Schnelltests mit einem ICT oder der qPCR bestimmt wurden. Unter Einbezug der 95 %-Konfidenzintervalle ergibt sich zwischen  $Prävalenz_{CCA}$  und  $Prävalenz_{CCA+ICT+qPCR}$  eine Minimaldifferenz von 10,4 % (0,200 - 0,096) und eine Maximaldifferenz von 35,3 % (0,368 - 0,015). Der positive prädiktive Wert der alleinigen Anwendung des CCA-Schnelltests fällt mit 14,8 % deutlich niedriger als in der Kombination mit dem ICT aus. Hier beträgt der positive prädiktive Wert 80 %.

## **4 DISKUSSION**

Das Ziel dieser Arbeit bestand aus drei Teilaspekten, zu welchen die Erstellung einer Schistosomen-DNA-Kinetik nach der Behandlung mit Praziquantel, die Bestimmung der Schistosomiasis-Prävalenz einer in Deutschland lebenden Risikopopulation, sowie die Evaluation verschiedener diagnostischer Testverfahren für das Vorliegen der Erkrankung zählten. Die Methoden, die dabei zum Einsatz kamen und die erhaltenen Ergebnisse sollen nachfolgend diskutiert und bewertet werden. Weiterhin werden die Erfahrungen und daraus resultierenden Empfehlungen für zukünftige Projekte dieser Art geschildert, um die Planung zu erleichtern und Abläufe zu verbessern. Dabei wird insbesondere auf Compliance-Probleme und den Umgang mit diesen eingegangen. Die Arbeit schließt mit einem Fazit und der Zusammenfassung der Studie ab.

### **4.1 Bewertung der Methoden und Ergebnisse**

#### **4.1.1 Rekrutierung der Teilnehmenden und Compliance**

Um die Ziele der Arbeit zu erreichen, musste zunächst eine geeignete Studienpopulation identifiziert und ausgewählt werden. Da in den Würzburger Gemeinschaftsunterkünften viele Geflüchtete leben, welche aus Ländern stammen, in denen die Schistosomiasis als endemisch gilt, erschien es als sinnvolle Entscheidung die Studie dort durchzuführen. Eine weitere Begründung liegt in bisher publizierten Studienergebnissen, die teilweise hohe Infektionsraten bei Geflüchteten unter anderem durch den als Goldstandard geltenden mikroskopischen Ei-Nachweis belegen konnten. Die Angaben reichen dabei von 17,4 % (Beltrame, Guerriero, et al., 2017) über 21,5 % (Chernet et al., 2018) bis hin zu 41,9 % (Marchese et al., 2018).

Die Rekrutierung der Teilnehmenden erfolgte durch das Führen persönlicher Gespräche, in denen Informationen zur Krankheit und dem Studienablauf dargeboten wurden und denen sich eine freiwillige Studienteilnahme anschloss. Hierfür wurde versucht die Personen direkt an ihrem Wohnsitz anzutreffen, da sich bereits zu Beginn der Studie herausstellte, dass andere Rekrutierungsmaßnahmen wie bspw. der Aushang von Informationsplakaten oder die Etablierung einer mündlichen Verbreitung zu keiner Studienteilnahme aus Eigeninitiative führten. Unter den Bewohnenden, welche die

Einschlusskriterien erfüllten, entschloss sich so der überwiegende Teil von 87,5% (105/120) zur Studienteilnahme, unterzeichnete die Einwilligungserklärung und gab eine Urinprobe zur weiteren Untersuchung mittels CCA-Schnelltest ab. Die übrigen 15 Personen konnten entweder wiederholt nicht an ihrem Wohnsitz angetroffen werden oder gaben keine Urinprobe ab. Die Kommunikation gestaltete sich überwiegend problemlos, da viele der Teilnehmenden gute Deutschkenntnisse hatten oder sich einer anderen, ihnen geläufigen Sprache wie Englisch oder Französisch bedienen konnten. Nur in Ausnahmefällen war die Übersetzung mit Hilfe eines Dolmetschers nötig. Insgesamt kann diese Methode somit als gut geeignete, wenn auch zeitaufwändige Rekrutierungsmaßnahme angesehen werden kann.

Die Teilnehmenden, bei welchen der CCA-Schnelltest positiv ausfiel, wurden über das Ergebnis persönlich oder telefonisch informiert. Dabei wurde ihnen die Notwendigkeit weiterer Untersuchungen vermittelt und sie wurden um die Abgabe von Blutproben für den ICT bzw. die PCR-Testung und ggf. um die Abgabe von Stuhlproben für die Mikroskopie gebeten. Die Abnahme der Blutprobe konnte bei insgesamt 28 der 29 positiv Getesteten erfolgen. Dies geschah entweder unmittelbar nach der Benachrichtigung über die CCA-Befunde oder zu einem später vereinbarten Termin. Da die Abgabe einer Stuhlprobe meist nicht direkt erfolgen konnte, wurden die entsprechenden Personen gebeten, diese, sobald es ihnen möglich war, an das medizinische Personal der Gemeinschaftsunterkünfte weiterzureichen. Weshalb hier auch nach mehrmaliger Aufforderung nur 7 der 12 benötigten Stuhlproben abgegeben wurden bleibt unklar.

Waren die Diagnose-Sicherungskriterien erfüllt (s. Punkt 2.3, S. 32), erfolgte die Praziquantel-Gabe bei allen therapiebedürftigen (insgesamt 5) Teilnehmenden zeitnah während eines vereinbarten Termins. Dabei wurde nochmalig über den weiteren Studienablauf informiert und um die weitere Follow-up-Teilnahme gebeten. Insbesondere wurde auf die Anzahl der insgesamt 5 nachfolgenden Blutentnahmen und die Wichtigkeit der Einhaltung der vorgesehenen zeitlichen Abstände hingewiesen. Alle betreffenden Teilnehmenden erklärten sich einverstanden und erhielten eine schriftliche Auflistung ihrer persönlichen Termine. Bereits zum ersten Follow-up Termin

---

(Tag 3 nach Therapie) zeigte sich, dass die vereinbarten Termine teilweise nicht eingehalten wurden, weshalb die entsprechenden Personen erneut telefonisch erinnert oder direkt am Wohnsitz aufgesucht werden mussten. Dieses aufwendige Vorgehen zog sich aufgrund der wiederholten Versäumung der vereinbarten Termine durch das gesamte Follow-up und führte dazu, dass nur 15 der insgesamt 25 vorgesehenen Blutproben (5 Teilnehmende mit je 5 Follow-up Blutentnahmen an den Tagen 3-7-14-28-56) für die Bestimmung der DNA-Kinetik gewonnen werden konnten. Gründe hierfür könnten in mangelndem Verständnis für die subjektiv große Anzahl an Blutentnahmen innerhalb eines kurzen Zeitraums oder für die Wichtigkeit der Entnahme zu festen Zeitpunkten liegen. Möglicherweise konnte von einzelnen Teilnehmenden nach der bereits erfolgten Therapie kein Nutzen mehr erkannt werden und der Aufwand bzw. die Unannehmlichkeit der Prozedur überwog.

#### **4.1.2 Gegenüberstellung und Evaluation der ausgewählten diagnostischen Testverfahren anhand der ermittelten Ergebnisse**

Für das Screening der ausgewählten Population auf das Vorliegen der Erkrankung kam zunächst ein Urin-Schnelltest zum Nachweis des Circulating Cathodic Antigen (CCA) zum Einsatz. Bei 27,6 % fiel der Test positiv aus, was etwas mehr als einem Viertel der Teilnehmenden entspricht. Diese Zahl reit sich in die Resultate bisheriger Veröffentlichungen ein. So fielen beispielsweise bei Geflüchteten aus Subsahara-Afrika 40,2 % (Chernet et al., 2018) und 12,6 % (Beltrame, Buonfrate, et al., 2017) der CCA-Tests positiv aus. Zur weiteren Einordnung und Bewertung des CCA-Testresultats erfolgte eine Graduierung mittels G-Score. Dabei konnte gezeigt werden, dass ein höherer G-Score sowohl mit einem positiven Antikörper-Nachweis mittels ICT als auch einem DNA-Nachweis mittels qPCR assoziiert ist und damit die Wahrscheinlichkeit für das tatsächliche Vorliegen einer floriden Schistosomiasis erhöht. Diese Erkenntnis lässt sich mit Studienergebnissen in Einklang bringen, die nachwiesen, dass die parasitäre Ei-Last positiv mit einem höhergradigen G-Score korreliert (Casacuberta-Partal et al., 2019; Kittur et al., 2016). Ein des Öfteren in der Fachliteratur thematisierter Aspekt betrifft in diesem Zusammenhang die Interpretation der Befunde im CCA-Schnelltest.

---

Insbesondere der Umgang mit Trace-Befunden verbleibt noch immer unklar (Peralta & Cavalcanti, 2018). Clements et al. konnten mittels latenter Klassenanalyse zeigen, dass nur bei etwa der Hälfte (52,2 %) der Trace-Befunde eine tatsächliche Infektion vorlag (Clements et al., 2018). Somit verbleibt bei einer Wertung als positives Testergebnis die Möglichkeit einer Fehldiagnose, während eine Wertung als negatives Testergebnis die Krankheit unentdeckt lassen könnte. Auch in dieser Arbeit, in der bei 62,1 % der positiven CCA-Schnelltests ein Trace-Befund vorlag, wurden die Untersuchenden vor Herausforderungen hinsichtlich der diagnostischen Aussagekraft dieser Resultate gestellt. Nicht zuletzt aus diesem Grund wurden zur Diagnosesicherung weitere Testverfahren hinzugezogen, wie es auch der Hersteller der verwendeten Urin-Schnelltests empfiehlt. Die Mikroskopie von Stuhl- und Urinproben gilt dabei aufgrund der hohen Spezifität als Goldstandard, jedoch zeigen sich deutliche Defizite hinsichtlich der Sensitivität, die sich je nach Autor zwischen 40 bis 60 % bewegt (Beltrame, Buonfrate, et al., 2017). Trotz höhergradigem G-Score, konnte keine der in dieser Studie mikroskopierten Proben, welche von den Bewohnenden der Würzburger Gemeinschaftsunterkünfte für Geflüchtete gewonnen wurden, einen Ei-Nachweis erbringen und damit nicht zur Diagnosesicherung beitragen. Anzumerken ist, dass eine geringe Probenanzahl (12 Urinproben, 7 Stuhlproben) vorlag und die Diagnostik von der Erfahrung des Untersuchenden abhängig ist und somit die Möglichkeit falsch-negativer Mikroskopiebefunde nicht auszuschließen ist.

Als Erklärungsversuch für die hohe Anzahl an Trace-Befunden, wurde das Verfälschen der Testergebnisse durch eine vorliegende Leukozyturie oder Hämaturie in Betracht gezogen, wie es auch mehrfach in der Literatur vorbeschrieben ist und worauf durch den Hersteller der Schnelltests hingewiesen wird (Ferreira et al., 2017; Greter et al., 2016; Homsana et al., 2020; *Rapid Medical Diagnostics*, o. J.). Insgesamt wurde im Rahmen dieser Studie bei 31,5 % der CCA-Positiven eine Leukozyturie nachgewiesen, jedoch konnte entgegen den Ergebnissen der Vorpublikationen kein statistisch signifikanter Zusammenhang zwischen den Befunden im Urin-Streifentest und dem CCA-Testergebnis festgestellt werden. Gleiches galt für das Vorliegen einer Hämaturie und Proteinurie. Das vermehrte Auftreten falsch-positiver Befunde im CCA-Schnelltest aufgrund eines

---

Harnwegsinfektes konnte demnach nicht bestätigt werden. Auffällig war in diesem Zusammenhang der generell hohe Anteil an Leukozyturien bei 69,5% der Gescreenten. Eine mögliche Erklärung hierfür könnte darin bestehen, dass während der Urinabgabe kein Mittelstrahlurin verwendet wurde und die Probe somit kontaminiert war. Die abschließende Klärung dieser Gegebenheit verbleibt jedoch unbeantwortet.

