

Aus dem Institut für Tropenmedizin Berlin
und Medizinische Fakultät Charité
der Humboldt-Universität zu Berlin

DISSERTATION

**Behandlung und Verlaufskontrolle der
therapieresistenten Leberegelinfektion
(Fasziolose) mit Triclabendazol**

Zur Erlangung des akademischen Grades
doctor medicinae (Dr. med.)

vorgelegt der Medizinischen Fakultät Charité
der Humboldt-Universität zu Berlin

von
Stefan Freise
aus Frankfurt am Main

Dekan: Prof. Dr. med. Dr. h. c. R. Felix

Gutachter: 1. Prof. Dr. med. U. Bienzle
2. Prof. Dr. med. H. Feldmeier
3. PD Dr. med T. Weinke

Datum der Promotion: 9. April 2001

1	Einleitung	5
1.1	Verbreitung.....	6
1.2	Infektionsstadien.....	6
1.3	Ätiologie und Entwicklungszyklus des Parasiten.....	7
1.4	Prophylaxe	9
1.5	Pathologie	10
1.6	Immunität.....	11
1.7	Therapie der Fasziolose	12
1.8	Zielsetzung der Studie	13
2	Patienten, Material und Methoden	14
2.1	Patienten	14
2.2	Methoden	15
2.2.1	Klinische Untersuchung.....	15
2.2.2	Laborchemische Untersuchung.....	16
2.2.3	Parasitologische Methoden	16
2.2.3.1	<i>Stuhluntersuchung nach Kato modifiziert nach Katz</i>	16
2.2.3.2	<i>Stuhluntersuchung nach Ritchie</i>	16
2.2.3.3	<i>Sedimentationsmethode:</i>	17
2.2.4	Immunparasitologische Methoden.....	17
2.2.4.1	<i>Spezifische Antikörperbestimmung mittels ELISA</i>	17
2.2.4.2	<i>Bestimmung exkretorisch-sekretorischer Antigene im Stuhl</i>	18
2.2.5	Ultraschalluntersuchung	19
2.2.6	Statistische Methoden	22
2.2.7	Studiendesign.....	23
3	Ergebnisse	24
3.1	Befunde vor Therapie	24
3.1.1	Klinische Befunde bei Erstuntersuchung.....	24
3.1.2	Laborchemische Befunde bei Erstuntersuchung.....	25
3.1.2.1	<i>Hämatologische Befunde:</i>	25
3.1.2.2	<i>Biochemische Laborparameter:</i>	27
3.1.3	Parasitologische Befunde :.....	28
3.1.4	Immunparasitologische Befunde	28
3.1.4.1	<i>Spezifische Antikörperbestimmung mittels ELISA</i>	28
3.1.4.2	<i>Bestimmung exkretorisch-sekretorischer Antigene im Stuhl (FES)</i>	28
3.1.5	Ultraschallbefunde	29
3.2	Vorangegangene Therapieversuche.....	32

3.3	Verabreichung von Triclabendazol:	33
3.4	Nebenwirkungen.....	33
3.5	Befunde nach Therapie	37
3.5.1	Klinische Beobachtungen	37
3.5.2	Laborchemische Parameter	38
3.5.2.1	<i>Hämatologische Laborparameter</i>	38
3.5.2.2	<i>Biochemische Laborparameter:</i>	41
3.5.3	Parasitologische Parameter	45
3.5.3.1	<i>Stuhluntersuchungen</i>	45
3.5.3.2	<i>Immunparasitologische Befunde</i>	47
3.5.4	Signifikanzberechnung der Laborparameter	48
3.5.5	Ultraschallbefunde:	49
3.5.6	Compliance	54
3.6	Behandlungserfolg.....	56
4	Diskussion	57
4.1	Triclabendazol	57
4.2	Effektivität	58
4.3	Nebenwirkungen.....	59
4.4	Ultraschall.....	60
4.5	Immunparasitologische Methoden	61
4.6	klinische und laborchemische Untersuchungen	62
5	Zusammenfassung:	64
6	Anhang	66
6.1	Abkürzungen	66
6.2	Danksagung	78
6.3	Lebenslauf	79
6.4	Erklärung an Eides Statt	81

1 Einleitung

Die *Fasciola hepatica* Infektion ist eine Zoonose, die Wiederkäuer insbesondere Schafe und Rinder befällt. Durch Verschiffung von Vieh nach Übersee wurde diese ursprünglich europäische Krankheit in die Tropen eingeführt. Sie tritt heutzutage nur noch sporadisch in Mitteleuropa auf. Humane Infektionen finden in der Regel durch Aufnahme metazerkarienhaltiger Wasser- oder Ufergewächse, zum Beispiel Brunnenkresse oder Kopfsalat statt. Als Vektoren fungieren Wasserschnecken die Mirazidien aufnehmen und Zerkarien in Zystenform wieder ausscheiden. Diese enzystieren sich an den erwähnten Gewächsen. Die oral aufgenommenen Metazerkarien durchdringen aktiv die Darmschleimhaut und suchen sich ihren Weg zum Lebergewebe. Beim Eindringen in die Leberkapsel ist als Komplikation über ein subkapsuläres Hämatom berichtet worden (27, 55). Es kann, in Ausnahmefällen, zu ektopen Läsionen kommen: so wird über dermale, intraokulare, muskuläre, cerebrale, caecale, pankreatische, und ependydimale Absiedelungen berichtet (4, 42, 43, 50, 60, 64, 88, 91, 92). Häufiger wird über Pleura- und Perikardbeteiligungen berichtet, wobei noch ungeklärt ist ob es sich hierbei um aberrante Leberegel oder immunallergische Reaktionen handelt (62, 82). Die Parasiten dringen schließlich in das Gallengangssystem ein und führen dort zu Umbauvorgängen des Gallengangsepithels, die ihnen ein Überleben über lange Zeiträume sichern (1).

Es wird angenommen das (1998) 2,4 Millionen Menschen weltweit infiziert sind und 240 Millionen infektionsgefährdet sind. In einigen Regionen sind bis zu 60% der Bevölkerung infiziert (114).

Parasitologie

Palaeoparasitologische Funde aus Chalain, Frankreich legen nahe, dass Infektionen mit *Fasciola hepatica* schon zu in der Jungsteinzeit stattgefunden haben. Die Analyse von 12 humanen Koproolithen und 10 Sedimentproben förderten einige gut erhaltene Eier von *Fasciola hepatica*, *Trichuris* und *Diphollobotrium* zutage (85). *Fasciola hepatica* gehört zur Gattung der Trematoden (Saugwürmer). Er ist ein zwittriger blattförmiger Egel von 2-4 cm Länge. Als Zwischenwirt fungieren Wasserschnecken der Gattung *Lymnacea*. Die regulären Endwirte sind Herbivoren (Rinder, Schafe), der Mensch ist ein gelegentlicher Endwirt. Der Parasit kann auch im Menschen seinen Entwicklungszyklus komplettieren.

1.1 Verbreitung

Die Fasziole ist eine weltweit verbreitete Zoonose. Humane Infektionen erfolgen in der Regel sporadisch oder als lokal begrenzte Epidemie. Insbesondere Länder mit entsprechenden Ernährungsgewohnheiten wie Verzehr von Brunnenkresse oder Bewässerung mit metazerkarienhaltigem Brauchwasser zeigen eine höhere Prävalenz. In Frankreich, Kuba, Peru dem Nahen Osten und im Nildelta wird vermehrt über Infektionen berichtet. Einzelfälle sind aus Deutschland bei Naturkrautsammlern berichtet worden.

1.2 Infektionsstadien

Es lassen sich drei Stadien der Infektion abgrenzen.

Das akute Stadium tritt nach ca. 2-6 Wochen bei massiven Metazerkarienbefall in Erscheinung. Es kommt zu Fieber, rechtsseitigen und epigastrischen Oberbauchbeschwerden, Übelkeit und Erbrechen. Es findet sich eine eosinophile Leukozytose, erhöhte Leberenzyme und Cholestasezeichen. Es können rechts-basale eosinophile Lungeninfiltrate auftreten.

Das latente Stadium beginnt wenn die juvenilen Egel in das Gallengangssystem eingewandert sind und mit der Eiproduktion beginnen. Die Symptome sind diskret, es finden sich gastrointestinale Beschwerden und eine erhöhte Eosinophilenzahl. Ein nicht bekannter Prozentsatz der Patienten bleibt asymptomatisch. Diese Phase kann Monate oder Jahre dauern und geht in das *chronische Stadium* über. Die adulten Leberegel sorgen für Entzündungen und Hyperplasie der Gallengänge bis hin zu einer biliären Zirrhose. Im Verlauf einer bakteriellen Sekundärinfektion kann es zu Cholangitis und Cholezystitis kommen. Bei massivem Wurmbefall ist eine mechanische Gallengangsobstruktion möglich. Abgestorbene Leberegel dienen eventuell als Kristallisationskeim für Gallengangskonkremente (107).

1.3 Ätiologie und Entwicklungszyklus des Parasiten

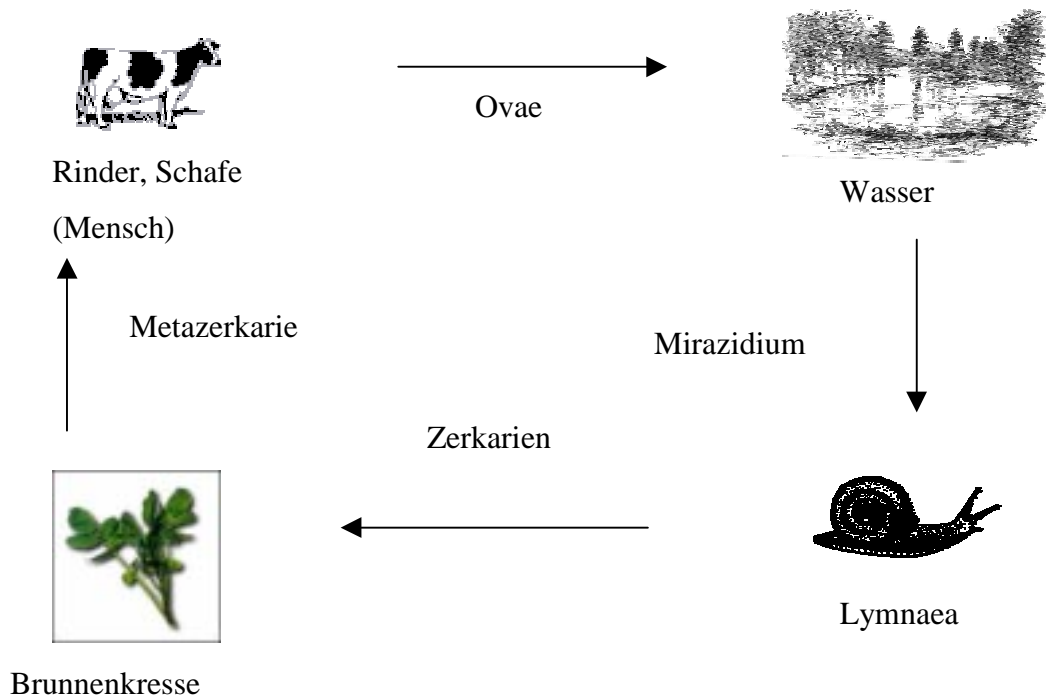


Abb.1 Entwicklungszyklus und Überträger der Entwicklungsstadien von *Fasciola hepatica*

Der adulte *Fasciola*-Wurm ist blatt- oder lanzett-förmig, kann eine Länge von 30mm und eine Breite von 13mm erreichen. Die Würmer sind Zwitter und können sich selbst befruchten, eine Befruchtung zwischen zwei Würmern ist ebenso möglich (73). Über die durchschnittliche Lebensdauer beim Menschen ist nichts genaues bekannt. Nach Beobachtungen an einem Patienten von Dan et al. (77) nimmt man an, dass der Wurm maximal 9-13 Jahre überleben kann.

Die Eier

Die Eier von *Fasciola hepatica* sind 130-150 µm lang, 62-90µm breit und von charakteristischer gelblicher Färbung mit einem Operkulum, sie sind nicht von Eiern der Gattung *Fasciola gigantica* zu unterscheiden. Die Eier reifen im Wasser. Wenn die klimatischen Bedingungen günstig sind (15-25 °C), entwickeln sich Mirazidien innerhalb von 9-21 Tagen. Unter 10°C findet keine Weiterentwicklung statt, die Eier bleiben jedoch über Monate lebensfähig (68).

Die Mirazidien

Nach dem Schlüpfen schwimmen die Mirazidien mit Hilfe ihrer Zilien bis sie einen Zwischenwirt in Form einer Süßwasserschnecke finden (80). Dieses muß innerhalb von 24 Stunden geschehen da die Mirazidien ansonsten absterben. Die meisten dieser Schnecken leben amphibisch, die häufigste Spezies in Europa und Asien ist *Lymnaea trunculata*.

Sie finden sich in kleinen Teichen, Sümpfen und Feuchtgebieten. Die Entwicklung der Larvenstadien ist temperaturabhängig, unter 10°C und über 30°C wird die Weiterentwicklung unterbrochen. Nach Kontakt mit der Schnecke, dringen die Mirazidien in die Schnecke ein und transformieren sich zu Sporozysten. In jeder Sporozyste teilen sich Mutterredien in mehrere Tochterredien, jede Tochterredie produziert mehrere Zerkarien (79). Die Zerkarien entwickeln sich in der Schnecke am besten bei Temperaturen von 20-25°C innerhalb von 6-7 Wochen.

Die Metazerkarien

Die Metazerkarien sind rund und messen ca. 0,2 mm im Durchmesser. Sie finden sich auf den Blättern von Pflanzen über oder unter der Wasserlinie. Die Zerkarien enzystieren sich auf Wasserpflanzen nach dem Verlassen der Schnecke. Während dieses Vorgangs verlieren sie ihren Schwanz. 24 Stunden nach dem Enzystieren sind die Metazerkarien infektiös.

Die Überlebensdauer beträgt bei + 10°C mindestens 130 Tage; bei -10°C 7-28 Tage; bei -20°C 12h, und bei +35°C bis zu 14 Tagen. Das Überleben auch unter europäischen Winterbedingungen erscheint möglich. Direktes Sonnenlicht sowie hohe Luftfeuchtigkeit bei Extremtemperaturen scheint die Überlebensdauer zu beeinträchtigen (68). Innerhalb einer Stunde nach Aufnahme beginnen die Metazerkarien sich im Dünndarm des Wirtes zu enzystieren. Nach durchdringen der Dünndarmwand finden sie sich innerhalb von 2 Stunden in der Bauchhöhle. Nach 24 Stunden entwickelt sich die Mehrzahl zu reifenden Würmern (Larven), nach 48 Stunden beginnen diese die Leberkapsel zu durchdringen, die Mehrzahl hat das Leberparenchym innerhalb von 6 Tagen erreicht. In der Leber wandern sie für 5-6 Wochen, sich direkt von Lebergewebe ernährend. Sie wandern schließlich in die Gallengänge ein, wo sie die sexuelle Reife erlangen. Die Eiablage beginnt (nach Untersuchungen bei Schafen und Rindern) ca. 2 Monate nach Aufnahme der Metazerkarien. 2-3 Wochen für die Reife der Eier, 6-7 Wochen für die Entwicklung der Zerkarien in den Schnecken ergibt eine Zyklusdauer von 14-23 Wochen (68, 79).

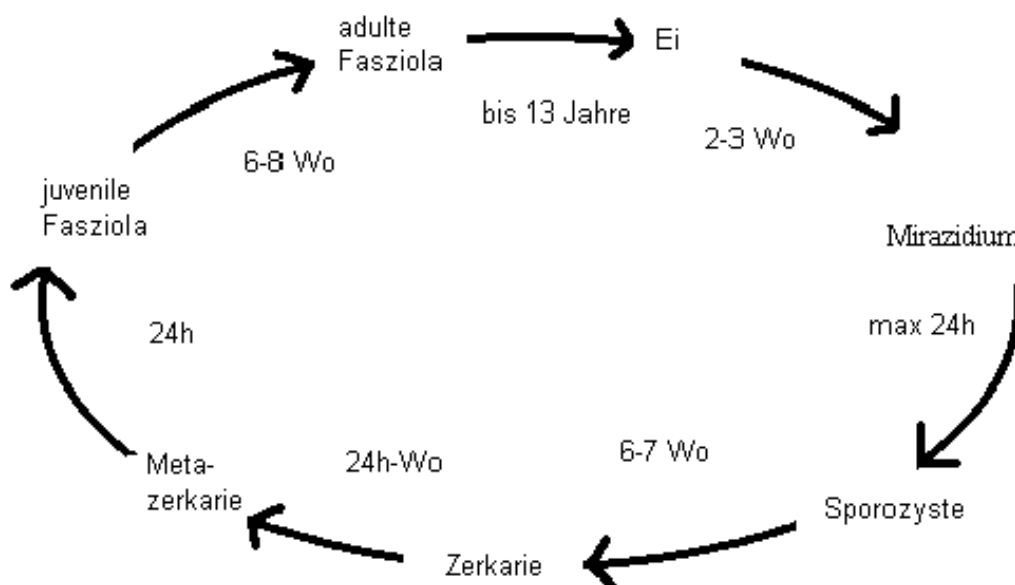


Abb. 2 Entwicklungsdauer in Wirt und Zwischenwirt bei *Fasciola hepatica*

1.4 Prophylaxe

-Individualprophylaxe

Der größte Teil der Infektionen erfolgt durch Ingestion von ungekochten Pflanzen. Die Metazerkarien haften fest auf den Pflanzen. 10-minütiges Waschen unter fließendem Wasser vermag nur 50% der Metazerkarien zu lösen. Mittels Einsatz von Essig 12% und Kaliumpermanganat (24mg/L) können Metazerkarien abgetötet werden (123).

Ein kleiner Teil der Infektionen erfolgt möglicherweise über kontaminiertes Trinkwasser.

-Molluskizide

Es gibt sehr effektive Molluskizide, so zum Beispiel Pentachlorophenat, die eine lokale Population effizient abtöten. Untersuchungen haben aber gezeigt das entsprechende Feuchtgebiete nach 3-6 Monaten rekolonisiert werden (68). Die Drainage von Teichen mit niedrigen Wasserflussraten in der Nähe von Tierweiden ist eine weitere wirksame Maßnahme.

-Weidetiere

Die präventive regelmäßige Applikation von Antihelminthika (unter anderen auch Triclabendazol) kann die Parasitenlast deutlich vermindern. In Abhängigkeit von der klimatischen Region erscheint die zwei- bis viermalige jährliche Gabe angezeigt.

1.5 Pathologie

Invasives Stadium

Bei Durchdringen der Darmwand können im Tierversuch fokale Hämorrhagien und Entzündungsreaktionen beobachtet werden, klinisch steht diese Phase jedoch nicht im Vordergrund. Während der Migration durch das Lebergewebe können intensive hämorrhagische sowie immunologische und entzündliche Reaktionen beobachtet werden.

Eine Erhöhung der Retikulozyten, sowie des MCV lässt sich nur bis zum Eindringen der Parasiten in das Gallengangssystem nachweisen. Die Penetration durch das Wirtsgewebe vollzieht sich durch Disruption von Wirtszellen (46). Sekrete aus den Ceca der exzystierten juvenilen *Fasciola hepatica* werden für die Zellauflösung mitverantwortlich gemacht (47). Diese Sekretionsprodukte konnten bei juvenilen *Fasciola hepatica* 2 und 12 Stunden nach Infektion aus der Abdominalhöhle nachgewiesen werden (2). Diese Sekrete lösen wahrscheinlich die vom oralen Saugnapf gehaltene Plasmamembran auf und die juvenile *Fasciola hepatica* bewegt sich dann in die entstandene Höhle.

Einmal in das Gewebe eingedrungen, ist es wahrscheinlich, dass Fortbewegung durch vermiforme Peristaltik und alternierendes Saugen und Loslassen vollzogen wird. Alle Spinae sind in diesen Prozess mit einbezogen aber es liegt nahe, dass die anterioren Spinae dazu dienen jeden Fortschritt zu sichern (2). Makroskopisch fanden sich in der Leber: multiple gelblich-grau-weiße Knoten, Knoten am parietalen Peritoneum der Leber, hämorrhagische Punktblutungen um diese Knoten, Leberkapsel: weiße oder gelbliche striae (0,5 * 5-10cm), Verdickung der Leberkapsel, mit nekrotischem Material gefüllte Hohlräume, gelbliche Aszitesflüssigkeit, Anhalt für portale Hypertension (48, 81).

Chronisches Stadium

In den Gallenwegen können Entzündungsreaktionen beobachtet werden die in Fibrose, Verdickung und Erweiterung münden. Der adulte Leberegel sezerniert Prolin in hohen Konzentrationen. Aufgrund von Tierversuchen konnte festgestellt werden, dass die Infusion von Prolin in die Bauchhöhle eine Hyperplasie der Gallengänge bewirkt. Wahrscheinlich ist dieser Prozeß essentiell für die Infektion, da der Leberegel im Vergleich zum Gallengang eine beachtliche Größe aufweist. Außerdem könnte das proliferierte Epithel bessere Ernährungsbedingungen bereitstellen (46). Prolin, ein natürlicher Bestandteil des Aminosäuren-pools der Gallenflüssigkeit findet sich im Verlauf der Infektion in bis zu 10.000-fach erhöhter Konzentration. Häufig wird eine Anämie diagnostiziert sowohl

Erythrozytenzahl als auch Hämoglobin können vermindert sein. Es werden verschiedene Ursachen diskutiert: Hämatophagie (84), Prolininduzierte hyperplastische Umbauvorgänge (78), durch die Gallengangseptihelerosionen der Spinae ausgelöste Blutungen (68), Prolininduzierte Verkürzung der Lebensdauer der Erythrozyten (90), sowie gemeinsame Antigene von menschlichen Erythrozyten und *Fasciola hepatica* (89). Makroskopisch fanden sich in der Gallenblase: weißliche subserös gelegene Knoten, Wandverdickung durch Muskelhyper-trophie und perimuskuläre Fibrose, hyperplastisches Drüseneptithel, Lymphozyten, Plasmazellen und eosinophile Leukozyten in allen Wandschichten (48, 81).

1.6 Immunität

Aufgenommene Metazerkarien können sich in einer Reihe von Wirten zu adulten Leberegeln weiterentwickeln. Untersuchungen über die Immunreaktion beim Menschen wurden nur vereinzelt durchgeführt. Es wird angenommen, dass der Mensch keinen optimalen Wirt für *Fasciola hepatica* darstellt. Ein Großteil der unreifen Würmer erreicht nicht die Gallengänge (81). Die Immunität unterscheidet sich von Wirt zu Wirt. Hunde und Katzen haben eine natürliche Resistenz gegen *Fasciola hepatica*, Ratten, Meerschweinchen, Hasen und Rinder erwerben Immunität nach der Erstinfektion. Fast keine Immunität bildet sich bei Schafen, Ziegen und Mäusen aus. Schwere Infektionen in diesen Tieren verlaufen in der Regel letal (68). *Fasciola hepatica* hat eine Reihe von Abwehrmechanismen um Angriffen des Wirtsimmunsystems zu entgehen. Eine wichtige Rolle bei der Abwehr des Parasiten scheinen Cathepsin-L-Proteinasen zu spielen. Durch elektronenoptische Studien konnte nachgewiesen werden, daß das Epithel der Darmwand mit Cathepsin-L-Proteinasen gefüllte Vesikel enthält (103). Die Proteinase wird in das Darmlumen des Parasiten sezerniert und ist in der Lage Wirtsimmunglobulin in der Scharnierregion zu spalten, so dass funktionell unwirksame Fab und Fc Fragmente verbleiben (102). Diese Cysteinyll-Proteinasen sind nach in vitro Untersuchungen in der Lage alle menschlichen IgG-Subklassen zu spalten (106).

Ein weiterer wichtiger Abwehrmechanismus könnte in einer hohen Umbaurate der Glycocalix bestehen die besonders beim juvenilen Egel beobachtet wird. Antigene die nach der Exzystierung juveniler Egel exprimiert wurden waren bereits zwei Tage später nicht mehr nachweisbar (125). Wahrscheinlich schützt sich der Parasit auch während der Migration im Leberparenchym vor Attacken des Wirtsimmunsystems durch ständige Veränderung des Antigenmusters. Beim adulten Egel lässt diese Syntheseleistung nach, eventuell stellen die

Gallengänge eine „immunologisch sichere Umwelt“ dar (111, 112).

Mittels *in vitro* Untersuchungen konnte eine Suppression der Wirtsimmunantwort durch exkretorisch-sekretorische Antigene nachgewiesen werden. Sowohl die Proliferation von Monozyten als auch deren Produktion von Stickoxid (NO) war in den ersten 2 Wochen p.i. vermindert. Stickoxid hat eventuell einen direkt toxischen Effekt auf *Fasciola hepatica* (124).

1.7 Therapie der Fasziole

In der Literatur erwähnte Medikamente (Praziquantel, Mebendazol, Metronidazol, Bithinol, Thiabendazol, Dihydroemetin) gegen *Fasciola hepatica* zeigen zum Teil unbefriedigende Heilungsraten. (siehe auch Tabelle 12) Am häufigsten wurde Praziquantel in unterschiedlichen Therapieregimen eingesetzt. Es wurde über Heilungsraten von 0-71% berichtet.

Triclabendazol gehört zur Gruppe der oral aktiven Benzimidazol-Antihelminthika und wird in der Leber in die fasziolid wirkenden Metaboliten Triclabendazol-sulfon und Triclabendazol-sulfoxid metabolisiert. Alle drei Substanzen binden zu mehr als 99% an Plasmaproteine, hauptsächlich Albumin (109).

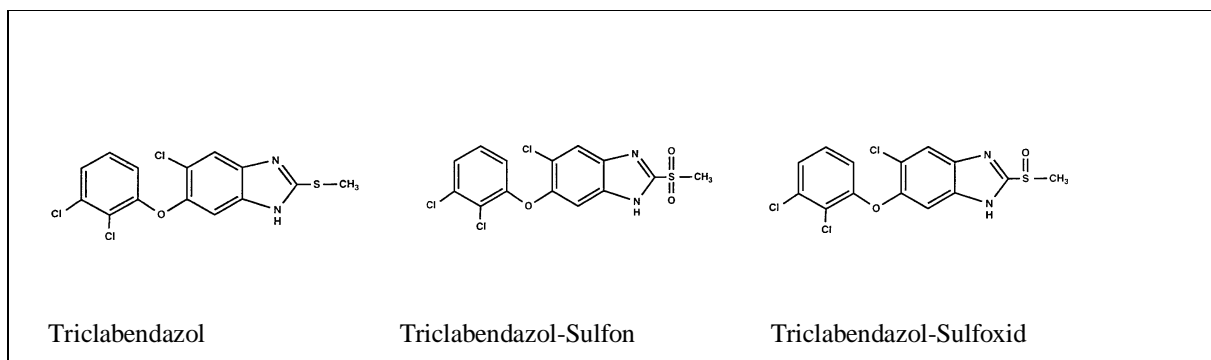


Abb. 3 Strukturformel von Triclabendazol und den aktiven Metaboliten Triclabendazol-Sulfon und Triclabendazol-Sulfoxid

1.8 Zielsetzung der Studie

Triclabendazol, ein Benzimidazolderivat, wird in der Veterinärmedizin seit 1983 als wirksames Mittel gegen *Fasciola hepatica* angewandt. (114)

Nachdem bei einem 61-jährigen männlichen Arzt mit Fasziole mehrere Therapieversuche fehlgeschlagen waren, wurde Triclabendazol im Oktober 1986 erstmals erfolgreich am Menschen eingesetzt. Die Applikation einer Einmaldosis von 12mg/Kg KG führte am 4. Tag zu einer ikterisch-febrilen Phase von 4 Tagen Dauer und danach zu Symptombefreiheit und negativen Stuhlbefunden (15).