Die Bestimmung der Serologie mittels ICT, welcher auf den Nachweis von sowohl IgM- als auch IgG-Antikörpern ausgelegt ist, erbrachte bei 14,3 % der CCA-Positiven einen Nachweis. Vor dem Hintergrund der Herkunft aus Hoch- bzw. Mittelprävalenzgebieten Afrikas warf dieses Ergebnis Fragen hinsichtlich der Aussagekraft dieses Schnelltests auf, da davon ausgegangen wurde, dass im Laufe des Lebens der Teilnehmenden mit hoher Wahrscheinlichkeit bereits ein Kontakt mit Schistosomen stattgefunden haben müsste und somit zumindest IgG-Antikörper nachzuweisen sein sollten. Dies wird ebenfalls durch eine amerikanische Vorpublikation nahegelegt, in der von 2000 Serum-Proben somalischer Geflüchteter (welche auch in dieser Studie mit 47,6 % den Hauptanteil der Teilnehmenden ausmachten) zufällig 100 Proben ausgewählt und einer Serologie-Diagnostik unterzogen wurden. Dabei zeigte sich bei insgesamt 73% ein positiver Antikörper-Nachweis für *S. mansoni* im FAST-ELISA oder im *S. haematobium*-Immunoblot (Posey et al., 2007). Andere Studienergebnisse hingegen ermittelten zum Teil deutlich niedrigere Seroprävalenzen unter afrikanischen Geflüchteten von 41,0 % (Gibney et al., 2009), 27,6 % (Beltrame, Buonfrate, et al., 2017), 22 % (Seybolt et al., 2006) und 11 % (Caruana et al., 2006). Es ist zu beachten, dass diese Ergebnisse auf Studienpopulationen zutrafen, die nicht wie in dieser Arbeit durch ein anderes Testverfahren vorselektioniert wurden. Hier erhielten nur diejenigen Teilnehmenden eine serologische Testung, welche zuvor durch einen positiven CCA-Schnelltest aufgefallen waren. Aus den Ergebnissen von Neumayr et al. geht hervor, dass bei 52,6 % der CCA-Positiven auch eine positive Serologie vorlag (Neumayr et al., 2019), was deutlich über dem hier erhaltenen Ergebnis liegt.

Nach Kenntnis des PCR-Ergebnisses konnte auf der Basis, dass das Verfahren in dieser Arbeit als Referenzstandard für richtig-positive Testergebnisse angesehen wurde, die diagnostische Aussagekraft des CCA-Schnelltests und dessen Kombination mit dem ICT

---

evaluiert werden. Die Entscheidung, die molekularbiologische Diagnostik hier als Referenzstandard zu wählen, beruht unter anderem auf der Überlegenheit gegenüber der Serologie und auch der Mikroskopie (Clerinx et al., 2011). Weiterhin lässt sich aus den Studien mehrerer Autoren ableiten, dass der Nachweis frei-zirkulierender Schistosomen-DNA mittels PCR sehr gut geeignet ist, um auch eine leichte Infektion mit niedriger Parasitenlast sicher zu detektieren (Al-Shehri et al., 2018; Hasby Saad & Watany, 2018; Hussein et al., 2012; Kato-Hayashi et al., 2015) und somit als hochsensitiv und -spezifisch anzusehen ist (vgl. auch Punkt 1.6.4, S.16). Im Gegensatz dazu ist bekannt, dass der POC-CCA niedrige Parasitenlasten möglicherweise nicht gut detektieren kann (Peralta & Cavalcanti, 2018; Siqueira et al., 2016) und somit falsch-negative Ergebnisse resultieren können.

Diskussionswürdig ist die Entscheidung, ein PCR-Ergebnis dann als positiv zu werten, wenn eine DNA-Amplifikation innerhalb des Schwellenwertes von 36 Zyklen ( $C_t < 36$ ) erreicht wurde. Zu dieser Entscheidung trugen bisher veröffentlichte Daten bei, welche mit Hilfe des gleichen wie auch in dieser Arbeit verwendeten Geräts ermittelt wurden und die eine niedrige Parasitenlast mit steigendem  $C_t$ -Wert  $> 30$  belegen konnten (Fuss et al., 2018) und einen PCR-Test als positiv ansahen, sofern eine DNA-Amplifikation innerhalb von 38 Zyklen ( $C_t < 38$ ) stattfand (Fuss et al., 2020a). In anderen Arbeiten wurde ermittelt, dass eine Menge von 0,02 Schistosomen-Eiern/ml Serum einem  $C_t$ -Wert von 36,4 entspricht (Espírito-Santo et al., 2014) und Stuhlproben, in welchen mikroskopisch keine Schistosomen-Eier zu detektieren sind, einen medianen  $C_t$ -Wert von 35,4 aufweisen (ten Hove et al., 2008).

Zwar beruht der gewählte Schwellenwert somit auf wissenschaftlichen Erkenntnissen, die zweifeln lassen, ob ab einem  $C_t$ -Wert  $> 36$  noch eine floride, behandlungsbedürftige Infektion besteht. Die Festlegung bleibt dennoch als teilweise willkürlich zu betrachten. Die Wahl dieses Schwellenwertes beeinflusst darüber hinaus direkt die hier ermittelten Ergebnisse. Wäre ein Schwellenwert von  $C_t = 38$  oder  $C_t = 40$  gewählt worden, hätte dies zu mehr Positiv-Getesteten im Referenzstandard geführt, was wiederum die Zahl der richtig-positiv-Rate von CCA-Test und ICT, sowie die ermittelte Prävalenz erhöht hätte.

Die Krankheitshäufigkeit der Schistosomiasis in Würzburger Gemeinschaftsunterkünften von 3,9 % (ermittelt durch PCR-Testung) wurde als wahre Prävalenz angesehen. Es zeigte sich, dass durch den alleinigen Einsatz des CCA-Schnelltests die wahre Prävalenz um ca. 23 % überschätzt wurde, während die Kombination von CCA-Test und ICT einen mit 3,8 % nahezu identischen Wert lieferte. Auffallend ist somit in erster Linie der große Anteil von insgesamt 23/27 falsch-positiven CCA-Urinschnelltests mit einem  $PPW_{CCA}$  von nur 14,8 %. Wichtig in diesem Kontext erscheint die Tatsache, dass die positiven CCA-Befunde dieser Arbeit zu einem ebenfalls großen Anteil von 82,8 % einem Trace- bzw. +1-Befund entsprachen. Dass dies insbesondere in schwach endemischen Gebieten zu beobachten ist und eng mit falsch-positiven Befunden zusammenzuhängen scheint, zeigten bisher mehrere veröffentlichte Publikationen (Coelho et al., 2016; Haggag et al., 2019; Peralta & Cavalcanti, 2018). Beispielsweise ermittelten Siqueira et al. einen Abfall der Positiv-Rate des POC-CCA-Tests von 22,7 % auf 2,1 %, nachdem die Trace-Befunde als negativ angesehen wurden (Siqueira et al., 2016). Dennoch bleibt festzuhalten, dass in dieser Arbeit eine (1) Person mit einem G-Score von 3, was per definitionem einem Trace-Befund entspricht, nachträglich einen molekularbiologisch gesicherten DNA-Nachweis lieferte.

Die in dieser Arbeit ermittelte Schistosomiasis-Prävalenz von 3,9 % erscheint gegenüber den Ergebnissen von Chernet et al. und Beltrame et al. vergleichsweise niedrig. Hier konnte bei 21,5 % bzw. 17,6 % der untersuchten afrikanischen Geflüchteten ein Ei-Nachweis erbracht werden, womit eine floride Schistosomiasis bewiesen werden konnte (Beltrame, Buonfrate, et al., 2017; Chernet et al., 2018). Hingegen konnte in 331 Stuhlproben von in die USA geflüchteten somalischen Barawan kein einziger *S. mansoni*-Ei-Nachweis gelingen und in nur 2 % von 118 Urinproben ein *S. haematobium*-Ei nachgewiesen werden (Wilson et al., o. J.), was die in dieser Arbeit ermittelte Zahl realistischer erscheinen lässt. Auch wenn gezeigt werden konnte, dass die Aufenthaltsdauer der hier gescreenten Population keinen Einfluss auf das CCA-Testergebnis hat, bleibt zu beachten, dass es sich um Mindestaufenthaltsdauern in der Würzburger Gemeinschaftsunterkunft handelte und die genaue Aufenthaltsdauer in Deutschland bzw. Europa nicht zu eruieren war. Da die Gescreenten sich somit



---

möglichweise schon mehrere Jahre außerhalb ihres Endemiegebiets aufhalten, ist in Anbetracht der mittleren Überlebensdauer von 3-5 Jahren die Möglichkeit zu bedenken, dass die Würmer bereits abgestorben waren, nie zuvor diagnostiziert wurden und sich somit auch der hier durchgeführten Testung entzogen. Demgegenüber steht der fehlende Antikörper-Nachweis durch den ICT bei nur 14,3 % der Getesteten, da es schlüssig erscheint, dass der dekrementale Zerfall der Parasiten und die daraus freiwerdenden Überreste das Immunsystem und somit die Antikörperproduktion über eine längere Zeit stimulieren sollten. Es existieren Studien, welche noch 30 Monate nach erfolgter Therapie mit Praziquantel Schistosomen-Antikörper nachweisen konnten (Yong et al., 2010), genaue Daten über die Dauer der durchschnittlichen Persistenz im menschlichen Organismus wurden allerdings nicht gefunden. Zusammenfassend bleibt bezüglich dieses Aspekts unklar, ob die Antikörper bereits nicht mehr persistent waren, die Teilnehmenden mit negativem ICT tatsächlich noch nie mit Schistosomen in Kontakt gekommen sind oder ob die Antikörper-Tests zum Teil falsch-negative Ergebnisse lieferten. Festzuhalten bleibt, dass hier bei nur 4,3 % der Untersuchten ein falsch-negatives ICT-Ergebnis vorlag. Dabei bleibt allerdings zu beachten, dass für die endgültige Evaluation des ICT bzgl. falsch-negativer Ergebnisse die gesamte Studienpopulation untersucht werden müsste und nicht nur diejenigen mit CCA-Nachweis.

Den Diagnose-Sicherungskriterien entsprechend (s. Punkt 2.3, S. 32) wurden insgesamt 5 Teilnehmende einer Therapie mittels Praziquantel zugeführt. Durch endgültige Sicherung mit Hilfe der PCR-Diagnostik bestätigte sich, dass 4 der 5 Therapierten (80%) in der Tat von einer Schistosomiasis betroffen waren. Wäre die Indikation zur Therapie allein auf der Grundlage eines positiven CCA-Schnelltests getroffen worden, läge der Anteil an unnötig therapierten Teilnehmenden bei 86,2 % (25/29), was die Notwendigkeit zusätzlicher diagnostischer Maßnahmen unterstreicht. Durch Kombination mit einem serologischen Schnelltest auf Antikörper (hier: ICT) wurde im Rahmen dieser Arbeit im Vergleich nur 1/5 (20 %) der Teilnehmenden unnötig therapiert. Anzumerken ist dabei, dass die Fallzahl, auf welcher diese Zahlenwerte beruhen, insgesamt gering ausfiel und die Aussagekraft somit als limitiert anzusehen ist. Dennoch kann tendenziell von einem klar positiven Einfluss auf die Wahrscheinlichkeit

---

eines richtig-positiven Testergebnisses durch die Kombination von CCA-Test und ICT ausgegangen werden. Die Vorteile des CCA liegen in der einfachen Handhabung ohne die Notwendigkeit von Laborausrüstung und der günstigen Anschaffungskosten, wodurch er für die mobile Diagnostik gut geeignet ist. Auch der ICT ist im Vergleich zur PCR-Testung als äußerst kostengünstig anzusehen und lieferte in dieser Arbeit weitestgehend verlässliche Ergebnisse. Allerdings wird für die korrekte Durchführung eine Zentrifuge benötigt, um die zuvor gewonnenen Blutproben zu bearbeiten, was die Anwendbarkeit dieses Testverfahrens in bestimmten Situationen limitiert. Außerdem kann nicht sicher zwischen einer aktiven und einer stattgehabten Infektion unterschieden werden.

#### **4.1.3 DNA-Kinetik**

Die Erstellung und Auswertung der Schistosomen-DNA-Kinetik bestätigte die Hypothese indem gezeigt werden konnte, dass eine Praziquantel-Gabe bei allen therapierten Personen einen zwischen 3 und 7 Tage später eingetretenen, signifikanten Anstieg der Schistosomen-DNA-Konzentration im Serum zur Folge hatte. Der weitere Verlauf war im Durchschnitt von einem kontinuierlichen Abfall der  $C_t^{-1}$ -Werte und damit indirekt der reduzierten Menge an frei-zirkulierender Schistosomen-DNA geprägt. Vergleichbare Ergebnisse wurden kürzlich auch durch Untersuchungen am Viktoriasee in Tansania geliefert, wobei ein Abfall des  $C_t$ -Wertes eine Woche nach erfolgter Therapie beobachtet wurde (Fuss et al., 2020b). Im Unterschied zu dieser in einem Hochprävalenzgebiet durchgeführten Studie hielten sich die hier Therapierten während des Follow-ups in keinem Endemiegebiet der Schistosomiasis auf, weshalb eine Reinfektion ausgeschlossen werden kann. Der hier gewählte Schwellenwert von  $C_t = 36$  wurde im Durchschnitt nach 48 Tagen erreicht (vgl. Abbildung 21), wonach, laut den in dieser Arbeit festgelegten Kriterien, keine behandlungsbedürftige Infektion mehr vorlag. Werden die Therapierten individuell betrachtet, ist erkennbar, dass bei einer Person (Person 3, vgl. Abbildung 19) ein erneuter Anstieg des  $C_t^{-1}$ -Wertes zwischen Tag 28 und Tag 56 auftrat. Die Gründe hierfür erscheinen zunächst fraglich, da die restlichen Ergebnisse eine kontinuierliche Abnahme der Zerfallsprodukte zeigten. Eine mögliche Erklärung könnte in einer nicht fachgerechten Einnahme von Praziquantel liegen, was

---

auch durch die nur relativ diskrete Änderung zum Ausgangs- $C_t$ -Wert an Tag 0 suggeriert wird ( $C_{t0} = 31,0$  ;  $C_{t56} = 31,5$ ). Allerdings wäre in diesem Fall ein ebenfalls ausbleibender Anstieg der DNA-Konzentration zwischen Tag 0 und 3 zu erwarten gewesen, welcher jedoch eintrat. Auch die Möglichkeit einer unpräzisen Probenbearbeitung muss in Betracht gezogen werden, da das Ergebnis der PCR-Diagnostik schon durch kleinste Ungenauigkeiten beeinflusst werden kann. Nicht zuletzt sollte an dieser Stelle ein vermeintliches Therapieversagen diskutiert werden. Resistenzen gegen Praziquantel, sowie verminderte Heilungsraten nach dessen Applikation wurden des Öfteren vorbeschrieben und die Erforschung neuer Behandlungsalternativen wird von mehreren Autoren als dringlich erachtet (Doenhoff et al., 2008; Vale et al., 2017; W. Wang et al., 2012). Dass einer der Wirkmechanismen von Praziquantel darin besteht, die Ei-Freisetzung aus dem Gewebe zu inhibieren (W. Wang et al., 2012) und damit die Ei-Ausscheidung zu reduzieren, wurde bereits mehrfach dargelegt (Olliaro et al., 2015; Utzinger et al., 2000; Woldegerima et al., 2019). Der unzureichende DNA-Abfall von Person 3 könnte jedoch auf die DNA-Freisetzung von im Gewebe persistierenden Eiern zurückzuführen sein. Da die Mikroskopie der Stuhl- bzw. Urinproben hier schon vor der Therapie keinen Ei-Nachweis erbringen konnte, stellt sich in diesem Zusammenhang weiterhin die Frage nach der direkten Wirksamkeit des Medikaments auf im Organismus befindliche Eier und wie dies überprüft werden kann. Ältere Studien berichten von einer unvollständigen Abtötung der Schistosomen-Eier bei infizierten Mäusen (Matsuda et al., 1983; Richards et al., 1989), aktuelle Fachliteratur zu dieser Thematik wurde jedoch nicht gefunden. Zwar wäre es möglich, mit den Exkrementen ausgeschiedene Eier, die sich der Mikroskopie entziehen, mittels PCR zu detektieren. Eine Aussage über deren Vitalität ließe sich jedoch nicht treffen. Hierfür könnten zukünftig spezifische DNA-Marker oder Antikörper-Tests, welche auf die Detektion vitaler Eier ausgelegt sind zum Einsatz kommen.

Durch Auswertung der vorliegenden Daten konnte eine mathematische Gesetzmäßigkeit ermittelt werden, welche es erlaubt, den Zeitpunkt für das Erreichen eines bestimmten Schwellenwertes zu bestimmen, welcher eine Aussage über eine therapiebedürftige Infektion zulässt. Dieser lag hier bei 48 Tagen, während die

---

Detektionsgrenze (hier:  $C_t = 40$ ) extrapoliert nach 163 Tagen erreicht wird. Dabei ist anzumerken, dass die Datengrundlage, auf der diese Funktion errechnet wurde, mit 15 ausgewerteten Proben gering war und sie somit als nur eingeschränkt gültig angesehen werden sollte. Im Gegensatz zu den hier erhaltenen Ergebnissen wurde in einer methodisch zum Teil vergleichbaren Arbeit ein Abfall von frei-zirkulierender Schistosomen-DNA unter die Detektionsgrenze nach 82 - 120 Wochen nach der Behandlung gezeigt (Wichmann et al., 2009). Dies liegt deutlich über den hier erhaltenen Werten, allerdings wurden die Beobachtungen an einer ebenfalls geringen Probandenzahl von  $n = 14$  gemacht und zudem wurde von jedem der Teilnehmenden nur eine einzige Probe zu einem zuvor nicht klar definierten Zeitpunkt gewählt.

Die Ergebnisse dieser Arbeit verdeutlichen trotz der geringen Datengrundlage, dass eine hohe prätherapeutische Wurmlast, hier als Korrelat in Form eines niedrigen  $C_t$ -Wertes gemessen, zu einer längeren Persistenz der Parasiten-Überreste im menschlichen Organismus führt. Diese Kenntnis könnte unter dem Aspekt der Therapiekontrolle Eingang in die praktische, klinische Anwendung finden. Je nach Ausgangs-Wurmlast (gemessen in Form eines korrelierenden  $C_t$ -Wertes), wäre es möglich den ungefähren Zeitpunkt zu ermitteln, zu dem keine therapiebedürftige Infektion mehr vorliegt ( vgl. Punkt 3.5.1, S.61). Sollte hier kein klarer Unterschied in Form eines höheren  $C_t$ -Wertes im Vergleich zum Ausgangswert erkennbar sein, kann von einer noch immer therapiebedürftigen Infektion ausgegangen werden. Ob diese aufgrund eines Therapieversagens oder - sofern in Endemiegebieten durchgeführt - einer Reinfektion vorliegt, lässt sich durch diese Methodik nicht abschließend klären. Ferner soll nicht unberücksichtigt bleiben, dass die Anwendung oder gar Etablierung der teuren und aufwendigen PCR-Diagnostik in Entwicklungsländern, welche überwiegend von der Schistosomiasis betroffen sind, schwierig zu bewerkstelligen sein dürfte.

## 4.2 Empfehlungen und Fazit

Die Kombination von CCA-Test und ICT bietet eine kostengünstige und einfach durchführbare Möglichkeit, eine in einem Nicht-Risikogebiet lebende Population mit unbekannter Schistosomiasis-Prävalenz zu screenen. Die Bewertung von Trace-Befunden im CCA-Schnelltests als negatives Testergebnis bietet eine zusätzlich erhöhte Diagnosesicherheit. Ein geringes Risiko für das Verkennen einer tatsächlichen Infektion bleibt dadurch jedoch bestehen. Die Beeinflussung der CCA-Testergebnisse durch eine Hämaturie kann dabei in Anbetracht der hier erhaltenen Ergebnisse vernachlässigt werden. Es zeigte sich, dass die Stuhl- bzw. Urinmikroskopie für das Screening einer Risikopopulation, welche zwar aus einem Hochprävalenzgebiet stammt, sich dort aber nicht mehr aufhält, eher ungeeignet ist. Dies ist sowohl in der geringen Sensitivität dieser Diagnostik begründet, als auch in der Beschaffung der Proben, was sich hier als erschwert gestaltete. Sofern zur Verfügung stehend, kann stattdessen die PCR-Diagnostik als Referenzstandard herangezogen werden. Für individuelle Therapieentscheidungen, insbesondere im Rahmen der Diagnostizierung symptomatischer, einzelner Patienten, sollte die Urin- und Stuhlmikroskopie nichtsdestotrotz weiterhin als Goldstandard dienen.

Es zeigte sich, dass die Prävalenz stark von der jeweils gewählten Diagnostik abhängig ist und die Gefahr besteht, dass die Beschränkung auf einzelne Testverfahren eine zum Teil deutlich überschätzte Prävalenz zur Folge haben kann. Insgesamt ist die Prävalenz in Würzburger Gemeinschaftsunterkünften im Vergleich zu anderen Publikationen als gering anzusehen und wirft Fragen über eine mögliche Selbstlimitation der Erkrankung auf, sofern die Betroffenen für eine gewissen Zeit vor einer Reinfektion geschützt sind, beispielsweise durch den Aufenthalt in einem Nicht-Endemiegebiet. Wird die PCR zur erweiterten Diagnostik herangezogen, nimmt die Wahl des  $C_t$ -Schwellenwertes dabei direkten Einfluss auf nachfolgende Erkenntnisse, da je nach dessen Festlegung mehr oder weniger Personen als positiv oder negativ angesehen werden. Weiterhin wird auch die Güte der anderen eingesetzten Testverfahren hierdurch bewertet.

Die Erstellung der DNA-Kinetik lieferte wichtige Erkenntnisse über den posttherapeutischen Verlauf einer Schistosomiasis und es konnte gezeigt werden, dass

in Gebieten, in denen eine Reinfektion ausgeschlossen ist, nach ca. 50 Tagen ein nicht mehr behandlungsbedürftiges Stadium vorliegen sollte. Ein erneuter Anstieg des  $C_t$ -Wertes sollte hingegen auf ein Therapieversagen oder eine Reinfektion aufmerksam machen. Das hier angewandte Grundprinzip und die Methodik können dazu dienen, die gewonnenen Erkenntnisse in nachfolgenden Studien zu präzisieren, indem größere Fallzahlen und Daten generiert werden.

Die mangelnde Compliance der Teilnehmenden dieses Projekts ist in diesem Zusammenhang als einer der Gründe für reduzierte Probenanzahlen und somit einer überschaubaren Datengrundlage anzusehen. Künftige Studien dieser Art sollten daher Strategien entwickeln, wie die Teilnehmenden besser für das Screening kanalisiert werden können und wie die Einhaltung der Follow-up Termine gewährleistet werden kann. Eine Möglichkeit sieht der Autor in der Reduktion der Blutentnahmen, welche auf die Abnahme an Tag 0, 3 bzw. 7 und 56 beschränkt werden könnten. Durch den Anstieg des  $C_t$ -Wertes an Tag 3 bzw. 7 kann ein Zerfall von Schistosomen-Material bestätigt werden, während der spätere Zeitpunkt als Therapiekontrolle dienen könnte. Darüber hinaus kann zur Förderung der Compliance eine Aufwandsentschädigung für die Teilnehmenden erwogen werden. Hier erhielten die Teilnehmenden keine Vergütung und nahmen freiwillig am Follow-up teil, profitierten jedoch von der Therapie einer bisher unentdeckt gebliebenen Krankheit. Die Ziele dieser Arbeit (vgl. Punkt 1.7, S.17) können abschließend als erreicht angesehen werden.