In der Literatur wurde bis zum Zeitpunkt dieser Studie nur in Fallberichten beziehungsweise an kleinen Patientengruppen (maximal 24 Patienten) über die Wirkung von Triclabendazol berichtet.(1, 7, 15, 16, 44, 59, 61)

Zielsetzung dieser Studie war es Triclabendazol im Rahmen einer offenen Therapiestudie an einem größeren Patientenkollektiv zu evaluieren. Effektivität und mögliche Nebenwirkungen sollten während eines siebentägigen stationären Aufenthaltes sowie über einen Nachbeobachtungszeitraum von 60 Tagen erfasst werden. Der Wert der Ultraschalluntersuchung zur Diagnostik und Verlaufkontrolle sowie bei eventuellen Komplikationen, wie zum Beispiel Gallengangsobstruktion, sollte ermittelt werden.

2 Patienten, Material und Methoden

2.1 Patienten

Dieser Studie beschäftigt sich mit einer lokalen Epidemie durch *Fasciola hepatica* in La Palma, einem Ort in der Provinz Pinar del Rio im Osten Kubas. Nach Angaben der Gesundheitsbehörden kann der Zeitpunkt der Infektion auf eine Salatmahlzeit am Neujahrsabend 1994/95 zurückgeführt werden.

In dieser Region Kubas gehört Salat nicht zu den alltäglichen Nahrungsmitteln, so dass man davon ausgehen kann, dass die meisten Familien diesen Neujahr zu sich genommen haben.

Der Verkäufer fuhr mit einem Handwagen durch das Dorf wobei er seine Ware durch Rufe angeboten hat, noch ein Jahr später lässt sich seine Route anhand der erkrankten Patienten zum Teil nachvollziehen. Zwei Monate nach Verkauf des befallenen Salates waren nahe zu 200 Personen an einem febrilen Eosinophilie-Syndrom erkrankt was den Verdacht auf akute Fasziose nahe legte. Das örtliche Krankenhaus sah sich genötigt Ärzte und Pflegepersonal zu den Patienten zu schicken da im Krankenhaus nicht genügend Betten zur Verfügung standen, sie wurden in Ihren Wohnungen medizinisch versorgt (persönliche Kommunikation des Klinikleiters Dr. Millán). Die von uns behandelte Gruppe von 81 Personen ist nur ein Teil der insgesamt infizierten Population, da durch vorangegangene Therapien, und durch Spontanheilung viele Patienten bereits geheilt wurden Die Patienten berichteten den befallenen Kopfsalat sehr gut gewaschen zu haben. Einige Patienten der Studienpopulation berichten keinerlei Salat oder Gemüse zu sich genommen zu haben. Hier besteht auch die Hypothese, daß das Leitungswasser nicht immer ausreichend geklärt wurde. 51 weibliche und 30 männliche Patienten, im Alter von 15 bis 81 Jahren wurden in die Studie aufgenommen. Bedingung zur Aufnahme der Patienten in die Therapiestudie war, dass mindestens eine Therapie mit Antihelminthika fehlgeschlagen war. Die Patienten hatten teils auf Eigeninitiative versucht sich mit folgenden, fasciolid wirkenden Medikamenten zu therapieren: Metronidazol, Praziquantel, Bithinol, Mebendazol, Thiabendazol, und Levamisol. (siehe auch Kap. 3.2.)

Der Leiter der Inneren Abteilung des Instituto de Medicina Tropical, Dr. Millán und Dr. Richter vom Institut für Tropenmedizin, Berlin reisten zu einer Erstversammlung nach La Palma um die Dorfbevölkerung über die Erkrankung, Folgeerscheinungen und Therapiemöglichkeiten aufzuklären.

Im örtlichen Krankenhaus wurden Stuhlproben vor Beginn der Studie gesammelt und zur Untersuchung nach Havanna gesandt. Patienten die bereits eine antihelminthische Therapie durchgeführt hatten und wiederum *Fasciola hepatica* Eier in der Stuhluntersuchung zeigten wurde die Möglichkeit eröffnet im Instituto de Medicina Tropical an einer Therapie mit Triclabendazol teilzunehmen. Dort wurde das schriftliche Einverständnis der Patienten nach den Prinzipien der Helsinki- Deklaration eingeholt. Zum Zeitpunkt des Studienbeginns, im September 1995 waren die meisten Patienten bis auf abdominelle Schmerzen (7), Pruritus (3), Schmerzen im rechten Oberbauch (3), Diarrhoe (1), Urticaria (1), asymptomatisch, nach zum Teil langer akuter Fasziole, mit hohem Gewichtsverlust, Fieber, Koliken, Urticaria, im Frühjahr 1995. Um die Folgen einer chronischen Fasziole zu vermeiden, (Hyperplasie der Gallengänge, Cholangitis, Cholezystitis, mechanischer Gallengangsobstruktion, Gallengangskonkremente), die zum Teil erst nach Jahren auftreten, wurden auch die Patienten im Latenzstadium der Erkrankung behandelt.

2.2 Methoden

2.2.1 Klinische Untersuchung

Die Patienten wurden an den Tagen 0, 3, 7, 30, 60 einer klinischen Untersuchung unterzogen, die folgende Parameter einschloss: Körpergewicht, Temperatur, Puls, Blutdruck, Atemfrequenz, Hepato- und Splenomegalie, Ikterus. Es wurde gezielt nach folgenden Krankheitssymptomen gefragt: Appetitlosigkeit, Übelkeit, Durchfall, Verstopfung, Oberbauchbeschwerden im rechten Quadranten, Bauchschmerzen, Intercostalschmerzen, Urticaria. Es sollten hierbei neben den klassischen Symptomen der *Fasciola hepatica* Infektion; rechtsseitige oder epigastrische Oberbauchschmerzen, Übelkeit, Erbrechen und Urtikaria das Augenmerk auch auf eventuelle unerwünschte Nebenwirkungen von Triclabendazol sowie auf Symptome ektooper *Fasciola hepatica* gerichtet werden.

2.2.2 Laborchemische Untersuchung

An den Tagen 0, 3, 7, 15, 30, und 60 nach Medikamenteneinnahme wurden folgende Laborparameter erhoben: Blutsenkungsgeschwindigkeit nach einer Stunde, rotes Blutbild, weißes Blutbild, Differentialblutbild, Leukozytenzählung, Eosinophilenzählung, Differentialblutbild, Serumharnstoff, Serumkreatinin, Glutamat-Oxalacetat-Transaminase (GOT), Glutamat-Pyruvat-Transaminase (GPT), Alkalische Phosphatase (AP), Bilirubin.

2.2.3 Parasitologische Methoden

2.2.3.1 Stuhluntersuchung nach Kato modifiziert nach Katz

Die Methode von Kato modifiziert nach Katz bestimmt die Eimenge bezogen auf ein definiertes Volumen. Es lassen sich Aussagen über die Parasitenzahl und über die Wirksamkeit einer eingeleiteten Therapie machen. Bei sehr flüssigem Material ist diese Methode nicht anwendbar.

1. Die Stuhlprobe wurde durch ein Metal oder Nylonnetz mit 105 Perforationen pro Millimeter gegeben, um gröberes nicht verdautes Material (Pflanzenfasern) zu entfernen.
2. Eine vorgefertigte Schablone mit einem Loch in der Mitte von ca. 9mm Durchmesser wurde mit der Stuhlprobe gefüllt. Da so definierte Volumen entspricht ca. 42 mg Stuhl.
3. Die Probe wurde auf einen Objektträger aufgebracht, mit Zellophanfolie abgedeckt und leicht komprimiert.
4. Nach 2 Stunden wurden die Eier unter dem Mikroskop ausgezählt. Die so bestimmte Menge Eier mit 23 multipliziert, entspricht der Eimenge pro Gramm Stuhl (67).

2.2.3.2 Stuhluntersuchung nach Ritchie

Es handelt sich um ein Anreicherungsverfahren zum Nachweis von Parasiteneiern.

War die Stuhlprobe sehr fest, wurde sie mit physiologischer Kochsalzlösung verdünnt.

1. Die Stuhlprobe wurde durch ein doppelt geschlagenes feuchtes Gaze (Verbandmull) gepresst. 10 ml der abgepressten Flüssigkeit wurden in ein 15ml Zentrifugierröhrchen gegeben.
2. Die Probe wurde für 2 Minuten bei 1500 rpm zentrifugiert und dann dekantiert.

3. Verdünnung mit physiologischer Kochsalzlösung auf 10 ml, erneutes Zentrifugieren und Dekantieren.
4. Das Röhrchen wurde mit 10ml 10%iger Formollösung aufgefüllt und 5 min stehen gelassen.
5. Es wurden 5 ml Äther hinzugegeben, und 30 sec kräftig geschüttelt.
6. Das Röhrchen wurde bei 1500rpm für 2 min zentrifugiert und es schieden sich 4 Schichten ab: Oben eine Schicht Äther, dann eine Schicht Fäkalreste, dann Formalinlösung, und zuletzt ein Sediment mit Fäkalresten.
7. Die oberen Schichten wurden dekantiert, das Sediment mit der Restflüssigkeit vermischt.
8. Mit Lugolscher Lösung versetzt, wurde das Sediment unter dem Mikroskop betrachtet (63).

2.2.3.3 *Sedimentationsmethode:*

Auch Drei-Becher Methode genannt, bietet den Vorteil, dass größere Mengen Stuhl untersucht werden können. Im Fall der Fasziole, mit geringer und unregelmäßiger Eiproduktion kann dies von Vorteil sein.

1. Die Stuhlprobe (ca. 15 Gramm) wurde unter fließendem Wasser durch ein doppelt gelegtes, angefeuchtetes Gaze (Verbandmull) in ein Sedimentationstrichter (500ml) filtriert.
2. Das Gefäß wurde für mehrere Stunden stehengelassen, anschließend dekantiert und erneut mit Wasser aufgefüllt.
3. Nach wiederum einigen Stunden wurde erneut dekantiert, das Sediment mit der Restflüssigkeit in ein Zentrifugierröhrchen gegeben, und anschließend 2 Minuten bei 1500 rpm zentrifugiert
4. Der Überstand wurde verworfen und das Zentrifugat unter dem Mikroskop auf Parasiteneier untersucht (56).

2.2.4 Immunparasitologische Methoden

2.2.4.1 *Spezifische Antikörperbestimmung mittels ELISA*

Der Enzyme-linked Immunosorbent Assay wurde mit Polyvinyl Platten ausgeführt.

1. Das Antigen wurde in 0,06 M Karbonatpuffer verdünnt (ph 9,6 bei einer Konzentration von 4 µg/ml) und 0,1 ml wurden in jede Vertiefung eingebracht.

2. Die Platte wurde versiegelt, bei 37°C 4 Stunden inkubiert und über Nacht bei 4°C gelagert.
3. Das nicht adsorbierte Antigen wurde durch Schütteln und Drehen der Platten entfernt. Jede Vertiefung wurde dann 3 mal für 3 min mit 0,01 PBS (pH 7,1) gewaschen.
4. Das Serum wurde 1:16 in PBS/Tween verdünnt. 0,1 ml wurden in jede Vertiefung gegeben und bei 37°C für eine Stunde in einem Wasserbad inkubiert.
5. Der unadsorbierte Antikörper wurde, wie unter 3.) beschrieben ausgewaschen.
6. Ein Meerrettich-Peroxidase Konjugat gegen IgG wurde 1:10.000 verdünnt und jeweils 1 ml in jede Vertiefung gegeben und für eine Stunde bei 37°C inkubiert.
7. Die Platten wurden wie unter 3.) beschrieben gewaschen.
8. Das Substrat (ODP) wurde durch Lösung von 10 mg ODP in 10ml Methanol vorbereitet um eine Vorratslösung herzustellen. Einem Milliliter dieser Vorratslösung wurde 99ml Wasser mit 3% H₂O₂ zugesetzt.
9. Jeder Vertiefung wurden 0,1 ml dieser Arbeitslösung zugesetzt und bei Dunkelheit und Raumtemperatur für 30 Minuten inkubiert.
10. Die Farbreaktion wurde durch 0,025 ml 8 N Schwefelsäure beendet.
11. Die Platten werden bei 490 nm in einem ELISA Autoreader abgelesen (101).

2.2.4.2 Bestimmung exkretorisch-sekretorischer Antigene im Stuhl

Es handelt sich hierbei um einen enzyme linked immunosorbent assay (ELISA), der einen monoklonalen Antikörper zum Aufsuchen exkretorisch-sekretorischer Antigene von *Fasciola hepatica* im Stuhl benutzt. Die Methode wurde von A.M.Espino und C.M.Finlay am Instituto Pedro Kouri entwickelt. Zur Untersuchung wurde die Stuhlprobe mit 3 Teilen phosphatgepufferter Salzlösung versetzt, anschließend homogenisiert und bei 900g 3 Minuten zentrifugiert. Der Überstand wurde abpipettiert und bei -20 °C gelagert.

Antigengewinnung:

Fasciola hepatica Antigene wurden von adulten Egel gewonnen. Nach vierfacher Waschung in physiologischer Salzlösung wurden die Egel in einem sterilen Kulturmedium (RPMI 1640) dem Penicillin und Streptomycin zugesetzt sind, 24 Stunden bei 37°C inkubiert und dann zentrifugiert (1500g für 10 min bei 4°C). Die Proteinkonzentration wurde nach der Methode von Lowry bestimmt (83).

Herstellung des Enzymkonjugats:

Ein Milligramm des ES Antigens wurde im gleichen Volumen Freundsches Adjuvant emulgiert und einem Kaninchen subcutan injiziert. Nach 15, 21, und 28 Tagen wurde die halbe Dosierung subcutan nachinjiziert. Eine Woche nach der letzten Injektion wurde Blut abgenommen und mittels Präzipitation IgG gewonnen.

Elisa:

Der Elisa wurde in Einmal-Polystyrenplatten durchgeführt. ES Antigene wurden in 0,05 M Karbonatpufferlösung bei pH 9,6 verdünnt. 100µl des Antigens pro Feld wurden zugegeben und für 16h bei 4°C belassen. Nach dreimaligem Waschen wurden 150µl von 1,5 % Serum-Albumin zugegeben. Nach 30 Minuten bei Raumtemperatur wurden die Platten geleert, mit Tween 20 befüllt und zwei Stunden bei Raumtemperatur inkubiert. Nach sechsmaligem Waschen wurden 100µl Enzymkonjugat hinzugegeben und zwei Stunden bei Raumtemperatur inkubiert. Nach weiterem sechsmaligem Waschen wurde Substrat (H₂O₂, 0,1M Zitratpuffer, Phenylendiamin-HCL) zugegeben. Die Platten wurden bei Raumtemperatur 20 Minuten inkubiert und die Reaktion wurde mit 50µl 12,5% Schwefelsäure gestoppt. Die Absorption wurde in einem 492 nm Titertek-multiscan-reader gemessen

2.2.5 Ultraschalluntersuchung

Technische Ausstattung:

Die Ultraschalluntersuchung wurde mit einem tragbaren Fukuda FF-Sonic UF-4500 Gerät mit einem 3,5 MHz curved array und einem 5 MHz linear Schallkopf durchgeführt.

Zur Dokumentation standen ein Thermopapierdrucker Sony, Japan und ein Videogerät Toshiba, Japan zur Verfügung. Das Videogerät wurde eingesetzt um aktive Bewegungen der *Fasciola hepatica* zu dokumentieren. Um die Untersucher zu trainieren wurden durch Dr. Richter adulte, tote *Fasciola hepatica* Würmer in einem Wassercontainer mit 3,5; 5; und 7,5 MHz Schallköpfen untersucht.

Untersuchungsvorgang:

Das Gallengangssystem der Patienten wurde zunächst nüchtern und zusätzlich nach einer fettreichen Mahlzeit untersucht, um die Gallenblasenfunktion zu überprüfen.

Alle Patienten wurden mindestens einmal in Rücken-, Links- und Rechtsseitenlage, sowie in sitzender Position untersucht, um mögliche Auffälligkeiten im Gallenblasenlumen

darzustellen. Es wurde untersucht, ob pathologische Bestandteile der Gravitation folgen oder nicht. Das sonographische kontrollierte Murphy-Manöver (vorsichtige Palpation in der Gallenblasenloge (97)) wurde bei allen nicht cholezystektomierten Patienten durchgeführt.

1.) Gallengänge:

Die intra- und extrahepatischen Gallengänge wurden soweit darstellbar bis in die Peripherie untersucht. Ein extrahepatischer Ductus hepato-choledochus (DHC) größer als 6mm und ein intrahepatischer DHC größer als 5mm wurde für pathologisch erachtet. Bei cholezystektomierten Patienten entsprechend 9 mm extrahepatisch und 8 mm intrahepatisch (97).

2.) Gallenblase:

Länge, Breite und Wanddicke der Gallenblase, Bestandteile, Größe der Bestandteile, Konkremente, *Fasciola hepatica*-ähnliche Bestandteile, Gallenblasengries, aktive oder passive Bewegung der Bestandteile, ferner wie lange der Patient nüchtern war, oder welche Art von Nahrung er aufgenommen hatte, wurden dokumentiert. Der 5 MHz Schallkopf erwies sich für die Gallenblasensonographie als sehr hilfreich. Bei den in der Mehrzahl schlanken Patienten wurde durch die höhere Auflösung vielfach eine Diagnosestellung erst möglich.

An den Tagen 0, 7, 15, 30 und 60 wurden zusätzlich zu 1. und 2. folgende Organe untersucht:

3.) Leber:

Das Leberparenchym wurde auf Echogenitätsveränderungen und erweiterte intrahepatische Gallengänge untersucht. Eine Größenbestimmung wurde in der Parasternallinie, sowie in der Hemiclavearlinie durch Messung der kraniokaudalen Länge und Tiefe ermittelt.

Der Durchmesser der Pfortader wurde am Leberhilus unter Vermeidung eines Valsalva Manövers gemessen.

4.) Milz:

Die Milz wurde im subkostalen Flankenschnitt in der Hilusschnittebene auf größte Ausdehnung in 3 Ebenen vermessen.

5.) Pankreas:

Der Pankreas wurde auf Obstruktion oder Parenchymveränderungen untersucht.

Pankreaskopfdurchmesser und ein erweiterter Ductus Pancreaticus wurden dokumentiert.

6.) Sonstiges:

Ein Perikard- oder Pleuraerguss oder sonographisch sichtbare Veränderungen der Nieren wurden erfasst.

Die Sonographiebefunde wurden nach der folgenden Einteilung ausgewertet. Choleszystomierte Patienten (n=5) wurden nicht einbezogen.

Score 0: Normalbefund: **0 Punkte**

Score 1: unspezifische Sonographiebefunde: **1-2 Punkte**

Milz:Länge >11cm und Tiefe >4cm, und /oder Leber: im kranio-kaudalen Durchmesser in PSL > 11cm, oder in der rechten Hemiclavellinie >14cm.

Score 2: unspezifische Gallengangsveränderungen: **>2 Punkte**

Bei Diagnose einer der unten aufgeführten Veränderungen 3 Punkte. Wenn mehr als eine Veränderung diagnostiziert werden konnte wurde jeweils ein halber oder ein Punkt addiert.

- +1 sonographisch gesteuerter Murphy positiv
- +1 Erweiterter Ductus hepato-choledochus (DHC), intrahepatisch > 5mm, extrahepatisch >6mm, periphere Gallengänge > 2mm.
- +1/2 geringe Gallengangserweiterung nach Therapie, Normwerte nicht übersteigend.
- +1 Gallenblase länger als 10cm und breiter als 4 cm.
- +1 behinderte Gallenblasenkontraktilität (Verkleinerung des Gallenblasenvolumens nüchtern* und nach einer fettreichen Mahlzeit kleiner als 50%.
- +1 Gallenblasenwand nüchtern* dicker als 3 mm.
- +1 Gallensteine.
- +1 Gallenblasengries bei Lagewechsel der Gravitation folgend.

Score 3: verdächtige Sonographiebefunde: **≥ 15 Punkte**

Bei Diagnose einer der unten aufgeführten Veränderungen 15 Punkte. Wenn mehr als eine Veränderung diagnostiziert werden konnte wurde jeweils ein Punkt addiert.

- +1 geformter Gallenblasengries.
- +1 schwebender Gallenblasengries (nicht der Gravitation folgend).
- +1 *Fasciola hepatica* ähnliche Bestandteile (halbmondförmig)
- +1 andere Bestandteile in den Gallengängen.
- +1 netzartige Leberfibrose.

Score 4: pathognomonisch für *Fasciola hepatica*: **≥25 Punkte**

Bei Diagnose einer der unten aufgeführten Veränderungen 25 Punkte. Wenn mehr als eine Veränderung diagnostiziert werden konnte wurde jeweils ein Punkt addiert.

- +1 spontan sich bewegende *Fasciola hepatica*.
- +1 wandständige *Fasciola hepatica*.

* nüchtern länger als 8 Stunden (Kaffee und Zigarette eingeschlossen).

2.2.6 Statistische Methoden

Alle erhobenen Werte wurden mittels deskriptiver Statistik analysiert. Eine vergleichende Studie (Doppelblindstudie) war aus ethischen Gründen nicht geplant.

Die Vitalparameter, hämatologische- und biochemische Parameter wurden zum Teil als Tabelle und zum Teil als Box-Whisker Plots dargestellt. Die obere bzw. untere Grenze der Box sind durch das obere bzw. untere Quartil gegeben. Die Linie innerhalb der Box gibt den Median wieder. Ausreißer (zwischen 1-3 Box Längen vom Median entfernt) werden durch ein ° wiedergegeben. Extremwerte (mehr als 3 Box Längen vom Median entfernt) werden durch ein * wiedergegeben. Die äußeren Striche geben den kleinsten bzw. größten Wert an, der nicht als Ausreißer eingestuft wurde. Folgende Daten wurden nach Geschlechtern getrennt betrachtet: Hämoglobin (Serum) Hämatokrit, Erythrozytensedimentation, Gewicht. Gewicht und Körpertemperatur der Aufnahmeuntersuchung wurden als Tabelle mit Median, Minima, Maxima, sowie Perzentilen (25,75) dargestellt. Parasitologische Parameter wurden als Mittelwert mit Standardabweichung dargestellt. Bei nicht-normalverteilten Stichproben kam zur Signifikanzberechnung der Laborparameter vor und nach Therapie der Wicoxon-signed-rank Test zur Anwendung. Als Irrtumswahrscheinlichkeit wurde das 5% Niveau veranschlagt, d.h. ein p-Wert von $< 0,05$ wurde als statistisch signifikant angesehen. Statistische Berechnungen und Box Whisker Plots wurden mit SPSS 7.5 for Windows, Spss Inc. erzeugt, alle anderen Diagramme mit Microsoft Excel 5.0.

Zur Verarbeitung der sonographischen Daten wurde ein Score entwickelt.

Score 0: keine pathologischen Befunde.

Score 1: unspezifische Veränderungen an Leber oder Milz.

Score 2: unspezifische Veränderungen der Gallenwege.

Score 3: *Fasciola hepatica*-verdächtige Veränderungen.

Score 4: Pathognomonische Veränderungen.

Der Score wurde für Tag 0 (vor Therapie), Tag 7 (nach Therapie), und Tag 60 ermittelt, und als Perzentile graphisch dargestellt.

2.2.7 Studiendesign

Dies ist eine offene Phase II Therapiestudie um die Sicherheit und Effektivität von Triclabendazol bei therapieresistenten Infektionen mit *Fasciola hepatica* zu untersuchen.

Die Studie wurde an einem Zentrum (Instituto de medicina tropical Pedro Couri, Havanna, Kuba) durchgeführt. Ein 7-tägiger stationärer Aufenthalt zur Überwachung medikamentenbedingter Nebenwirkungen sowie Folgewirkungen der Wurmexpulsion, wurde durch ambulante Nachuntersuchungen an den Tagen 15, 30, und 60 komplettiert

Bedingungen zur Aufnahme der Patienten in die Therapiestudie

Einschlusskriterien:

Männliche oder weibliche Patienten mit einem Körpergewicht von minimal 20 Kg die wenigstens eine antihelminthische Therapie gegen *Fasciola hepatica* erfolglos eingenommen hatten. Die antihelminthische Therapie musste wenigstens 30 Tage vor Beginn der Triclabendazoltherapie beendet worden sein, um eventuelle Wechselwirkungen auszuschließen. Die Sicherung der Diagnose erfolgte durch mikroskopische Stuhluntersuchungen auf *Fasciola hepatica* Eier mittels Kato-Katz, Ritchie-, oder Sedimentationstechnik.

Ausschlusskriterien:

Andere Studienmedikamente oder Fasziolide innerhalb der letzten 30 Tage vor Studienbeginn, eine schwere Anämie mit einem Hämoglobinwert < 5 mg%, Patienten mit Symptomen oder Zeichen einer schweren Lebererkrankung anderer Genese wie zum Beispiel bei Alkoholabusus, Hepatitis oder Tumorleiden, Überempfindlichkeit oder Allergie auf Triclabendazolderivate, Patienten mit schwerer renaler, kardialer oder anderer Organdysfunktion (Ausschlusskriterium ein um den Faktor 2,5 über dem Grenzwert liegender Laborwert), schwangere Frauen oder stillende Mütter.

3 Ergebnisse

3.1 Befunde vor Therapie

3.1.1 Klinische Befunde bei Erstuntersuchung

(36/81) 44,4% der Patienten wiesen bei Erstuntersuchung eine palpatorisch vergrößerte Leber auf. Bei (2/81) 2,5% konnte eine Splenomegalie festgestellt werden. Folgende Symptome wurden von den Patienten bei der Erstuntersuchung berichtet: epigastrische Schmerzen (4), Kopfschmerzen (6), Pruritus (5), Schmerzen im rechten Oberbauch (4), Nausea (2), Diarrhoe (1), Urtikaria (1), Schmerzen im linken Oberbauch (1), Arthralgien (1). 51 Frauen und 30 Männer wurden in die Studie aufgenommen. Es fällt der hohe Anteil weiblicher Patienten auf. (63 %) Nach Befragen der Patienten läßt sich das auf einen erhöhten Gemüsekonsum der weiblichen Bevölkerung in dieser Provinz Kubas zurückführen bzw. einige Männer lehnen den Konsum von Gemüse und Salaten gänzlich ab. Ein Patient gab an während der gesamten Infektionsperiode asymptomatisch gewesen zu sein.