## 5 ZUSAMMENFASSUNG

In dieser Arbeit wurden Bewohner/-innen der Würzburger Gemeinschaftsunterkünfte für Geflüchtete auf das Vorliegen einer Schistosomiasis gescreent. Lag eine behandlungsdürftige Infektion vor, wurden die Teilnehmenden mit Praziquantel behandelt, um im nachfolgenden Verlauf freiwillig an der Erstellung einer Schistosomen-DNA-Kinetik mitzuwirken. Eine Besonderheit der Studie lag dabei in der fehlenden Möglichkeit einer Reinfektion, da sich die Betroffenen während des Follow-ups in einem Endemie-freien Gebiet aufhielten. Im Zuge des Screening-Programms wurde weiterhin der Einsatz verschiedener diagnostischer Verfahren evaluiert. Außerdem trugen die Erkenntnisse zur Bestimmung der Prävalenz der Schistosomiasis in der genannten Gemeinschaftsunterkunft bei. Für das Screening kamen ein CCA-Urin-Schnelltest sowie ein ICT zum Einsatz. Die Diagnosesicherung wurde durch die Mikroskopie oder die qPCR angestrebt. Für die Evaluation der Verfahren wurde die qPCR als Referenzstandard gesetzt. Es zeigte sich, dass die Kombination von CCA-Test und ICT einen positiven prädiktiven Wert von 80 % für das tatsächliche Vorliegen einer Schistosomen-Infektion liefert, während die Mikroskopie für das Screening vergleichbarer Personengruppen als eher ungeeignet anzusehen ist. Die Schistosomiasis-Prävalenz der hier untersuchten, in einem Nicht-Endemiegebiet lebenden Risikopopulation, wurde auf 3,9 % bestimmt und ist im Vergleich zu bisherigen Veröffentlichungen als niedrig anzusehen. Dabei ist zu beachten, dass die Prävalenz zum Teil deutlich überschätzt werden kann, sofern der CCA-Urin-Schnelltest als alleiniges Diagnosekriterium eingesetzt wird (Prävalenz<sub>CCA</sub> = 27,6 %). Die Erstellung der DNA-Kinetik mittels qPCR zeigte, dass die Behandlung mit Praziquantel einen nach 3 Tagen messbaren, signifikanten ( $p < 0,05$ ) Anstieg der DNA-Konzentration im Serum zur Folge hatte, welcher im weiteren Verlauf kontinuierlich abfiel. Im Mittel wurde nach 48 Tagen der Schwellenwert der DNA-Konzentration unterschritten, der ohne vorausgegangene Behandlung als positiv und therapiebedürftig gewertet worden wäre. Durch Inter- und Extrapolation der gewonnenen Daten, konnte eine Funktion errechnet werden, die den zeitlichen Verlauf des Zerfalls der Schistosomen-DNA beschreibt und somit zur Ermittlung weiterer Therapie- und Kontrollmöglichkeiten der Schistosomiasis beitragen kann.

## 6 LITERATURVERZEICHNIS

- Abou-El-Naga, I. F. (2018). Towards elimination of schistosomiasis after 5000 years of endemicity in Egypt. *Acta Tropica*, *181*, 112–121. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2018.02.005>
- Achtmann, J. (2012). *Der Schutz des Probanden bei der klinischen Arzneimittelprüfung: Unter besonderer Berücksichtigung der Haftung der Beteiligten und der Probandenversicherung*. Springer-Verlag.
- Adenowo, A. F., Oyinloye, B. E., Ogunyinka, B. I., Kappo, A. P., Adenowo, A. F., Oyinloye, B. E., Ogunyinka, B. I., & Kappo, A. P. (2015). Impact of human schistosomiasis in sub-Saharan Africa. *Brazilian Journal of Infectious Diseases*, *19*(2), 196–205. <https://doi.org/10.1016/j.bjid.2014.11.004>
- Al-Shehri, H., Koukounari, A., Stanton, M. C., Adriko, M., Arinaitwe, M., Atuhaire, A., Kabatereine, N. B., & Stothard, J. R. (2018). Surveillance of intestinal schistosomiasis during control: A comparison of four diagnostic tests across five Ugandan primary schools in the Lake Albert region. *Parasitology*, 1–8. <https://doi.org/10.1017/S003118201800029X>
- Asundi, A., Beliaevsky, A., Liu, X. J., Akaberi, A., Schwarzer, G., Bisoffi, Z., Requena-Méndez, A., Shrier, I., & Greenaway, C. (2019). Prevalence of strongyloidiasis and schistosomiasis among migrants: A systematic review and meta-analysis. *The Lancet Global Health*, *7*(2), e236–e248. [https://doi.org/10.1016/S2214-109X\(18\)30490-X](https://doi.org/10.1016/S2214-109X(18)30490-X)
- Bauerfeind, R. (2013). *Zoonosen: Von Tier zu Mensch übertragbare Infektionskrankheiten*. Deutscher Ärzteverlag.
- Bärenbold, O., Raso, G., Coulibaly, J. T., N’Goran, E. K., Utzinger, J., & Vounatsou, P. (2017). Estimating sensitivity of the Kato-Katz technique for the diagnosis of *Schistosoma mansoni* and hookworm in relation to infection intensity. *PLOS Neglected Tropical Diseases*, *11*(10), e0005953. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0005953>
- Beltrame, A., Buonfrate, D., Gobbi, F., Angheben, A., Marchese, V., Monteiro, G. B., & Bisoffi, Z. (2017). The hidden epidemic of schistosomiasis in recent African immigrants and asylum seekers to Italy. *European Journal of Epidemiology*, *32*(8), 733–735. <https://doi.org/10.1007/s10654-017-0259-6>
- Beltrame, A., Guerriero, M., Angheben, A., Gobbi, F., Requena-Mendez, A., Zammarchi, L., Formenti, F., Perandin, F., Buonfrate, D., & Bisoffi, Z. (2017). Accuracy of parasitological and immunological tests for the screening of human schistosomiasis in immigrants and refugees from African countries: An approach



- with Latent Class Analysis. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 11(6), e0005593. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0005593>
- Bergquist, R., Kloos, H., & Adugna, A. (2016). Schistosomiasis: Paleopathological Perspectives and Historical Notes. In B. Jamieson (Hrsg.), *Schistosoma* (S. 9–33). CRC Press. <https://doi.org/10.1201/9781315368900-3>
- Bezerra, F. S. M., Leal, J. K. F., Sousa, M. S., Pinheiro, M. C. C., Ramos, A. N., Silva-Moraes, V., & Katz, N. (2018). Evaluating a point-of-care circulating cathodic antigen test (POC-CCA) to detect *Schistosoma mansoni* infections in a low endemic area in north-eastern Brazil. *Acta Tropica*, 182, 264–270. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2018.03.002>
- Bilharz, T. (1852). *Ein Beitrag Zur Helminthographia Humana: Aus Brieflichen Mittheilungen Des Dr. Bilharz in Cairo, Nebst Bemerkungen Von Prof. C. Th. V. Siebold in Breslau*. W. Engelmann.
- Birch, C. A. (1974). *Schistosoma mansoni*. Sir Patrick Manson, 1844-1922. *The Practitioner*, 213(1277), 730–732.
- Boissier, J., Grech-Angelini, S., Webster, B. L., Allienne, J.-F., Huyse, T., Mas-Coma, S., Toulza, E., Barré-Cardi, H., Rollinson, D., Kincaid-Smith, J., Oleaga, A., Galinier, R., Foata, J., Rognon, A., Berry, A., Mouahid, G., Henneron, R., Moné, H., Noel, H., & Mitta, G. (2016). Outbreak of urogenital schistosomiasis in Corsica (France): An epidemiological case study. *The Lancet Infectious Diseases*, 16(8), 971–979. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(16\)00175-4](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(16)00175-4)
- Boissier, J., Moné, H., Mitta, G., Bargues, M. D., Molyneux, D., & Mas-Coma, S. (2015). Schistosomiasis reaches Europe. *The Lancet Infectious Diseases*, 15(7), 757–758.
- Bourée, P., & Caumes, E. (2004). [Cercarial dermatitis]. *Presse Medicale (Paris, France: 1983)*, 33(7), 490–493. [https://doi.org/10.1016/s0755-4982\(04\)98638-1](https://doi.org/10.1016/s0755-4982(04)98638-1)
- Braun, L., Grimes, J. E. T., & Templeton, M. R. (2018). The effectiveness of water treatment processes against schistosome cercariae: A systematic review. *PLOS Neglected Tropical Diseases*, 12(4), e0006364. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0006364>
- Brooker, S. (2007). Spatial epidemiology of human schistosomiasis in Africa: Risk models, transmission dynamics and control. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 101(1), 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.trstmh.2006.08.004>
- Campbell, S. J., Savage, G. B., Gray, D. J., Atkinson, J.-A. M., Soares Magalhães, R. J., Nery, S. V., McCarthy, J. S., Velleman, Y., Wicken, J. H., Traub, R. J., Williams, G. M., Andrews, R. M., & Clements, A. C. A. (2014). Water, Sanitation, and Hygiene

- (WASH): A Critical Component for Sustainable Soil-Transmitted Helminth and Schistosomiasis Control. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 8(4).  
<https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0002651>
- Caruana, S. R., Kelly, H. A., Ngeow, J. Y. Y., Ryan, N. J., Bennett, C. M., Chea, L., Nuon, S., Bak, N., Skull, S. A., & Biggs, B.-A. (2006). Undiagnosed and Potentially Lethal Parasite Infections Among Immigrants and Refugees in Australia. *Journal of Travel Medicine*, 13(4), 233–239.  
<https://doi.org/10.1111/j.1708-8305.2006.00045.x>
- Casacuberta-Partal, M., Hoekstra, P. T., Kornelis, D., van Lieshout, L., & van Dam, G. J. (2019). An innovative and user-friendly scoring system for standardised quantitative interpretation of the urine-based point-of-care strip test (POC-CCA) for the diagnosis of intestinal schistosomiasis: A proof-of-concept study. *Acta Tropica*, 199, 105150. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2019.105150>
- CDC Schistosomiasis - FAQs. (2019, April 22).  
[https://www.cdc.gov/parasites/schistosomiasis/gen\\_info/faqs.html](https://www.cdc.gov/parasites/schistosomiasis/gen_info/faqs.html)
- Chabasse, D., Bertrand, G., Leroux, J. P., Gauthey, N., & Hocquet, P. (1985). Developmental bilharziasis caused by *Schistosoma mansoni* discovered 37 years after infestation. *Bulletin de la Societe de pathologie exotique et de ses filiales*, 78(5), 643–647.
- Chernet, A., Kling, K., Sydow, V., Kuenzli, E., Hatz, C., Utzinger, J., van Lieshout, L., Marti, H., Nickel, B., Labhardt, N. D., & Neumayr, A. (2017). Accuracy of Diagnostic Tests for *Schistosoma mansoni* Infection in Asymptomatic Eritrean Refugees: Serology and Point-of-Care Circulating Cathodic Antigen Against Stool Microscopy. *Clinical Infectious Diseases*, 65(4), 568–574. <https://doi.org/10.1093/cid/cix366>
- Chernet, A., Neumayr, A., Hatz, C., Kling, K., Sydow, V., Rentsch, K., Utzinger, J., Probst-Hensch, N., Marti, H., Nickel, B., & Labhardt, N. D. (2018). Spectrum of infectious diseases among newly arrived Eritrean refugees in Switzerland: A cross-sectional study. *International Journal of Public Health*, 63(2), 233–239.  
<https://doi.org/10.1007/s00038-017-1034-x>
- Cioli, D., Pica-Mattocchia, L., Basso, A., & Guidi, A. (2014). Schistosomiasis control: Praziquantel forever? *Molecular and Biochemical Parasitology*, 195(1), 23–29.  
<https://doi.org/10.1016/j.molbiopara.2014.06.002>
- Clements, M. N., Corstjens, P. L. A. M., Binder, S., Campbell, C. H., de Dood, C. J., Fenwick, A., Harrison, W., Kayugi, D., King, C. H., Kornelis, D., Ndayishimiye, O., Ortu, G., Lamine, M. S., Zivieri, A., Colley, D. G., & van Dam, G. J. (2018). Latent class analysis to evaluate performance of point-of-care CCA for low-intensity *Schistosoma mansoni* infections in Burundi. *Parasites & Vectors*, 11(1), 111.  
<https://doi.org/10.1186/s13071-018-2700-4>