Eine Patientin berichtete während der akuten Phase einen Pleurabefall mit *Fasciola hepatica* durchgemacht zu haben, zum Zeitpunkt der Aufnahme waren keine Veränderungen mehr zu beobachten. Fünf Patienten waren cholezystektomiert. Es konnte nur in einem Fall ein direkter Zusammenhang mit einer *Fasciola hepatica*-Infektion nachgewiesen werden. Diesem Patienten wurden nach OP-Bericht bei einer Cholezystektomie zwei *Fasciola hepatica* aus dem Ductus zystikus und drei *Fasciola hepatica* aus dem Ductus hepato-choledochus entfernt. Das Gewicht der Frauen betrug im Median 56 Kg. Das Gewicht der Männer betrug im Median 60 Kg. Der Puls betrug im Median 80 Schläge/min; kein Patient war bradykard (<60/min), 1 Patient war tachykard (>100/min). Die sublingual gemessene Temperatur betrug im Median 36,2°C, kein Patient war febril (>37,2°C). Der nach Riva-Rocci gemessene Blutdruck betrug im Median 120/80 mmHg. Nach WHO Definition waren 4 Patienten hyperten (>140/90mmHg) und ein Patient hypoton (<100/60), (127).

Tabelle 1 Klinische Parameter bei Erstuntersuchung (n=81)

	Median	Min.	Max.	Perzentilen	
				25	75
Gewicht(♀)	56,0	32	83	46,0	67,0
Gewicht(♂)	60,0	36	88	50	67
Temperatur	36,2	35,6	37,1	36,0	36,6

3.1.2 Laborchemische Befunde bei Erstuntersuchung

3.1.2.1 Hämatologische Befunde:

Blutsenkungsgeschwindigkeit:

Die Blutsenkungsgeschwindigkeit der Frauen betrug im Median 20 mm in der ersten Stunde.

Die Erythrozytensedimentation der Männer betrug im Median 15 mm in der ersten Stunde.

(Normwert: Frauen 6-11 mm, Männer 3-8 mm in der ersten Stunde)

Hämoglobin:

Der Hämoglobingehalt des Blutes der Frauen betrug im Median 12,0 g/dl.

Der Hämoglobingehalt des Blutes der Männer betrug im Median 12,6 g/dl.

33/81 (40,7%) Patienten waren anaemisch. Von diesen zeigten 7 Patienten Werte unter 10mg/dl. (Normwert: Frauen 12-16g/dl, Männer 13,5-17g/dl)

Hämatokrit:

Der Hämatokrit der Frauen betrug im Median 39%. Der Hämatokrit der Männern betrug im Median 44%. 19/81 (23,4%) der Patienten hatten einen erniedrigten Hämatokrit. (Normwert: Frauen 37-48%, Männer 40-52%)

Differentialblutbild:

63/81 (77,7%) wiesen einen erhöhten Eosinophilenanteil im Differentialblutbild auf.

Werte bis maximal 62% Eosinophile wurden diagnostiziert. Im Mittel fanden sich folgende Ergebnisse: Neutrophile : 46,3%, Lymphozyten: 35,9%, Eosinophile: 17,6%, Monozyten: 0,5%, Basophile: 0 % (Normwerte: Neutrophile 30-80%, Lymphozyten 15-50%, Eosinophile 0-6%, Basophile 0-2%, Monozyten 1-12%)

Leukozyten:

Die Leukozytenzählung ergab im Median 8.1 G/l. 6/81 (7,4%) der Patienten wiesen eine Leukozytose auf (Normwert: 4,3-10,0 G/l)

Eosinophilenzählung:

Die Eosinophilenzählung ergab im Median 800 mm³. 67/81 (82,6%) der Patienten wiesen einen erhöhten Wert auf (Normwert 80-360 mm³).

Tabelle 2 Laborchemische Befunde bei Erstuntersuchung (n=81)

	Median	Min.	Max.	Perzentile	
				25	75
BSG (♀)	20	5	155	12,00	33,50
BSG (♂)	15	3	120	5,00	30,00
Hb(♀)	12,0	8,5	15,0	11,6	13,0
Hb(♂)	12,6	9,4	14,6	11,7	13,6
Hkt (♀)	39	28	46	38,00	42,00
Hkt (♂)	44	32	58	39,75	44,50
Leuko.	8,10	5,00	16,00	7,0	9,0
Eos.	800	50	5250	350	1250

3.1.2.2 Biochemische Laborparameter:

Harnstoff:

3/81 (3,7%) der Patienten hatten einen erniedrigten und ein Patient einen erhöhten Serumharnstoffwert. Im Median 20 mg/dl. (Normwert 11-55 mg/dl)

Kreatinin:

Bei Bestimmung der Serumkreatininwerte wurden keine pathologischen Werte festgestellt
Der Median betrug 77 μ mol/l. (Normwert:62-132 μ mol/l)

Glutamat-Oxalacetat-Transaminase (GOT)

41/81 (50,6%) der Patienten wiesen einen erhöhten GOT -Wert auf . Im Median 23 IU/ml
(Normwert < 21 IU/ml)

Glutamat-Pyruvat-Transaminase (GPT)

32/81 (39,4%) der Patienten wiesen einen erhöhten GPT -Wert auf . Im Median 18,5 IU/ml
(Normwert < 21 IU/ml)

Bilirubin:

4/80 (5%) der Patienten zeigten einen pathologisch erhöhten Billirubinwert. Im Median 0,50 mg/dl. (Normwert bis 1,2 mg/dl)

Alkalische Phosphatase:

14/79 (17,7%) der Patienten wiesen einen erhöhten AP -Wert auf. Im Median 101 IU/ml
(Normwert < 170 IU/ml)

Tabelle 3 Biochemische Laborparameter bei Erstuntersuchung

	Median	Min	Max.	Perzentile	
				25	75
HARN	20,0	6	66	15,0	26,0
KREA	77,0	61	129	71,0	84,0
GOT	23,0	12	213	19,0	29,0
GPT	18,5	6	315	13,5	33,0
BILI	0,50	0,15	2,5	0,40	0,64
AP	101,0	46	1116	73,0	148,0

3.1.3 Parasitologische Befunde :

Der Nachweis von *Fasciola hepatica* Eiern in mindestens einer der 3 mikroskopischen Stuhluntersuchungen (Kato modifiziert nach Katz, Ritchie-, und Sedimentationsmethode) war ein Kriterium für die Aufnahme in diese Studie. Bei klinischem Verdacht wurden bei einigen Patienten Stuhluntersuchungen an mehreren Tagen durchgeführt.

Bei der Stuhluntersuchung nach Kato modifiziert nach Katz werden jeweils 3 Proben angefertigt.

Tabelle 4 Einachweis von *Fasciola hepatica* in den mikroskopischen Stuhluntersuchungen

Methode	N	In %	Durchschnittl. Eimenge pro Untersuchung
Kato-Katz	81	100	3,5 (Mittelwert aus 3 Proben / Gramm Stuhl)
Ritchie	67	82,6	4,2
Sedimentation	79	97,5	5,8

3.1.4 Immunparasitologische Befunde

3.1.4.1 Spezifische Antikörperbestimmung mittels ELISA

Ab einem Wert von $\geq 0,368$ optisch Dichte wurde die immunologische Serumantigenbestimmung mittels ELISA als positiv eingestuft. 74/77 (96,1%) der Patienten zeigten positive ELISA Werte.

3.1.4.2 Bestimmung exkretorisch-sekretorischer Antigene im Stuhl (FES)

Ab einem Wert von $\geq 0,24$ wurde die immunologische E-S-Antigenbestimmung im Stuhl mittels Elisa als positiv eingestuft. 66/80 (82,5%) der Patienten zeigten positive FES-Stuhluntersuchungen.

Tabelle 5 Immunparasitologische Befunde bei Studienbeginn

	positiv		negativ	
	n	%	n	%
ELISA	74 (77)	96,1%	3 (77)	3,9%
FES	66 (80)	82,5%	14 (80)	17,5%

3.1.5 Ultraschallbefunde

Verdächtige und für Fasciolose pathognomonische Ultraschallbefunde (Score 3 und 4):

Spontan sich bewegende adulte Parasiten konnten bei Aufnahme nur in einem kleinen Teil der Patienten nachgewiesen werden (2/76, 2,6%).(Abb.6)

Durch mehrfachen Lagewechsel von liegend zu Seitenlage, Sitzen und Stehen konnte die Darstellung verbessert werden. Auch war es teilweise möglich durch vorsichtiges Palpieren der Gallenblase mit einem Finger die Parasiten zu spontaner Bewegung zu stimulieren.

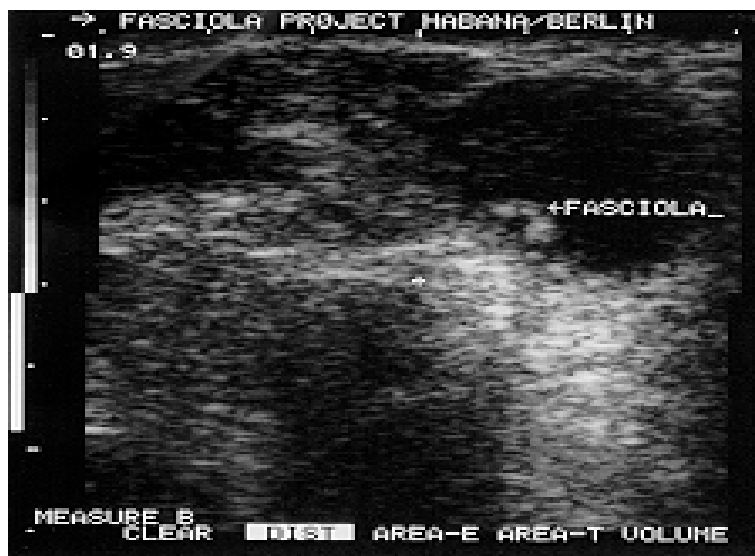


Abb. 4 Fasciola hepatica zeigte unter Ultraschall lebhaftige Bewegung

Verdächtige Befunde die bei 14/76 (18,3%) Patienten gefunden wurden, waren: geformter, nicht der Gravitation folgender Gallenblasengries (4/76), siehe Abb. 5 und halbmondförmige Bestandteile in der Gallenblase oder in den Gallengängen (4/76), siehe Abb. 6 und Abb. 4.

Der geformte nicht der Gravitation folgender Gallenblasengries erscheint verdächtig für eine *Fasciola hepatica* Infektion da in Nachuntersuchungen ein Umbauprozess sich spontan bewegendender *Fasciola hepatica* bis zu diesem Zustandsbild nachvollzogen werden konnte, und gewöhnlicher Gallenblasengries der Gravitation folgt (116). Halbmondförmige Bestandteile wurden als sehr verdächtiger Sonographiebefund bewertet, siehe frühere Untersuchungen (53, 30, 28, 25, 13, 9, 10). Bei eigenen Größenberechnungen ergab ein Mittelwert aus 10 Messungen eine Länge von 14,5 mm. Diese Messungen wurden von Scheitelpunkt zu Scheitelpunkt des halbmondförmigen Parasiten vorgenommen und zeigen eine gute Übereinstimmung mit Messungen von aus Schlachttieren gewonnen *Fasciola hepatica*.



Abb. 5 Geformter Gallenblasengries ← in der Gallenblase

Erstaunlicherweise gelang nur in einem kleinen Teil der Patienten die Bestätigung der Diagnose durch Ultraschall obwohl *Fasciola hepatica* die in einem Wassercontainer geschallt werden gut darstellbar sind. Eventuell sind die Parasiten durch ihre Saugnäpfe gut mit der Gallenblasenwand verbunden und können so nicht dargestellt werden. Diese Vermutung wird unterstützt von der Tatsache das bei postprandialen Untersuchungen trotz Behinderung durch Darmgase und Nahrungsmittelpassage in einigen Fällen die Egel darstellbar waren.

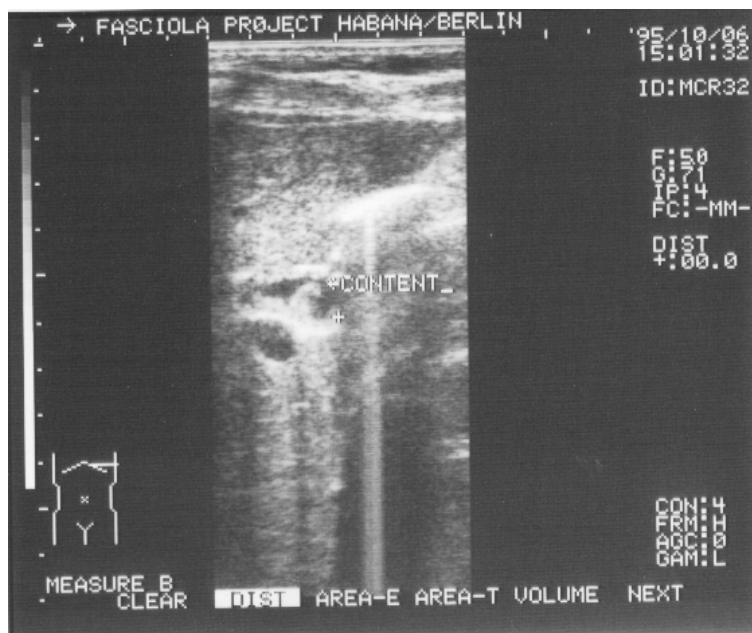


Abb. 6 Halbmondförmiger Bestandteil (Content) im Ductus biliaris communis

Wahrscheinlich liegt durch die postprandiale Kontraktion der Gallenblasenwand der Egel dieser nicht mehr vollständig an. Auch wurden nach Therapie deutlich mehr verdächtige und pathognomonische Befunde darstellbar. Score 3 (sehr verdächtige Befunde) erhöhte sich von 18,3% auf 30,3% und Score 4 (pathognomonische Befunde), erhöhte sich von 2,6% auf 6,5 %.