- Clerinx, J., Bottieau, E., Wichmann, D., Tannich, E., & Van Esbroeck, M. (2011). Acute Schistosomiasis in a Cluster of Travelers From Rwanda: Diagnostic Contribution of Schistosome DNA Detection in Serum Compared to Parasitology and Serology. *Journal of Travel Medicine*, 18(6), 367–372. <https://doi.org/10.1111/j.1708-8305.2011.00552.x>
- Cnops, L., Soentjens, P., Clerinx, J., & Van Esbroeck, M. (2013). A Schistosoma haematobium-Specific Real-Time PCR for Diagnosis of Urogenital Schistosomiasis in Serum Samples of International Travelers and Migrants. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 7(8). <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0002413>
- Cobbold, T. S. (1859). XXVII. On some new forms of Entozoa. *Transactions of the Linnean Society of London*, 4, 363–366.
- Coelho, P. M. Z., Siqueira, L. M. V., Grenfell, R. F. Q., Almeida, N. B. F., Katz, N., Almeida, Á., Carneiro, N. F. de F., & Oliveira, E. (2016). Improvement of POC-CCA Interpretation by Using Lyophilization of Urine from Patients with Schistosoma mansoni Low Worm Burden: Towards an Elimination of Doubts about the Concept of Trace. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 10(6). <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0004778>
- Cohen, J. (1988). *Statistical power analysis for the behavioral sciences*, 2nd edn. Á/L. Erlbaum Press, Hillsdale, NJ, USA.
- Colley, D. G., Bustinduy, A. L., Secor, W. E., & King, C. H. (2014). Human schistosomiasis. *The Lancet*, 383(9936), 2253–2264. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(13\)61949-2](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(13)61949-2)
- Costain, A. H., MacDonald, A. S., & Smits, H. H. (2018). Schistosome Egg Migration: Mechanisms, Pathogenesis and Host Immune Responses. *Frontiers in Immunology*, 9, 3042. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.03042>
- Cupit, P. M., & Cunningham, C. (2015). What is the mechanism of action of praziquantel and how might resistance strike? *Future Medicinal Chemistry*, 7(6), 701–705. <https://doi.org/10.4155/fmc.15.11>
- Deelder, A. M., Miller, R. L., De Jonge, N., & Krijger, F. W. (1990). Detection of schistosome antigen in mummies. *The Lancet*, 335(8691), 724–725. [https://doi.org/10.1016/0140-6736\(90\)90838-V](https://doi.org/10.1016/0140-6736(90)90838-V)
- Di Bella, S., Riccardi, N., Giacobbe, D. R., & Luzzati, R. (2018). History of schistosomiasis (bilharziasis) in humans: From Egyptian medical papyri to molecular biology on mummies. *Pathogens and Global Health*, 112(5), 268–273. <https://doi.org/10.1080/20477724.2018.1495357>

- Doenhoff, M. J., Butterworth, A. E., Hayes, R. J., Sturrock, R. F., Ouma, J. H., Koech, D., Prentice, M., & Bain, J. (1993). Seroepidemiology and serodiagnosis of schistosomiasis in Kenya using crude and purified egg antigens of *Schistosoma mansoni* in ELISA. *Transactions of The Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, *87*(1), 42–48. [https://doi.org/10.1016/0035-9203\(93\)90415-M](https://doi.org/10.1016/0035-9203(93)90415-M)
- Doenhoff, M. J., Cioli, D., & Utzinger, J. (2008). Praziquantel: Mechanisms of action, resistance and new derivatives for schistosomiasis: *Current Opinion in Infectious Diseases*, *21*(6), 659–667. <https://doi.org/10.1097/QCO.0b013e328318978f>
- Ebrahim, A., El-Morshedy, H., Omer, E., El-Daly, S., & Barakat, R. (1997). Evaluation of the Kato-Katz Thick Smear and Formal Ether Sedimentation Techniques for Quantitative Diagnosis of *Schistosoma mansoni* Infection. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, *57*(6), 706–708. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.1997.57.706>
- Ekpo, U. F., Oluwole, A. S., Abe, E. M., Etta, H. E., Olamiju, F., & Mafiana, C. F. (2012). Schistosomiasis in infants and pre-school-aged children in sub-Saharan Africa: Implication for control. *Parasitology*, *139*(7), 835–841. <https://doi.org/10.1017/S0031182012000029>
- Eraky, M. A., & Aly, N. S. M. (2016). Diagnostic and prognostic value of cell free circulating *Schistosoma mansoni* DNA: An experimental study. *Journal of Parasitic Diseases*, *40*(3), 1014–1020. <https://doi.org/10.1007/s12639-014-0626-0>
- Espírito-Santo, M. C. C., Alvarado-Mora, M. V., Dias-Neto, E., Botelho-Lima, L. S., Moreira, J. P., Amorim, M., Pinto, P. L. S., Heath, A. R., Castilho, V. L. P., Gonçalves, E. M. do N., Luna, E. J. de A., Carrilho, F. J., Pinho, J. R. R., & Gryschek, R. C. B. (2014). Evaluation of real-time PCR assay to detect *Schistosoma mansoni* infections in a low endemic setting. *BMC Infectious Diseases*, *14*(1), 558. <https://doi.org/10.1186/s12879-014-0558-4>
- Esrey, S. A., Potash, J. B., Roberts, L., & Shiff, C. (1991). Effects of improved water supply and sanitation on ascariasis, diarrhoea, dracunculiasis, hookworm infection, schistosomiasis, and trachoma. *Bulletin of the World Health Organization*, *69*(5), 609–621.
- Ferreira, F. T., Fidelis, T. A., Pereira, T. A., Otoni, A., Queiroz, L. C., Amâncio, F. F., Antunes, C. M., & Lambertucci, J. R. (2017). Sensitivity and specificity of the circulating cathodic antigen rapid urine test in the diagnosis of *Schistosomiasis mansoni* infection and evaluation of morbidity in a low- endemic area in Brazil. *Revista Da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, *50*(3), 358–364. <https://doi.org/10.1590/0037-8682-0423-2016>

- Fuss, A., Mazigo, H. D., & Mueller, A. (2020a). Malacological survey to identify transmission sites for intestinal schistosomiasis on Ijinga Island, Mwanza, north-western Tanzania. *Acta Tropica*, *203*, 105289. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2019.105289>
- Fuss, A., Mazigo, H. D., & Mueller, A. (2020b). Evaluation of serum-based real-time PCR to detect *Schistosoma mansoni* infection before and after treatment. *Infectious Diseases of Poverty*, *9*(1), 74. <https://doi.org/10.1186/s40249-020-00698-z>
- Fuss, A., Mazigo, H. D., Tappe, D., Kasang, C., & Mueller, A. (2018). Comparison of sensitivity and specificity of three diagnostic tests to detect *Schistosoma mansoni* infections in school children in Mwanza region, Tanzania. *PLOS ONE*, *13*(8), e0202499. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0202499>
- Gibney, K. B., Miharshahi, S., Torresi, J., Marshall, C., Leder, K., & Biggs, B.-A. (2009). The Profile of Health Problems in African Immigrants Attending an Infectious Disease Unit in Melbourne, Australia. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, *80*(5), 805–811. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.2009.80.805>
- Gobbi, F., Tamarozzi, F., Buonfrate, D., van Lieshout, L., Bisoffi, Z., & Bottieau, E. (2020). New Insights on Acute and Chronic Schistosomiasis: Do We Need a Redefinition? *Trends in Parasitology*. <https://doi.org/10.1016/j.pt.2020.05.009>
- Gomes, A. L. do V., Melo, F. L., Werkhauser, R. P., & Abath, F. G. (2006). Development of a real time polymerase chain reaction for quantitation of *Schistosoma mansoni* DNA. *Memórias Do Instituto Oswaldo Cruz*, *101*, 133–136. <https://doi.org/10.1590/S0074-02762006000900021>
- Greter, H., Krauth, S. J., Ngandolo, B. N. R., Alfaroukh, I. O., Zinsstag, J., & Utzinger, J. (2016). Validation of a Point-of-Care Circulating Cathodic Antigen Urine Cassette Test for *Schistosoma mansoni* Diagnosis in the Sahel, and Potential Cross-Reaction in Pregnancy. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, *94*(2), 361–364. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.15-0577>
- Grimes, J. E. T., Croll, D., Harrison, W. E., Utzinger, J., Freeman, M. C., & Templeton, M. R. (2014). The Relationship between Water, Sanitation and Schistosomiasis: A Systematic Review and Meta-analysis. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, *8*(12). <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0003296>
- Gryseels, B., Polman, K., Clerinx, J., & Kestens, L. (2006). Human schistosomiasis. *Lancet (London, England)*, *368*(9541), 1106–1118. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(06\)69440-3](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(06)69440-3)
- Haggag, A. A., Partal, M. C., Rabiee, A., Elaziz, K. M. A., Jr, C. H. C., Colley, D. G., & Ramzy, R. M. R. (2019). Multiple Praziquantel Treatments of *Schistosoma mansoni* Egg-Negative, CCA-Positive Schoolchildren in a Very Low Endemic Setting in Egypt Do

- Not Consistently Alter CCA Results. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 100(6), 1507–1511. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.18-0961>
- Hasby Saad, M. A., & Watany, M. M. (2018). Schistosoma mansoni and endocarditis: From egg to free DNA detection in Egyptian patients and infected BALB/c mice. *Journal of Helminthology*, 1–10. <https://doi.org/10.1017/S0022149X17001183>
- Herold, G. (2016). *Herold Innere Medizin 2018*. Deutschland: Herold Verlag.
- Hinz, R., Schwarz, N. G., Hahn, A., & Frickmann, H. (2017). Serological approaches for the diagnosis of schistosomiasis – A review. *Molecular and Cellular Probes*, 31, 2–21. <https://doi.org/10.1016/j.mcp.2016.12.003>
- Holling, H., & Schmitz, B. (2010). *Handbuch Statistik, Methoden und Evaluation*. Hogrefe Verlag.
- Homsana, A., Odermatt, P., Southisavath, P., Yajima, A., & Sayasone, S. (2020). Cross-reaction of POC-CCA urine test for detection of Schistosoma mekongi in Lao PDR: A cross-sectional study. *Infectious Diseases of Poverty*, 9(1), 114. <https://doi.org/10.1186/s40249-020-00733-z>
- Hürlimann, E., Schur, N., Boutsika, K., Stensgaard, A.-S., Himpl, M. L. de, Ziegelbauer, K., Laizer, N., Camenzind, L., Pasquale, A. D., Ekpo, U. F., Simoonga, C., Mushinge, G., Saarnak, C. F. L., Utzinger, J., Kristensen, T. K., & Vounatsou, P. (2011). Toward an Open-Access Global Database for Mapping, Control, and Surveillance of Neglected Tropical Diseases. *PLOS Neglected Tropical Diseases*, 5(12), e1404. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0001404>
- Hussein, H. M., El-Tonsy, M. M., Tawfik, R. A., & Ahmed, S. A.-E.-G. (2012). Experimental study for early diagnosis of prepatent schistosomiasis mansoni by detection of free circulating DNA in serum. *Parasitology Research*, 111(1), 475–478. <https://doi.org/10.1007/s00436-012-2822-0>
- Inobaya, M. T., Olveda, R. M., Chau, T. N., Olveda, D. U., & Ross, A. G. (2014). Prevention and control of schistosomiasis: A current perspective. *Research and reports in tropical medicine*, 2014(5), 65–75. <https://doi.org/10.2147/RRTM.S44274>
- Kato-Hayashi, N., Leonardo, L. R., Arevalo, N. L., Tagum, M. N. B., Apin, J., Aagsolid, L. M., Chua, J. C., Villacorte, E. A., Kirinoki, M., Kikuchi, M., Ohmae, H., Haruki, K., & Chigusa, Y. (2015). Detection of active schistosome infection by cell-free circulating DNA of Schistosoma japonicum in highly endemic areas in Sorsogon Province, the Philippines. *Acta Tropica*, 141, 178–183. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2014.05.003>
- King, C. H., Yoon, N., Wang, X., Lo, N. C., Alsallaq, R., Ndeffo-Mbah, M., Li, E., & Gurarie, D. (2020). *Application of Schistosomiasis Consortium for Operational Research and Evaluation Study Findings to Refine Predictive Modeling of Schistosoma*

- 
- mansoni and Schistosoma haematobium Control in Sub-Saharan Africa.* tpmd190852. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.19-0852>
- Kittur, N., Castleman, J. D., Campbell, C. H., King, C. H., & Colley, D. G. (2016). Comparison of *Schistosoma mansoni* Prevalence and Intensity of Infection, as Determined by the Circulating Cathodic Antigen Urine Assay or by the Kato-Katz Fecal Assay: A Systematic Review. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 94(3), 605–610. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.15-0725>
- Kongs, A., Marks, G., Verlé, P., & Stuyft, P. V. der. (2001). The unreliability of the Kato-Katz technique limits its usefulness for evaluating *S. mansoni* infections. *Tropical Medicine & International Health*, 6(3), 163–169. <https://doi.org/10.1046/j.1365-3156.2001.00687.x>
- Lamberton, P. H. L., Kabatereine, N. B., Oguttu, D. W., Fenwick, A., & Webster, J. P. (2014). Sensitivity and specificity of multiple Kato-Katz thick smears and a circulating cathodic antigen test for *Schistosoma mansoni* diagnosis pre- and post-repeated-praziquantel treatment. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 8(9), e3139. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0003139>
- Leake, C. D. (1952). *The old Egyptian medical papyri*. Lawrence, Kan., University of Kansas Press.
- Leger, E., & Webster, J. P. (2017). Hybridizations within the Genus *Schistosoma*: Implications for evolution, epidemiology and control. *Parasitology*, 144(1), 65–80. <https://doi.org/10.1017/S0031182016001190>
- Leiper, R. T. (1916). I. Report on the Results of the Bilharzia Mission in Egypt, 1915. Part IV.-Egyptian Mollusca. *Journal of the Royal Army Medical Corps*, 27(2), 171–190.
- Leitlinie: Diagnostik und Therapie der Schistosomiasis.* (o. J.). 38.
- Lingscheid, T., Kurth, F., Clerinx, J., Marocco, S., Trevino, B., Schunk, M., Muñoz, J., Gjørup, I. E., Jelinek, T., Develoux, M., Fry, G., Jänisch, T., Schmid, M. L., Bouchaud, O., Puente, S., Zammarchi, L., Mørch, K., Björkman, A., Siikamäki, H., ... TropNet Schistosomiasis Investigator Group. (2017). Schistosomiasis in European Travelers and Migrants: Analysis of 14 Years TropNet Surveillance Data. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 97(2), 567–574. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.17-0034>
- Lodh, N., Mwansa, J. C. L., Mutengo, M. M., & Shiff, C. J. (2013). Diagnosis of *Schistosoma mansoni* without the stool: Comparison of three diagnostic tests to detect *Schistosoma* [corrected] *mansoni* infection from filtered urine in Zambia. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 89(1), 46–50. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.13-0104>

- Löscher, T. (2010). *Tropenmedizin in Klinik und Praxis: Mit Reise-und Migrationsmedizin*. Georg Thieme Verlag.
- LoVerde, P. T. (2019). Schistosomiasis. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 1154, 45–70. [https://doi.org/10.1007/978-3-030-18616-6\\_3](https://doi.org/10.1007/978-3-030-18616-6_3)
- Luppa, P. (2008). *POCT - Patientennahe Labordiagnostik*. Springer Science & Business Media.
- Manson, P. (1902). Report of a case of bilharzia from the West Indies. *British medical journal*, 2(2190), 1894.
- Marchese, V., Beltrame, A., Angheben, A., Monteiro, G. B., Giorli, G., Perandin, F., Buonfrate, D., & Bisoffi, Z. (2018). Schistosomiasis in immigrants, refugees and travellers in an Italian referral centre for tropical diseases. *Infectious Diseases of Poverty*, 7. <https://doi.org/10.1186/s40249-018-0440-5>
- Matsuda, H., Tanaka, H., Nogami, S., & Muto, M. (1983). Mechanism of action of praziquantel on the eggs of *Schistosoma japonicum*. *The Japanese Journal of Experimental Medicine*, 53(6), 271–274.
- McKerrow, J., & Salter, J. (2002). Invasion of skin by *Schistosoma cercariae*. *Trends in Parasitology*, 18(5), 193–195. [https://doi.org/10.1016/S1471-4922\(02\)02309-7](https://doi.org/10.1016/S1471-4922(02)02309-7)
- Molehin, A. J. (2020). Schistosomiasis vaccine development: Update on human clinical trials. *Journal of Biomedical Science*, 27(1), 28. <https://doi.org/10.1186/s12929-020-0621-y>
- Navaratnam, A. M. D., Mutumba-Nakalembe, M. J., Stothard, J. R., Kabatereine, N. B., Fenwick, A., & Sousa-Figueiredo, J. C. (2012). Notes on the use of urine-CCA dipsticks for detection of intestinal schistosomiasis in preschool children. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 106(10), 619–622. <https://doi.org/10.1016/j.trstmh.2012.06.010>
- Nelwan, M. L. (2019). Schistosomiasis: Life Cycle, Diagnosis, and Control. *Current Therapeutic Research*, 91, 5–9. <https://doi.org/10.1016/j.curtheres.2019.06.001>
- Neumayr, A., Chernet, A., Sydow, V., Kling, K., Kuenzli, E., Marti, H., Paris, D. H., Nickel, B., & Labhardt, N. D. (2019). Performance of the point-of-care circulating cathodic antigen (POC-CCA) urine cassette test for follow-up after treatment of *S. mansoni* infection in Eritrean refugees. *Travel Medicine and Infectious Disease*, 28, 59–63. <https://doi.org/10.1016/j.tmaid.2018.09.004>
- Obeng, B. B., Aryeetey, Y. A., de Dood, C. J., Amoah, A. S., Larbi, I. A., Deelder, A. M., Yazdanbakhsh, M., Hartgers, F. C., Boakye, D. A., Verweij, J. J., van Dam, G. J., & van Lieshout, L. (2008). Application of a circulating-cathodic-antigen (CCA) strip test and real-time PCR, in comparison with microscopy, for the detection of



- Schistosoma haematobium in urine samples from Ghana. *Annals of Tropical Medicine and Parasitology*, 102(7), 625–633.  
<https://doi.org/10.1179/136485908X337490>
- Ochodo, E. A., Gopalakrishna, G., Spek, B., Reitsma, J. B., van Lieshout, L., Polman, K., Lamberton, P., Bossuyt, P. M. M., & Leeflang, M. M. G. (2015). Circulating antigen tests and urine reagent strips for diagnosis of active schistosomiasis in endemic areas. *The Cochrane Database of Systematic Reviews*, 3, CD009579.  
<https://doi.org/10.1002/14651858.CD009579.pub2>
- Okoyo, C., Simiyu, E., Njenga, S. M., & Mwandawiro, C. (2018). Comparing the performance of circulating cathodic antigen and Kato-Katz techniques in evaluating Schistosoma mansoni infection in areas with low prevalence in selected counties of Kenya: A cross-sectional study. *BMC Public Health*, 18(1), 478. <https://doi.org/10.1186/s12889-018-5414-9>
- Oliveira, L. M. A., Santos, H. L. C., Gonçalves, M. M. L., Barreto, M. G. M., & Peralta, J. M. (2010). Evaluation of polymerase chain reaction as an additional tool for the diagnosis of low-intensity Schistosoma mansoni infection. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, 68(4), 416–421.  
<https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2010.07.016>
- Olliaro, P. L., Vaillant, M., Diawara, A., Coulibaly, J. T., Garba, A., Keiser, J., King, C. H., Knopp, S., Landouré, A., N’Goran, E. K., Raso, G., Scherrer, A. U., Sousa-Figueiredo, J. C., Stete, K., Zhou, X.-N., & Utzinger, J. (2015). Toward Measuring Schistosoma Response to Praziquantel Treatment with Appropriate Descriptors of Egg Excretion. *PLOS Neglected Tropical Diseases*, 9(6), e0003821.  
<https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0003821>
- Opio, C. K., Kazibwe, F., Ocama, P., Rejani, L., Belousova, E. N., & Ajal, P. (2016). Profiling lifetime episodes of upper gastrointestinal bleeding among patients from rural Sub-Saharan Africa where schistosoma mansoni is endemic. *The Pan African Medical Journal*, 24, 296. <https://doi.org/10.11604/pamj.2016.24.296.9755>
- Peralta, J. M., & Cavalcanti, M. G. (2018). Is POC-CCA a truly reliable test for schistosomiasis diagnosis in low endemic areas? The trace results controversy. *PLOS Neglected Tropical Diseases*, 12(11), e0006813.  
<https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0006813>
- Pontes, L. A., Dias-Neto, E., & Rabello, A. (2002). Detection by polymerase chain reaction of Schistosoma mansoni DNA in human serum and feces. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 66(2), 157–162.  
<https://doi.org/10.4269/ajtmh.2002.66.157>
- Posey, D. L., Blackburn, B. G., Weinberg, M., Flagg, E. W., Ortega, L., Wilson, M., Secor, W. E., Sanders-Lewis, K., Won, K., & Maguire, J. H. (2007). High Prevalence and

- Presumptive Treatment of Schistosomiasis and Strongyloidiasis among African Refugees. *Clinical Infectious Diseases*, 45(10), 1310–1315.  
<https://doi.org/10.1086/522529>
- Rapid Medical Diagnostics*. (o. J.). Abgerufen 10. Juni 2020, von <https://www.rapid-diagnostics.com/products.html>
- Richards, F., Sullivan, J., Ruiz-Tiben, E., Eberhard, M., & Bishop, H. (1989). Effect of praziquantel on the eggs of *Schistosoma mansoni*, with a note on the implications for managing central nervous system schistosomiasis. *Annals of Tropical Medicine and Parasitology*, 83(5), 465–472.  
<https://doi.org/10.1080/00034983.1989.11812373>
- Rokni, M. B. (2012). *Schistosomiasis*. BoD – Books on Demand.
- Ross, A. G. P., Li, Y. S., Sleigh, A. C., & McManus, D. P. (1997). Schistosomiasis control in the People's Republic of China. *Parasitology Today*, 13(4), 152–155.  
[https://doi.org/10.1016/S0169-4758\(97\)01026-0](https://doi.org/10.1016/S0169-4758(97)01026-0)
- Ross, A. G., Vickers, D., Olds, G. R., Shah, S. M., & McManus, D. P. (2007). Katayama syndrome. *The Lancet Infectious Diseases*, 7(3), 218–224.  
[https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(07\)70053-1](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(07)70053-1)
- Rowel, C., Fred, B., Betson, M., Sousa-Figueiredo, J. C., Kabatereine, N. B., & Stothard, J. R. (2015, Februar 1). *Environmental Epidemiology of Intestinal Schistosomiasis in Uganda: Population Dynamics of Biomphalaria (Gastropoda: Planorbidae) in Lake Albert and Lake Victoria with Observations on Natural Infections with Digenetic Trematodes* [Research Article]. BioMed Research International; Hindawi. <https://doi.org/10.1155/2015/717261>
- Sambon, L. W. (1907). Remarks on *Schistosoma mansoni*. *Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 10, 303–304.
- Sandoval, N., Siles-Lucas, M., Pérez-Arellano, J. L., Carranza, C., Puente, S., López-Abán, J., & Muro, A. (2006). A new PCR-based approach for the specific amplification of DNA from different *Schistosoma* species applicable to human urine samples. *Parasitology*, 133(5), 581–587. <https://doi.org/10.1017/S0031182006000898>
- Schistosomiasis*. (o. J.). Abgerufen 27. Mai 2020, von <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/schistosomiasis>
- Schistosomiasis and soil-transmitted helminthiasis: Number of people treated in 2018*. (o. J.). Abgerufen 1. Oktober 2021, von <https://www.who.int/publications-detail-redirect/who-wer9450>

- Scurlock, J. A., & Andersen, B. (2010). *Diagnoses in Assyrian and Babylonian Medicine: Ancient Sources, Translations, and Modern Medical Analyses*. University of Illinois Press.
- Seybolt, L. M., Christiansen, D., & Barnett, E. D. (2006). Diagnostic Evaluation of Newly Arrived Asymptomatic Refugees with Eosinophilia. *Clinical Infectious Diseases*, 42(3), 363–367. <https://doi.org/10.1086/499238>
- Shane, H. L., Verani, J. R., Abudho, B., Montgomery, S. P., Blackstock, A. J., Mwinzi, P. N. M., Butler, S. E., Karanja, D. M. S., & Secor, W. E. (2011). Evaluation of Urine CCA Assays for Detection of *Schistosoma mansoni* Infection in Western Kenya. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 5(1). <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0000951>
- Siqueira, L. M. V., Couto, F. F. B., Taboada, D., Oliveira, Á. A. de, Carneiro, N. F. de F., Oliveira, E., Coelho, P. M. Z., & Katz, N. (2016). Performance of POC-CCA® in diagnosis of schistosomiasis mansoni in individuals with low parasite burden. *Revista Da Sociedade Brasileira De Medicina Tropical*, 49(3), 341–347. <https://doi.org/10.1590/0037-8682-0070-2016>
- Sokolow, S. H., Wood, C. L., Jones, I. J., Lafferty, K. D., Kuris, A., Hsieh, M. H., & De Leo, G. A. (2018). Opinion: To reduce the global burden of human schistosomiasis, use ‘old fashioned’ snail control. *Trends in parasitology*, 34(1), 23–40. <https://doi.org/10.1016/j.pt.2017.10.002>
- Sokolow, S. H., Wood, C. L., Jones, I. J., Swartz, S. J., Lopez, M., Hsieh, M. H., Lafferty, K. D., Kuris, A. M., Rickards, C., & De Leo, G. A. (2016). Global Assessment of Schistosomiasis Control Over the Past Century Shows Targeting the Snail Intermediate Host Works Best. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 10(7). <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0004794>
- Sousa-Figueiredo, J. C., Betson, M., Kabatereine, N. B., & Stothard, J. R. (2013). The urine circulating cathodic antigen (CCA) dipstick: A valid substitute for microscopy for mapping and point-of-care diagnosis of intestinal schistosomiasis. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 7(1), e2008. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0002008>
- Standley, C., Lwambo, N., Lange, C., Kariuki, H., Adriko, M., & Stothard, J. (2010). Performance of circulating cathodic antigen (CCA) urine-dipsticks for rapid detection of intestinal schistosomiasis in schoolchildren from shoreline communities of Lake Victoria. *Parasites & Vectors*, 3(1), 7. <https://doi.org/10.1186/1756-3305-3-7>
- Stensgaard, A.-S., Vounatsou, P., Sengupta, M. E., & Utzinger, J. (2019). Schistosomes, snails and climate change: Current trends and future expectations. *Acta Tropica*, 190, 257–268. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2018.09.013>