Verdächtige aber weniger spezifische Gallengangsveränderungen (Score 2):

Bei 36/76 (47,3%) der Patienten konnten nur verdächtige Gallenwegsveränderungen nachgewiesen werden. Diese beinhalten das positive Murphy-Zeichen während der sonographisch gesteuerten Palpation, Gries und Steine in der Gallenblase, behinderte Gallenblasenkontraktion, und Gallengangserweiterung aufgrund extrahepatischer Obstruktion.

Patienten ohne Gallenwegsveränderungen (Score 0 und 1):

Nur eine Hepato- oder Splenomegalie ohne Gallengangsveränderungen oder sonstige für *Fasciola hepatica* verdächtige Befunde wurden bei 3/76 (3,9%) der Patienten erhoben. Bei 21/76 (27,6%) der Patienten konnten keine sonographischen Veränderungen dargestellt werden.

Graphische Darstellung der sonographischen Befunde am Aufnahmetag:

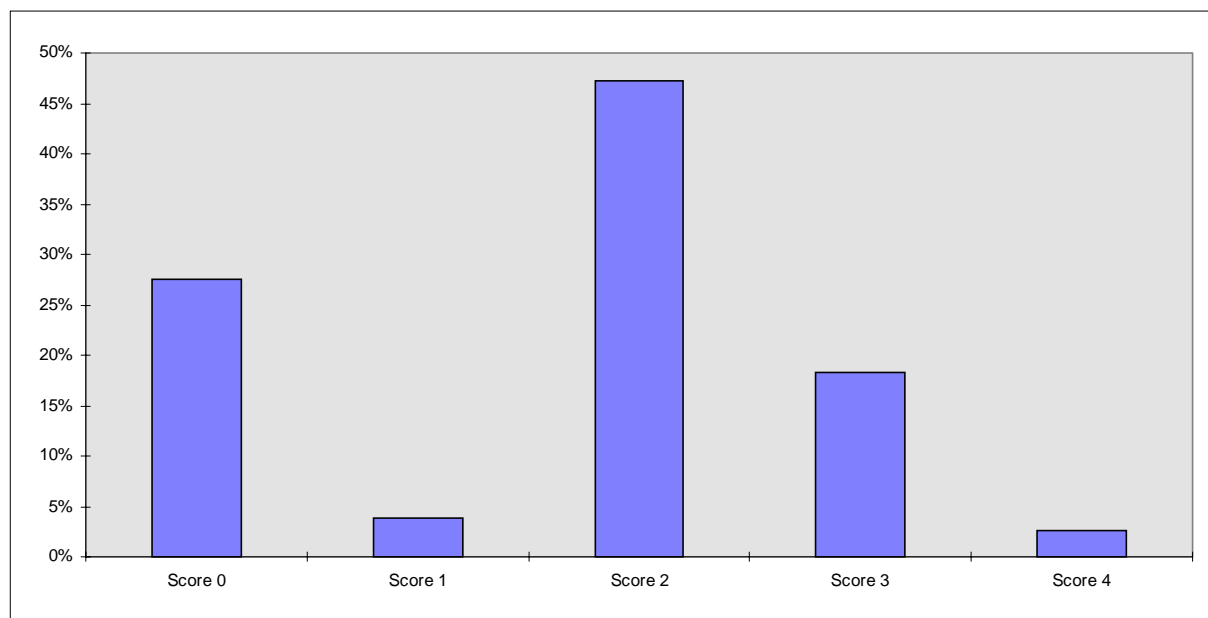


Abb.7 Ultraschallbefunde vor Therapie mit Triclabendazol

3.2 Vorangegangene Therapieversuche

In der Vorgeschichte fanden sich alle bekannten fascioliciden Medikamente und Therapieschemata. 59 Patienten unterzogen sich einer Praziquanteltherapie, 26 nahmen Metronidazol ein, Thiabendazol kam in 7 Fällen und Mebendazol in 5 Fällen zum Einsatz. Außerdem wurden Emetin in drei und Bithionol in drei Fällen verabreicht .

7 Patienten waren mit drei, 7 mit zwei, und 68 mit einem Antihelminthika vorbehandelt worden.

Dosierungen:

Praziquantel war in einer Dosierung von 75 mg/kg Körpergewicht einmal täglich entweder für drei oder für sieben Tage verabreicht worden. Metronidazol wurde in einem 14-tägigen Regime a drei mal zwei Tabletten (500 mg) gegeben, entsprechend einer Gesamtdosis von 42 Gramm. Für die folgenden Medikamente konnte nur noch die Anzahl der Tabletten aber nicht mehr die genaue Dosierung ermittelt werden. Thiabendazol 7 Tabletten für 10 Tage, Mebendazol 2 Tabletten für 2 Tage, Emetin eine Tablette für 10 Tage, und Bithionol 10 Tabletten für 10 Tage.

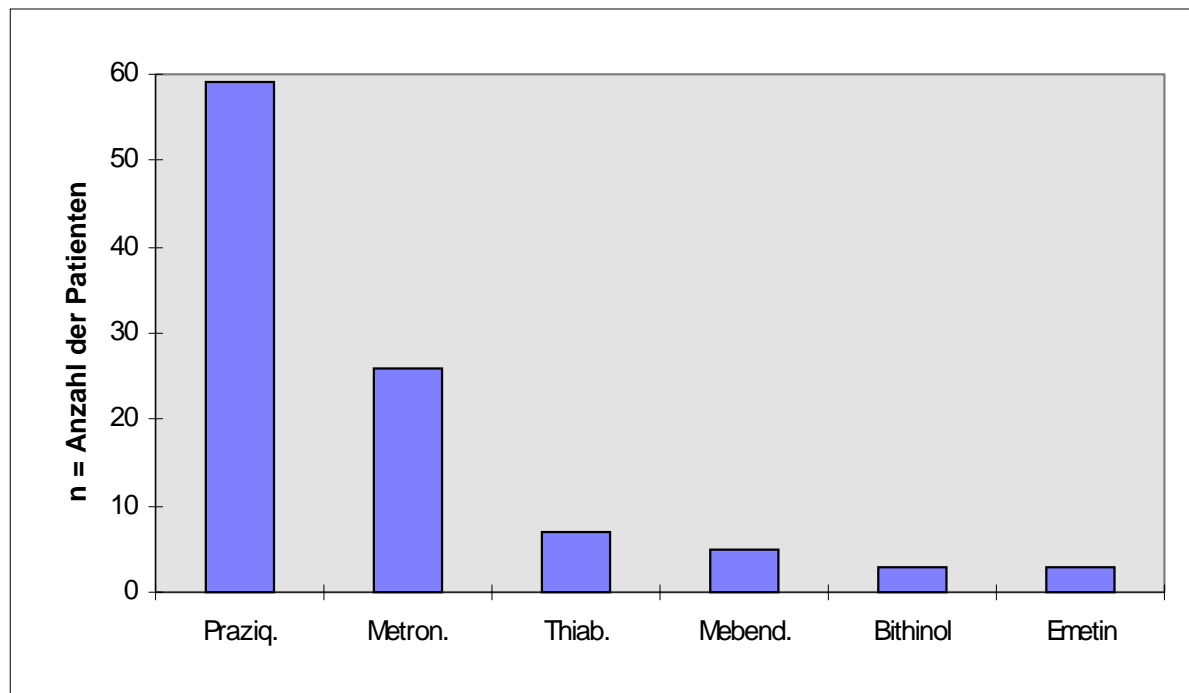


Abb.8 Vorangegangene Therapieversuche bei chronischer *Fasciola hepatica* Infektion (n=Anzahl der Patienten)

3.3 Verabreichung von Triclabendazol:

Triclabendazol wurde in einer Dosierung von 10 Milligramm pro Kg Körpergewicht zwei mal im Abstand von 12 Stunden verabreicht. Da die postprandiale Gabe von Triclabendazol zu deutlich höheren Plasmaspiegel führt, wurde die erste Dosis um 20 Uhr zusammen mit dem Abendessen, und die zweite Dosis morgens um 8 Uhr mit einem Frühstück verabreicht (126). In keinem Falle kam es direkt nach der Aufnahme des Medikamentes zu gastrointestinalen Reaktionen. Eine geplante Nachdosierung im Falle von Erbrechen bis 2 Stunden nach Gabe der eigentlichen Dosis wurde nicht benötigt. Das Medikament lag als 250mg Tablette vor, so dass diese teilweise geviertelt werden musste um die Dosierung mit einer vorgegebenen Schwankungsbreite von $\pm 10\%$ einhalten zu können.

3.4 Nebenwirkungen

61/81 Patienten (75,2%) berichteten über Nebenwirkungen, wobei in 54/81 (66,7%) diese Nebenwirkungen durch die Untersucher in wahrscheinlichem Zusammenhang mit der Wurmexpulsion oder der direkten Wirkung des Triclabendazol eingeschätzt wurde. Triclabendazol wird nach oraler Aufnahme in seine aktiven Metaboliten Triclabendazol-Sulfon und Triclabendazol-Sulfoxid metabolisiert. Bei in Vivo Untersuchungen an Hasen wurde die höchste Plasmkonzentration nach 7,5 h für das Sulfon beziehungsweise nach 9 Stunden für das Sulfoxid erreicht. Plasmaeliminationshalbwertszeiten betragen 13 Stunden für das Sulfon beziehungsweise 13,8 Stunden für das Sulfoxid. Dies legt nahe, dass ein Teil der Nebenwirkungen auf der Wurmexpulsion beruht, da zum Zeitpunkt (Tag 3-7) der meisten Nebenwirkungen (Gallenwegskolik, epigastrische Schmerzen, Kopfschmerzen, Nausea, und Fieber), Triclabendazol zum überwiegenden Anteil bereits aus dem Körper eliminiert ist (128).

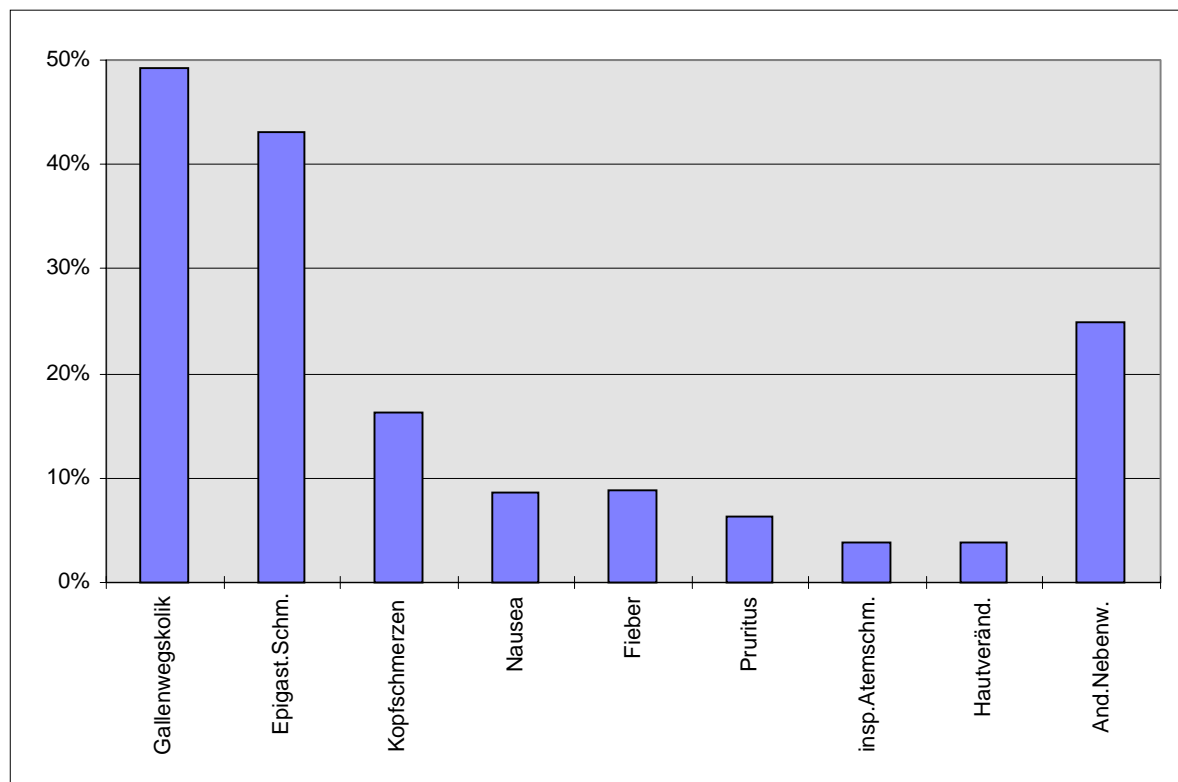


Abb. 9 Nebenwirkungen nach Triclabendazol Therapie

Gallenwegskolik:

40/81 (49,4%) der Patienten entwickelten eine Gallenwegskolik. Bei 21/81 (25,9%) der Patienten mussten die Beschwerden medikamentös behandelt werden in der Regel mit Butylscopolamin (Buscopan®) oral oder intravenös. Weitere 19/81 Patienten (23,4%) litten unter einer milden Gallenwegskolik, die entweder gar nicht oder mit oralen Spasmolytika behandelt wurde. Auffällig ist das zeitliche Auftreten der Gallenwegskoliken mit einem Höhepunkt um Tag 4-5 und eine zweite Häufung in der Nachuntersuchungsperiode. Auch unter Berücksichtigung der nicht geheilten Patienten an Tag 15 (1 Patient), Tag 30 (2 Patienten), Tag 60 (2 Patienten) scheint hier eine zweite Passage von Fasciola Bestandteilen durch die Gallenwege stattzufinden. Es ist auch anzumerken, dass in der Phase der höchsten Inzidenz (Tag 3-5) keiner der Therapieversager (n=6) an einer Gallenwegskolik litt.

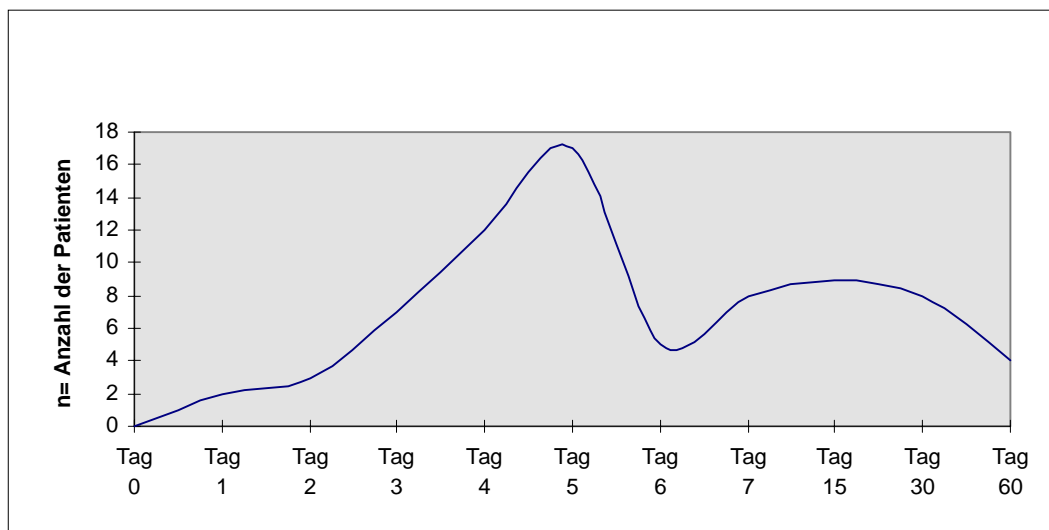


Abb. 10 Zeitlicher Verlauf des Auftretens einer Gallenwegskolik nach Therapie mit Triclabendazol (Tag 0= vor Therapie)

Epigastrischer Schmerz:

35/81 Patienten (43,1%) berichteten im Verlauf mindestens einmal über epigastrische Schmerzen. Bei starken Schmerzen wurden die Patienten mit oralen Analgetika behandelt.

Kopfschmerzen:

13/81 (16,0%) der Patienten berichteten über neuauftretene Kopfschmerzen während der Therapie. Sie waren von mittlerer Stärke und ließen sich mit einem oralen analgetischen Mischpräparat aus Acetylsalicylsäure und Metamizol behandeln.

Nausea:

Nausea trat bei 7/81 (8,6%) der Patienten auf. Diese Nebenwirkung trat in 3/7 (42,8%) in Zusammenhang mit einer Gallenwegskolik auf. In keinem Fall kam es während der Einnahme von Triclabendazol (Tag 0-1) zu Beschwerden.

Fieber:

Bei 7/81 (8,6%) der Patienten kam es zu Fieber das nicht auf andere Krankheitsursachen wie Pharyngitis oder Virusgrippe zurückzuführen war. Sobald der Verdacht auf eine Cholezystitis bestand, wurde eine intravenöse antibiotische Therapie eingeleitet.

Hautveränderungen:

Zwei Patienten zeigten urtikarielle Hautveränderungen. Bei einer Patientin korrelierten die Hautveränderungen mit der Einnahme von Triclabendazol. Wenige Stunden nach Einnahme der zweiten Dosis (Tag 1), präsentierte sich diese Patientin mit Urtikaria am ganzen Körper unter Aussparung des Gesichts. Diese Veränderungen waren ohne therapeutische Intervention an Tag 3 nicht mehr nachweisbar.

Pruritus:

5/81 (6,1%) der Patienten berichteten über Pruritus. In zwei Fällen im Zusammenhang mit Urtikaria und in drei Fällen im Zusammenhang mit Ikterus.

Inspiratorischer Atemschmerz:

3/81 (3,7%) der Patienten berichteten über inspiratorische Atemschmerzen. Ein Symptom über das bei *Fasciola hepatica* Infektionen gelegentlich berichtet wird (1, 4, 18).

Andere Nebenwirkungen:

-Andere eventuell mit Triclabendazol assoziierte Nebenwirkungen traten bei 10 Patienten auf: Schmerzen in der Milzgegend (1), Pharyngitis (2), Ikterus (2), erhöhter RR neu aufgetreten (1), Schmerzen in der Herzgegend (1), Makrohämaturie (1), Durchfall (1), Nierenschmerzen (1).

-Weitere Nebenwirkungen die als nicht im Zusammenhang mit der Therapie stehend eingeschätzt wurden: Rückenschmerzen (2), Katarh (2), Nierenkolik wegen Urolithiasis (1) (sonographisch bereits vor Aufnahme nachweisbar), Synkope bei erhöhten Blutdruck (1), Ischialgie (1).

3.5 Befunde nach Therapie

3.5.1 Klinische Beobachtungen

Vitalparameter:

Im Falle der Vitalparameter (Blutdruck, Puls und Temperatur) ließen sich keine relevanten Veränderungen während der Studiendauer beobachten. (Normwerte: RR systolisch 140-100mmHg, RR diastolisch 90-60mmHg nach WHO; Puls: 60-100 Schläge/min, Temperatur 36,2-37,2°C)

Tab. 6 Verlaufsbeobachtung der Vitalparameter nach Therapie mit Triclabendazol

	Anz. Pat.	Median	Min.	Max.	Perzentilen	
					25	75
Puls						
Tag0	82	80	62	118	76	84
Tag 3	82	80	62	88	76	82
Tag 7	82	80	60	90	76	84
Tag 30	77	80	64	88	76	80
Tag 60	79	80	68	92	78	80
RR systolisch						
Tag 0	81	120	90	180	110	130
Tag 3	81	120	100	190	110	130
Tag 7	81	120	90	170	110	120
Tag 30	79	120	90	160	110	130
Tag 60	79	130	100	160	110	140
RR diastolisch						
Tag 0	81	80	60	110	70	80
Tag 3	81	80	60	100	70	80
Tag 7	81	80	60	90	70	80
Tag 30	79	80	60	100	70	80
Tag 60	79	80	60	100	70	85
Temperatur						
Tag 0	81	36,2	35,6	37,1	36,0	36,6
Tag 3	81	36,4	35,0	38,3	36,2	36,6
Tag 7	81	36,2	26,0	37,2	36,0	36,5
Tag 30	81	36,2	26,0	37,4	36,0	36,4
Tag 60	81	36,0	35,5	37,6	36,0	36,4

Gewicht:

Das Gewicht der Patienten nahm während des zweimonatigen Untersuchungszeitraumes im Median um zwei Kilogramm zu.

Tab. 7 Verlaufsbeobachtung Körpergewicht nach Therapie mit Triclabendazol

	Anz. Pat.	Median	Min.	Max.	Perzentilen	
					25	75
Gewicht ♀						
Tag 0	51	56	32	83	46,00	67,00
Tag 3	49	56	31	83	45,50	67,50
Tag 7	51	56	30	83	47,00	67,00
Tag 30	48	57	30	82	48,50	67,75
Tag 60	49	58	31	84	50,00	67,00
Gewicht ♂						
Tag 0	30	60	36	88	50,00	67,00
Tag 3	30	60	36	89	50,75	68,00
Tag 7	30	59	35	89	50,75	66,25
Tag 30	28	60	38	89	52,00	66,00
Tag 60	29	62	39	89	50,50	67,00

3.5.2 Laborchemische Parameter

3.5.2.1 Hämatologische Laborparameter

Blutsenkung:

Die Blutsedimentationsgeschwindigkeit (BSG) wurde nach einer Stunde ermittelt. Bei den weiblichen Patienten findet sich an Tag 0 eine insgesamt erhöhte BSG von 20 mm/1h (Median), die unter der Therapie weiter steigt; 30mm/1h (Tag 7), um dann während der Nachuntersuchungen kontinuierlich bis auf einen Wert von 18 mm/1h abzufallen (Tag 60). (Normwert bis 6-11mm/1h) Bei den männlichen Patienten findet sich an Tag 0 eine insgesamt erhöhte BSG von 15 mm/1h (Median), die unter der Therapie weiter steigt; 20 mm/1h (Tag 7), um dann während der Nachuntersuchungen kontinuierlich bis auf einen Wert von 6 mm/1h abzufallen (Tag 60). (Normwert bis 3-8mm/1h)

Hämoglobin:

Bei den weiblichen Patienten zeigten sich unter Therapie keine nennenswerten Veränderungen des Hämoglobins, im Verlauf der Nachuntersuchungen ließ sich ein Anstieg von 0,6 g/dl beobachten. (Normwert:12-16 g/dl) Bei den männlichen Patienten zeigten sich unter Therapie keine nennenswerten Veränderungen des Hämoglobins, im Verlauf der Nachuntersuchungen ließ sich ein Anstieg von 0,5 g/dl beobachten. (Normwert:13,5-17 g/dl)

Vor der Therapie zeigten 33/81 (40,7%) der Patienten einen erniedrigten Hämoglobingehalt. Bei der Nachuntersuchung an Tag 60 wiesen noch 25/79 (31,6%) der Patienten einen erniedrigten Hämoglobingehalt auf. Die Anzahl der Patienten mit weniger als 10g Hb/dl verringerte sich von 7 Patienten (Tag 0) auf 3 Patienten (Tag 60).

Tab. 8 Verlaufsbeobachtung von BSG und Hämoglobin nach Therapie mit Triclabendazol

	Anz. Pat.	Median	Min.	Max.	Perzentilen	
BSG ♀					25	75
Tag 0	42	20,0	5	155	12,00	35,00
Tag 3	43	20,0	5	135	12,00	33,00
Tag 7	44	30,0	5	133	18,25	45,00
Tag 15	47	22,0	5	125	15,00	42,00
Tag 30	48	21,5	5	87	15,00	30,00
Tag 60	49	18,0	5	80	8,50	27,50
BSG ♂						
Tag 0	28	15,0	3	120	5,00	30,00
Tag 3	28	13,5	2	130	5,25	25,75
Tag 7	28	20,0	2	130	7,00	41,50
Tag 15	31	12,0	3	110	7,00	38,00
Tag 30	28	10,5	2	70	5,00	31,25
Tag 60	30	6,00	2	57	3,50	12,75
Hb ♀						
Tag 0	51	12,00	8,5	15,0	11,700	13,000
Tag 3	51	12,20	8,3	14,9	11,600	12,900
Tag 7	51	12,40	8,9	15,3	11,100	13,100
Tag 15	51	12,00	8,8	15,0	10,800	13,000
Tag 30	51	12,30	9,0	15,0	11,500	13,200
Tag 60	51	12,50	8,8	15,3	11,800	13,000
Hb ♂						
Tag 0	26	12,65	9,4	14,6	11,700	13,675
Tag 3	26	12,85	9,9	14,4	11,775	13,725
Tag 7	26	12,65	9,3	15,2	11,775	13,900
Tag 15	26	13,00	10,0	14,0	11,400	13,800
Tag 30	26	13,00	10,1	15,0	11,950	13,500
Tag 60	26	13,25	11,5	15,9	12,975	14,000

Hämatokrit:

Es wurden keine Veränderungen des Hämatokrit beobachtet:

(Normwert: M.40-52%, F.37-48%)

Leukozyten:

Es fand sich eine diskrete Erniedrigung der Leukozytenzahlen während der Studiendauer von 8,1 auf 7,2*10E9/l. (Normwert 4-10*10E9/l)

Tab. 9 Verlaufsbeobachtung Hämatokrit und Leukozyten nach Therapie mit Triclabendazol

	Anz. Pat.	Median	Min.	Max.	Perzentilen	
Hämatokrit ♀					25	75
Tag 0	51	39	28	46	38,00	42,00
Tag 3	50	39	28	45	38,00	42,00
Tag 7	50	40	30	44	36,00	42,00
Tag 15	48	39	28	46	35,25	42,00
Tag 30	50	40	30	46	38,00	42,00
Tag 60	50	40	24	48	39,00	42,00
Hämatokrit ♂						
Tag 0	30	44	32	58	39,75	44,50
Tag 3	29	44	32	50	41,50	44,00
Tag 7	30	44	30	50	40,00	46,00
Tag 15	31	44	30	50	40,00	44,00
Tag 30	29	42	34	50	42,00	46,00
Tag 60	30	44	30	54	42,00	46,00
Leukozyten						
Tag 0	72	8,10	5,0	16,0	6,925	9,000
Tag 3	71	8,0	5,0	11,0	7,300	8,600
Tag 7	70	8,0	4,8	12,0	7,075	9,100
Tag 15	70	8,0	5,2	19,1	6,975	9,175
Tag 30	69	7,8	1,0	10,2	6,650	8,650
Tag 60	70	7,2	4,3	13,5	6,000	9,000

Eosinophilenzählung:

Bei der Aufnahmeuntersuchung (Tag 0) findet sich eine erhöhte Eosinophilenzahl von 800/mm³ (Median), die im Verlauf der Wurmaustreibung auf 1050/mm³ (Tag 7) ansteigt um dann kontinuierlich bis auf 500/mm³ (Tag 60) abzufallen. Vor Therapie wiesen 67/81 (82,6%) einen erhöhten Wert auf. Bei der Nachuntersuchung an Tag 60 waren noch 36/68 (52,9%) der Patienten über dem Normwert. (Normwert: 80-360/mm³)