- Stothard, J. R. (2009). Improving control of African schistosomiasis: Towards effective use of rapid diagnostic tests within an appropriate disease surveillance model. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 103(4), 325–332.
- Tan, S. Y., & Ahana, A. (2007). Theodor Bilharz (1825-1862): Discoverer of schistosomiasis. *Singapore Medical Journal*, 48(3), 184–185.
- Tchuenté, L.-A. T., Fouodo, C. J. K., Ngassam, R. I. K., Sumo, L., Noumedem, C. D., Kenfack, C. M., Gipwe, N. F., Nana, E. D., Stothard, J. R., & Rollinson, D. (2012). Evaluation of Circulating Cathodic Antigen (CCA) Urine-Tests for Diagnosis of *Schistosoma mansoni* Infection in Cameroon. *PLOS Neglected Tropical Diseases*, 6(7), e1758. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0001758>
- ten Hove, R. J., Verweij, J. J., Vereecken, K., Polman, K., Dieye, L., & van Lieshout, L. (2008). Multiplex real-time PCR for the detection and quantification of *Schistosoma mansoni* and *S. haematobium* infection in stool samples collected in northern Senegal. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 102(2), 179–185. <https://doi.org/10.1016/j.trstmh.2007.10.011>
- Themes, U. F. O. (2016, Juni 8). The Lower Urinary Tract in the Absence of Cancer. *Basicmedical Key*. <https://basicmedicalkey.com/the-lower-urinary-tract-in-the-absence-of-cancer/>
- Utzing, J., N'goran, E. K., N'dri, A., Lengeler, C., & Tanner, M. (2000). Efficacy of praziquantel against *Schistosoma mansoni* with particular consideration for intensity of infection. *Tropical Medicine & International Health*, 5(11), 771–778. <https://doi.org/10.1046/j.1365-3156.2000.00646.x>
- Vale, N., Gouveia, M. J., Rinaldi, G., Brindley, P. J., Gärtner, F., & Costa, J. M. C. da. (2017). Praziquantel for Schistosomiasis: Single-Drug Metabolism Revisited, Mode of Action, and Resistance. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 61(5). <https://doi.org/10.1128/AAC.02582-16>
- van Dam, G. J., Bogitsh, B. J., van Zeyl, R. J. M., Rotmans, J. P., & Deelder, A. M. (1996). *Schistosoma mansoni*: In vitro and In vivo Excretion of CAA and CCA by Developing Schistosomula and Adult Worms. *The Journal of Parasitology*, 82(4), 557–564. JSTOR. <https://doi.org/10.2307/3283780>
- Wang, C., Chen, L., Yin, X., Hua, W., Hou, M., Ji, M., Yu, C., & Wu, G. (2011). Application of DNA-based diagnostics in detection of schistosomal DNA in early infection and after drug treatment. *Parasites & Vectors*, 4, 164. <https://doi.org/10.1186/1756-3305-4-164>
- Wang, W., Wang, L., & Liang, Y.-S. (2012). Susceptibility or resistance of praziquantel in human schistosomiasis: A review. *Parasitology Research*, 111(5), 1871–1877. <https://doi.org/10.1007/s00436-012-3151-z>

- 
- WHO | *Schistosomiasis*. (o. J.). WHO; World Health Organization. Abgerufen 1. Juni 2020, von <http://www.who.int/schistosomiasis/en/>
- WHO | *Schistosomiasis elimination: Refocusing on snail control to sustain progress*. (o. J.). WHO; World Health Organization. Abgerufen 1. Juni 2020, von [http://www.who.int/neglected\\_diseases/news/schisto-elimination-refocusing-snail-control-sustain-progress/en/](http://www.who.int/neglected_diseases/news/schisto-elimination-refocusing-snail-control-sustain-progress/en/)
- WHO | *Strategy*. (o. J.). WHO; World Health Organization. Abgerufen 1. Juni 2020, von <http://www.who.int/schistosomiasis/strategy/en/>
- Wichmann, D., Panning, M., Quack, T., Kramme, S., Burchard, G.-D., Grevelding, C., & Drosten, C. (2009). Diagnosing Schistosomiasis by Detection of Cell-Free Parasite DNA in Human Plasma. *PLOS Neglected Tropical Diseases*, 3(4), e422. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0000422>
- Wichmann, D., Poppert, S., Von Thien, H., Clerinx, J., Dieckmann, S., Jensenius, M., Parola, P., Richter, J., Schunk, M., Stich, A., Zanger, P., Burchard, G. D., & Tannich, E. (2013). Prospective European-wide multicentre study on a blood based real-time PCR for the diagnosis of acute schistosomiasis. *BMC Infectious Diseases*, 13(1), 55. <https://doi.org/10.1186/1471-2334-13-55>
- Wilson, M., Nguyen-dinh, P., Wahlquist, S. P., Weld, L. H., Wainwright, R. B., Gushulak, B. D., & Cetron, M. S. (o. J.). *Malaria, Intestinal Parasites, and Schistosomiasis Among Barawan Somali Refugees Resettling to the United States: A Strategy to Reduce Morbidity and Decrease the Risk of Imported Infections*.
- Woldegerima, E., Bayih, A. G., Tegegne, Y., Aemero, M., & Jejaw Zeleke, A. (2019, April 24). *Prevalence and Reinfection Rates of Schistosoma mansoni and Praziquantel Efficacy against the Parasite among Primary School Children in Sanja Town, Northwest Ethiopia* [Research Article]. *Journal of Parasitology Research*; Hindawi. <https://doi.org/10.1155/2019/3697216>
- Zhou, L., Tang, J., Zhao, Y., Gong, R., Lu, X., Gong, L., & Wang, Y. (2011). A highly sensitive TaqMan real-time PCR assay for early detection of Schistosoma species. *Acta Tropica*, 120(1), 88–94. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2011.06.006>



## APPENDIX

### I Abkürzungsverzeichnis

AWMF	Arbeitsgemeinschaft der Wissenschaftlichen Medizinischen Fachgesellschaften e.V.
CCA	Circulating Cathodic Antigen
CDC	Centers for Disease Control and Prevention
DNA	Desoxyribonukleinsäure, <i>engl.</i> Deoxyribonucleic Acid
DTG	Deutsche Tropenmedizinische Gesellschaft
EIA	Enzyme Immunoassay
ELISA	Enzyme-linked Immunosorbent Assay
epg	Eier pro Gramm, <i>engl.</i> eggs per gram
FAM	Fluorescein Amidite , Syn.: 6-Carboxyfluorescein ( <i>Farbstoff</i> )
GU	Gemeinschaftsunterkunft
ICA	Internal Control Assay
ICT	Immunchromatographischer Test
IPC	Internal Positive Control
MDA	Mass Drug Administration
NTD	Neglected Tropical Diseases
PCR	Polymerase Chain Reaction
POC	Point-Of-Care
PZQ	Praziquantel
qPCR	quantitative Echtzeit-PCR, <i>engl.</i> real-time quantitative PCR
SD	Standardabweichung, <i>engl.</i> standard deviation
ROX	Carboxy-X-Rhodamin ( <i>Farbstoff</i> )
WB	Western Blot
WHO	World Health Organization

## II Abbildungsverzeichnis

**Abbildung 1:** Hieroglyphen aus dem Papyrus von Kahun (1900 v.Chr.), die eine Hämaturie bezeichnen sollen. (Quelle: basicmedicalkey.com, 2020; Badr M., 1981) .....3

*Eigens erstellte Abbildung, nach Vorlage von:*

<https://basicmedicalkey.com/the-lower-urinary-tract-in-the-absence-of-cancer/>

mit Verweis auf: Badr M. Schistosomiasis in ancient Egypt. In El-Bolkainy M, Chu EW (eds). Detection of Bladder Cancer Associated with Schistosomiasis. Cairo, Egypt, The National Cancer Institute, 1981.

Zuletzt aufgerufen am: 20.03.2022

**Abbildung 2:** Lebenszyklus von *Schistosoma spp.* mit jeweiligen Stadien. **Linke Hälfte:** asexuelle, an Süßwasserschnecken gebundene Reproduktionsphase. **Rechte Hälfte:** sexuelle, an Säugetiere (*hier:* Mensch) gebundene Reproduktionsphase. (Quelle: Public Health Image Library, CDC, 2022) .....6

*Modifiziert nach:*

<https://phil.cdc.gov/Details.aspx?pid=3417>

Zuletzt aufgerufen am: 20.03.2022

**Copyright Restrictions:** None - This image is in the public domain and thus free of any copyright restrictions.

**Abbildung 3:** Mikroskopische Aufnahme eines kopulierten Schistosomen-Paares. Das kleinere Weibchen befindet sich im gynäkophoren Kanal des größeren Männchens. (Quelle: Public Health Image Library, CDC, 2022).....7

*Modifiziert nach:*

<https://phil.cdc.gov/Details.aspx?pid=11194>

Zuletzt aufgerufen am: 23.03.2022

**Copyright Restrictions:** None - This image is in the public domain and thus free of any copyright restrictions.

**Abbildung 4:** Weltweite Schistosomiasis-Prävalenz und geografische Verbreitung der unterschiedlichen Arten (Quelle: WHO ,2012; Gryseels et al., 2006). .....8

*Modifiziert nach:*

[https://www.who.int/schistosomiasis/Schistosomiasis\\_2012-01.png](https://www.who.int/schistosomiasis/Schistosomiasis_2012-01.png)

Zuletzt aufgerufen am: 20.03.2022

**Copyright:** Permission from WHO is not required for the use of WHO materials issued under the Creative Commons Attribution-NonCommercial-ShareAlike 3.0 Intergovernmental Organization (CC BY-NC-SA 3.0 IGO) licence.

unter Verwendung von:

[https://2010.igem.org/File:Spread\\_of\\_schistosoma\\_species\\_\(Gryseels\\_et\\_al.\\_2006\).png](https://2010.igem.org/File:Spread_of_schistosoma_species_(Gryseels_et_al._2006).png)

Zuletzt aufgerufen am: 20.03.2022

**Abbildung 5:** Lokale Prävalenzen verschiedener Schistosomen-Arten in Afrika. **Links:** *S. mansoni*. **Rechts:** *S. haematobium*. (Quelle: Hürlimann et al., 2011) .....9

*Entnommen aus:*

E. Hürlimann *u. a.*, „Toward an Open-Access Global Database for Mapping, Control, and Surveillance of Neglected Tropical Diseases“, *PLoS Negl. Trop. Dis.*, Bd. 5, Nr. 12, S. e1404, Dez. 2011

Zuletzt aufgerufen am: 20.03.2022



**Copyright:** © 2011 Hürlimann et al. "This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited."

**Abbildung 6:** Mikroskopische Aufnahme von Schistosomen-Eiern. **Links:** Ei von *S. haematobium* mit mittigem Sporn am terminalen Pol. **Rechts:** Ei von *S. mansoni* mit lateralem Sporn. (Quelle: Public Health Image Library, CDC, 2022; wikibooks.org, 2020)..... 14

*Modifiziert nach:*

<https://phil.cdc.gov/Details.aspx?pid=4843>

Zuletzt aufgerufen am: 20.03.2022

**Copyright Restrictions:** None - This image is in the public domain and thus free of any copyright restrictions.  
und

[https://de.m.wikibooks.org/wiki/Datei:Schistosoma\\_mansoni\\_egg\\_4841\\_lores.jpg](https://de.m.wikibooks.org/wiki/Datei:Schistosoma_mansoni_egg_4841_lores.jpg)

Zuletzt aufgerufen am: 20.03.2022

**Copyright Restrictions:** None - This image is in the public domain and thus free of any copyright restrictions.

**Abbildung 7:** Schematische Darstellung des Studienablaufs mit den einzelnen Phasen in zeitlicher Abfolge. Die Abstände zwischen den einzelnen Schritten (schwarze Punkte) spiegeln keine fest definierten Zeiträume wider. .... 22

*Eigens erstellte Grafik (MS® PowerPoint)*

**Abbildung 8:** **Links:** Anwendung des Schisto POC-CCA® Schnelltests. Das Probenfeld wird dabei mit 2 Tropfen Urin beträufelt. Die Urinprobe befindet sich in einem handelsüblichen Urinbecher. **Rechts:** Nahaufnahme eines bereits ausgeführten Schnelltests mit Erklärung der einzelnen Komponenten..... 28

*Eigene Aufnahme; fotografiert am 10.06.2020*

**Abbildung 9:** Einteilung positiver Schistosomiasis-Schnelltests nach G-Score. Die Einteilung erfolgt in 10 Grade (G1-G10), wobei die visuelle Intensität der roten T-Bande von G1 nach G10 zunimmt. .... 29

*Eigene Aufnahme; fotografiert am 05.06.2020*

**Abbildung 10:** Übersicht über die Ergebnisse des Screenings unter Einbezug der verschiedenen angewandten Testverfahren ..... 39

*Eigens erstellte Grafik (OriginPro 2020)*

**Abbildung 11:** Beispielhafte Befunde des Schisto POC-CCA® Urin-Schnelltests der Firma Rapid Diagnostics (C = Kontrollbande, T = Trace). **Linkes Bild:** *Links:* Negatives Testergebnis. *Mitte und rechts:* Sichtbare Banden im T-Bereich sprechen für ein positives Testergebnis. Unter Hinzuziehen des G-Scores wurde hier eine Einstufung in G5 (Mitte) und G4 (rechts) vorgenommen. **Rechtes Bild:** Deutlich sichtbare T-Bande mit Graduierung nach G9. .... 41

*Eigene Aufnahme, fotografiert am 10.06.2020 und 12.06.2020*

**Abbildung 12:** Altersverteilung der gescreenten Bewohnenden über beide Geschlechter. ....45  
*Eigens erstellte Grafik (OriginPro 2020)*

**Abbildung 13:** Prozentuale und absolute Verteilung von Geschlecht und Alter der gescreenten Bewohnenden. ....46  
*Eigens erstellte Grafik (OriginPro 2020)*

**Abbildung 14:** Prozentuale und absolute Verteilung der Herkunftsländer der gescreenten Personen (n = 105) mit jeweiligem Anteil an positiven bzw. negativen CCA-Befunden. ....47  
*Eigens erstellte Grafik (OriginPro 2020)*

**Abbildung 15a:** Aufenthaltsdauer der gescreenten Bewohnenden (n = 105) der Würzburger Gemeinschaftsunterkünfte in Monaten mit Unterteilung nach Ergebnis im CCA-Schnelltest. **15 b:** Vergleich der CCA-Schnelltest-Ergebnisse mit der Aufenthaltsdauer der zugehörigen Bewohnenden anhand von Boxplot-Diagrammen. *Links:* Gesamtzahl der gescreenten Bewohnenden (n = 105). *Mitte:* Davon CCA-positiv Getestete (n = 29). *Rechts:* Davon CCA-negativ Getestete (n = 76). ....48,49  
*Eigens erstellte Grafik (OriginPro 2020)*

**Abbildung 16:** Beispielhafte Ergebnisse des Schistoma ICT IgG-IgM -Schnelltests der Firma LDBIO Diagnostics (C = Kontrollbande (Blau), T = Trace (Rot)). *Links:* Zwei negative Testergebnisse mit fehlender T-Bande. *Rechts:* Sichtbare Banden im T-Bereich (Rot) sprechen für ein positives Testergebnis. Die blaue Kontrolle signalisiert, dass der Test bei allen Kassetten funktioniert hat. ....51  
*Eigene Aufnahme; fotografiert am 20.07.2020*

**Abbildung 17:** Verteilung von positiven und negativen ICT-Befunden mit Beziehung zu den ermittelten G-Scores des CCA-Urin-Schnelltests. ....52  
*Eigens erstellte Grafik (OriginPro 2020)*

**Abbildung 18:** Punktdiagramm mit Boxplots der Verteilung von Proben mit DNA-Nachweis bzw. fehlendem DNA-Nachweis mit Beziehung zu den ermittelten G-Scores des CCA-Urin-Schnelltests. Die Verbindungslinie der Mediane weist eine deutliche Steigung auf und signalisiert damit einen positiven Zusammenhang zwischen einem vorhandenen DNA-Nachweis und einem höhergradigen G-Score. ....55  
*Eigens erstellte Grafik (OriginPro 2020)*

**Abbildung 19:** Zeitlicher Verlauf der reziproken  $C_t$ -Werte der einzelnen Therapierten (Person 1-6) nach Praziquantel-Gabe an Tag 0. ....58  
*Eigens erstellte Grafik (OriginPro 2020)*

**Abbildung 20:** Boxplot-Diagramme der reziproken  $C_t$ -Werte an den jeweiligen Tagen 0-3-7-14-28-56 über alle therapierten Personen. Die schwarze durchgängige Linie verbindet die Mittelwerte,

die gestrichelte Linie gibt den Schwellenwert  $C_t^{-1} = 0,0277$  an, welcher einem Ct-Wert von 36 ( $\triangleq$  Schwellenwert) entspricht. .... 59  
*Eigens erstellte Grafik (OriginPro 2020)*

**Abbildung 21:** Verlauf der Funktion  $f(t)$ , welche die Änderung der gemessenen Mittelwerte von  $C_t^{-1}$  über die Zeit beschreibt (*rote durchgängige Linie*: interpolierte Funktion; *rote gestrichelte Linie*: extrapolierte Funktion). Alle Messwerte (schwarze Rauten) liegen innerhalb des 95%-Konfidenzintervalls (hellroter Bereich) von  $f(t)$ . Die Schnittpunkte mit dem Schwellenwert  $C_t^{-1} = 0,0277$  und der Detektionsgrenze  $C_t^{-1} = 0,025$  liegen bei 48 Tagen und 163 Tagen..... 60  
*Eigens erstellte Grafik (OriginPro 2020)*

### III Tabellenverzeichnis

<b>Tabelle 1:</b> G-Scores und korrespondierende visuelle Intensität. Entnommen aus Casacuberta-Partal et al. 2019. ....	29
<b>Tabelle 2:</b> Zusammensetzung von Standardansatz, Negativkontrolle und Positivkontrolle. ....	36
<b>Tabelle 3:</b> Verteilung der G-Scores und der visuelle Intensität der Testbanden der positiven CCA-Schnelltests (n = 29). ....	41
<b>Tabelle 4:</b> Vierfeldertafeln mit Verteilung von CCA-Befunden und Leukozyturie. <i>Links:</i> Beobachtete Häufigkeit ( $h_B$ ). <i>Rechts:</i> Erwartete Häufigkeit ( $h_E$ ). ....	42
<b>Tabelle 5:</b> Verteilung von CCA-Befunden und Erythrozyturie. <i>Links:</i> Beobachtete Häufigkeit. <i>Rechts:</i> Erwartete Häufigkeit. ....	44
<b>Tabelle 6:</b> Verteilung von CCA-Befunden und Erythrozyturie. <i>Links:</i> Beobachtete Werte. <i>Rechts:</i> Erwartete Häufigkeit. ....	44
<b>Tabelle 7:</b> Zusammenhang zwischen ICT-Befund und dazugehörigem G-Score. ....	51
<b>Tabelle 8:</b> Verteilung von ICT-Befunden und DNA-Nachweis in der qPCR. ....	53
<b>Tabelle 9:</b> Zusammenhang zwischen DNA-Nachweis mittels qPCR und G-Score. ....	54
<b>Tabelle 10:</b> Mögliche Konstellationen (positiver CCA-Test vorausgesetzt) für eine Therapieindikation mittels Praziquantel und Anzahl der die Kriterien erfüllenden Personen (vgl. auch Punkt 2.3, S.32). ....	56
<b>Tabelle 11:</b> Übersicht über den zeitlichen Verlauf der $C_t$ -Werte und Berechnung von Mittelwert und Standardabweichung aus den jeweiligen Kehrwerten ( $C_t^{-1}$ ). Da Minus-Zeichen (-) symbolisiert nicht wahrgenommene Blutentnahme-Termine. ....	57



## IV Danksagung

Zunächst möchte ich mich bei Professor Dr. med. August Stich und Dr. med. Andreas Müller bedanken, die mir durch diese Arbeit die Möglichkeit gaben, auf dem für mich schon immer faszinierenden Gebiet der Tropenmedizin zu promovieren. Prof. Dr. med.

Oliver Kurzai möchte ich für die Übernahme der Drittbetreuung danken.

Ein großes Dankeschön gilt weiterhin Antje Fuß, die mir durch ihre Expertise und Erfahrung auf dem Gebiet der Schistosomiasis stets zur Seite stand und ohne deren Mitwirken und mentale Unterstützung diese Arbeit nicht zustande gekommen wäre. Gleiches gilt für die tatkräftige Mitarbeit des Würzburger GU-Teams, allen voran André, Juliana, Christine, Jelena, Susi und allen, die an dieser Stelle nicht genannt wurden.

Ich möchte mich bei Mara bedanken, die mir in allen Lebensbereichen fortwährend zur Seite steht und mich stets mit gutem Rat und viel Geduld durch die mit dieser Arbeit verbundenen Höhen und Tiefen begleitet hat.

Auch Helga und Walter möchte ich für die Erleichterung meines gesamten Studiums danken, da ohne dies vieles nicht möglich gewesen wäre.

Für ihre großartige Unterstützung danke ich außerdem meiner Oma Ursula und meinem Opa Paul, der den Abschluss meines Medizinstudiums und nun die Abgabe meiner Promotionsschrift leider nicht mehr miterleben durfte.

Zu guter Letzt möchte ich meinen Eltern, Heike und Stefan danken. Ihre Fürsorge, ihr Beistand in allen Bereichen und ihre Erziehung haben einen Großteil zu dem beigetragen, wozu ich geworden bin. Vor ihrer Hingabe und Bescheidenheit zum Wohle ihrer Kinder habe ich größten Respekt.

Danke!



## V Lebenslauf

### SCHULBILDUNG

- ❖ 09/1997 - 07/2001:
- ❖ 09/2001 - 06/2010:

**Wolfram-von-Eschenbach Grundschule Schneeberg**  
**Karl-Ernst-Gymnasium Amorbach**  
Abschluss: Abitur

### NACH DEM ABITUR

06/2010 - 09/2011:

**Orientierungsphase und Work & Travel Reise** (Neuseeland & Süd-Ost-Asien)

### HOCHSCHULSTUDIUM

- ❖ 10/2011 - 06/2015:

**BIOLOGIE-STUDIUM AN DER JMU WÜRZBURG**

Abschluss: Bachelor of Science

- ❖ 06/2018

- Erwerb des **GSIK-Zertifikates** (Globale Systeme und Interkulturelle Kompetenz) an der JMU Würzburg

- ❖ 10/2014 - 05/2020:

**HUMANMEDIZIN-STUDIUM AN DER JMU WÜRZBURG**

Abschluss: Staatsexamen

- 03/2016
- 04/2019
- 05/2020

*Erster Abschnitt der Ärztlichen Prüfung*

*Zweiter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung*

*Dritter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung und Erteilung der Approbation als Arzt*

#### Famulaturen:

- 08-09/2016
- 03-04/2017
- 02-03/2018
- 07-08/2018

Neckar-Odenwald-Klinik Buchen (**Innere Medizin**)

Missioklinik Würzburg (**Tropenmedizin**)

Machame Lutheran Hospital Tansania (**Auslandsfamulatur, Chirurgie**)

Allgemeinarztpraxis Zenkert/Holthoff/Stein in Kleinrinderfeld (**Allgemeinmedizin**)

#### Praktisches Jahr:

- 05/2019 - 09/2019
- 09/2019 - 12/2019
- 12/2019 - 4/2020

1.Tertial: Universitätsmedizin Mannheim (**Chirurgie**)

2.Tertial: Diakonissenkrankenhaus Mannheim (**Innere Medizin**)

3.Tertial: KWM Missioklinik Würzburg (**Tropenmedizin & Globale Gesundheit**)

### BERUF

- ❖ 10/2020 - Heute

**Assistenzarzt für Innere Medizin**

Diakonissenkrankenhaus Mannheim

---

Unterschrift