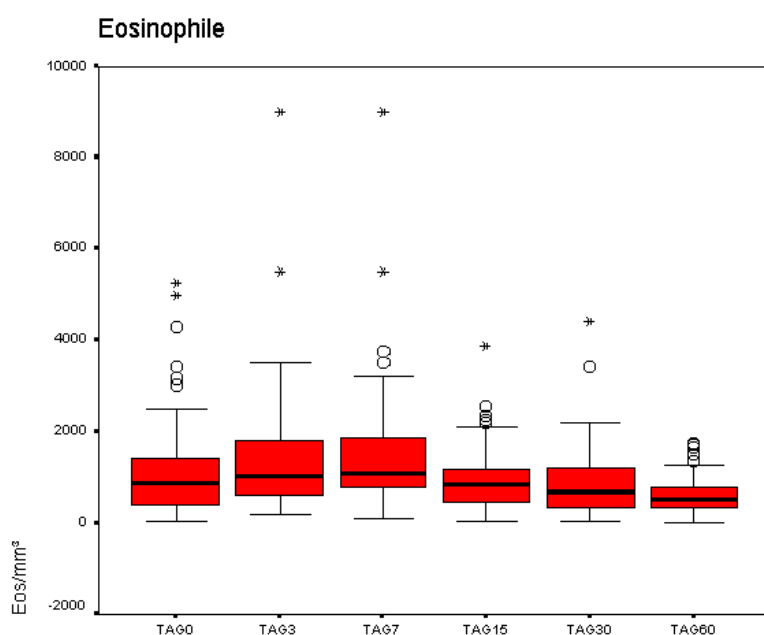


Abb. 11 Eosinophilenzählung nach Therapie mit Triclabendazol

Differentialblutbild:

Bei neutrophilen und basophilen Granulozyten, Lymphozyten, und Monozyten, lassen sich keine relevanten Veränderungen erkennen. Die eosinophilen Leukozyten stiegen von 17,6% (Tag 0) auf 19,8% (Tag 7) und fallen bis Tag 60 auf 9,3% . An Tag 0 wiesen 63/81 (77,7%) der Patienten einen erhöhten Eosinophilenanteil im Differtialblutbild auf. Bei der Nachuntersuchung an Tag 60 zeigten 45/79 (56,9%) der Patienten einen erhöhten Wert.

(Normwerte: Neutrophile 30-80%; Lymphozyten 15-50%; Eosinophile 0-6%;Basophile 0-2%; Monozyten 1-12%)

Tab. 10 Differentialblutbild nach Therapie mit Triclabendazol

	Neutroph.	Lymph.	Eosin.	Monoz.	Basoph.
Tag 0	46,3%	35,9%	17,6%	0,55%	0%
Tag 3	43%	37,1%	18,6%	1,26%	0%
Tag 7	44,9%	34,7%	19,8%	0,41%	0%
Tag15	45,3%	45,3%	15,9%	0,95%	0%
Tag30	46%	46%	13,8%	1,16%	0%
Tag 60	51,9%	37,5%	9,34%	1,14%	0%

Legende: (Neutroph.) = neutrophile Granulozyten; (Basoph.) = basophophile Granulozyten, (Lymph.) = Lymphozyten , (Eosin.)= eosinophile Granulozyten, (Monoz.) = Monozyten,

3.5.2.2 Biochemische Laborparameter:

Harnstoff:

Bei Aufnahme betrug der Serumharnstoffwert im Median 20 mg/dl, an Tag 7; 27 mg/dl und bei der Nachuntersuchung an Tag 60; 19 mg/dl. 3/81 (3,7%) der Patienten hatten bei Aufnahme einen erhöhten und 1 Patient einen erniedrigten Serumharnstoffwert. An Tag 7 zeigte ein Patient einen erhöhten und ein Patient einen erniedrigten Wert. Bei der Nachuntersuchung an Tag 60 hatten 2/79 (2,5%) einen erhöhten und 2/79 (2,5%) einen erniedrigten Serumharnstoffwert. (Normwert 11-55mg/dl)

Serumkreatin:

Bei Bestimmung der Serumkreatininwerte wurden während der gesamten Untersuchungsperiode keine pathologischen Werte festgestellt. (Normwert: 62-132 $\mu\text{mol/l}$)

Tab. 11 Harnstoff und Serumkreatinin nach Therapie mit Triclabendazol

	Anz. Pat.	Median	Min.	Max.	Perzent.	
Harnstoff					25	75
Tag 0	81	20	6	66	15,00	26,00
Tag 3	81	28	8	98	22,00	33,50
Tag 7	81	27	14	59	22,50	34,00
Tag 15	79	21	7	71	16,00	28,00
Tag 30	79	22	9	82	18,00	30,00
Tag 60	80	19	6	69	15,00	24,00
Kreatinin						
Tag 0	81	77	61	129	71,00	84,00
Tag 3	81	86	62	129	76,00	93,00
Tag 7	81	80	60	125	72,00	89,00
Tag 15	79	75	55	114	69,00	84,00
Tag 30	79	77	60	125	68,00	86,00
Tag 60	80	72	60	98	63,00	80,75

Leberenzyme:

Bei allen drei untersuchten Leberenzymen läßt sich eine deutliche Steigerung um den siebten Tag erkennen, die in der Folgephase unter den Ausgangswert fallen. Es ist anzumerken das die GOT bei dem größten Teil der Patienten erhöht ist, die GPT jedoch den höchsten Zuwachs unter der Therapie erfährt. Bei der GPT findet sich Tag 7 eine Steigerung von 290%, bei der GOT von 140%, und bei der ALP von 26% gegenüber Tag 0.

Alkalische Phosphatase:

Bei der Aufnahme wiesen 14/79 (17,7%) der Patienten einen erhöhten ALP -Wert auf, im Median 101 IU/l. An Tag 7 hatten 41/81 (50,6%) der Patienten einen erhöhten Wert, im Median 129 IU/l. Bei der Nachuntersuchung an Tag 60 zeigten 6/79 (7,5%) der Patienten einen pathologischen Wert, im Median 92 IU/l. (Normwert < 170 IU/ml)

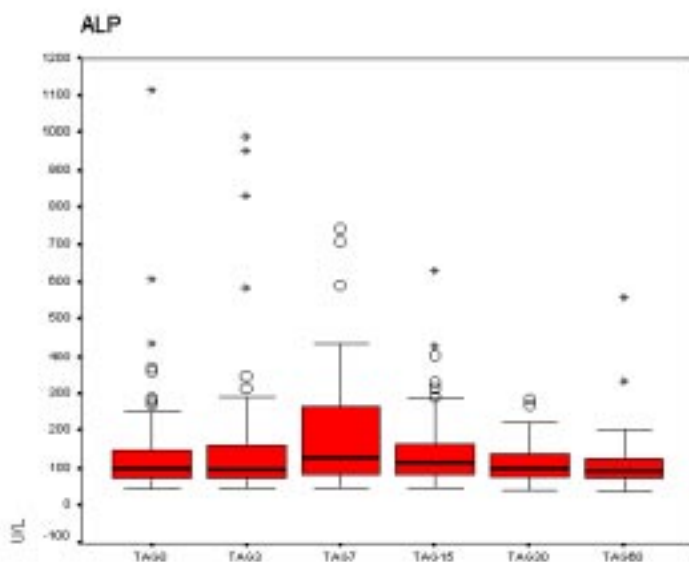


Abb. 12 Verlaufsbeobachtung der alkalische Phosphatase nach Therapie mit Triclabendazol

Gluamat-oxalacetat-Transaminase: (GOT)

Bei der Aufnahme wiesen 41/81 (50,6%) der Patienten einen erhöhten GOT -Wert auf, im Median 23 IU/l. Bei der Untersuchung an Tag 7 hatten 54/81 (66,6%) der Patienten einen erhöhten Wert, im Median 29 IU/l. Bei der Nachuntersuchung an Tag 60 zeigten 37/79 (46,8%) der Patienten einen pathologischen Wert, im Median 21 IU/l. (Normwert < 21 IU/ml)

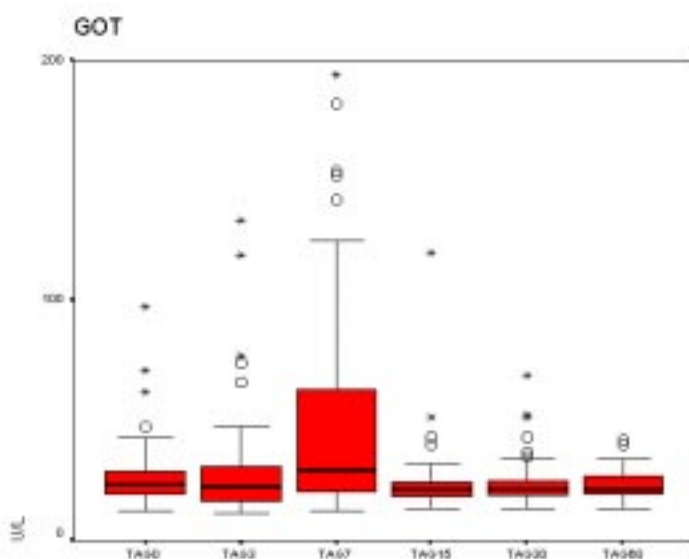


Abb. 13 Verlaufsbeobachtung GOT nach Therapie mit Triclabendazol

Folgende Extremwerte wurden nicht in dem Box Plot abgebildet: Tag7 (209,214,259,417,447 U/L); Tag15 (663 U/L)

Glutamat-Pyruvat-Transaminase: (GPT)

Bei der Aufnahme wiesen 32/81 (39,4%) der Patienten einen erhöhten GPT -Wert auf, im Median 18,5 IU/l. Bei der Untersuchung an Tag 7 hatten 54/81 (66,6%) der Patienten einen erhöhten Wert, im Median 43 IU/l. Bei der Nachuntersuchung an Tag 60 zeigten 29/79 (36,7%) der Patienten einen pathologischen Wert, im Median 18 IU/l. (Normwert < 21 IU/l)

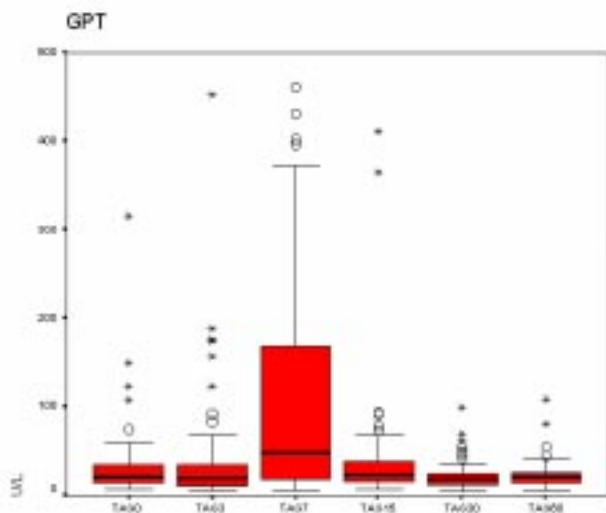


Abb. 14 Verlaufsbeobachtung GPT nach Therapie mit Triclabendazol

Folgende Extremwerte wurden nicht in dem Box Plot abgebildet: Tag7 (837 U/L); Tag15 (711 U/L)

Bilirubin:

Bei der Aufnahme zeigten 4/81 (5,0%) der Patienten einen pathologisch erhöhten Bilirubinwert, im Median 0,50 mg/dl. Bei der Untersuchung an Tag 7 hatten 6/81 (7,4%) der Patienten einen erhöhten Wert, im Median 0,45 mg/dl. Bei der Nachuntersuchung an Tag 60 zeigten 6/79 (7,5%) der Patienten einen pathologischen Wert, im Median 0,48 mg/dl. (Normwert bis 1,2 mg/dl)

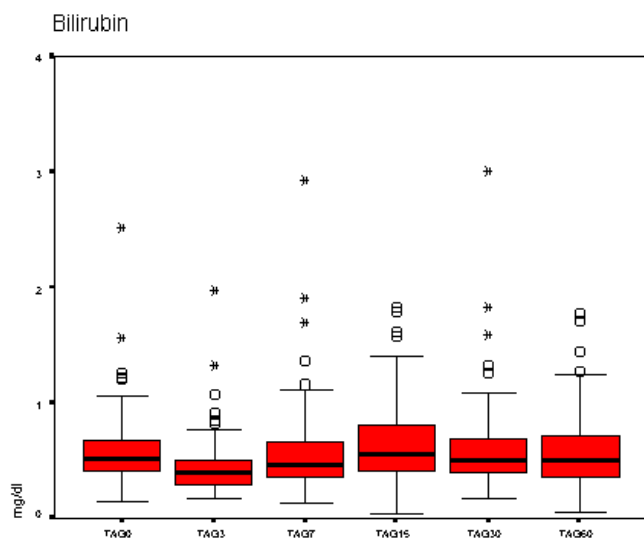


Abb. 15 Verlaufsbeobachtung von Bilirubin nach Therapie mit Folgende Extremwerte wurden nicht in dem Box Plot abgebildet: Tag 3 (4,59 mg/dl); Tag 7 (7,98 mg/dl)

3.5.3 Parasitologische Parameter

3.5.3.1 Stuhluntersuchungen

Stuhluntersuchung nach Ritchie:

Bei 67/81 (82,6%) Patienten wurden bei Aufnahme *Fasciola hepatica*-Eier durch diese Technik nachgewiesen, im Durchschnitt 4,2 Eier pro Probe. An Tag 7 wurden bei 3/81 (3,7%) Patienten, an Tag 15 bei 1/79 (1,2%) Patienten, und an Tag 60 bei 2/76 (2,6%) Patienten *Fasciola hepatica* Eier nachgewiesen.

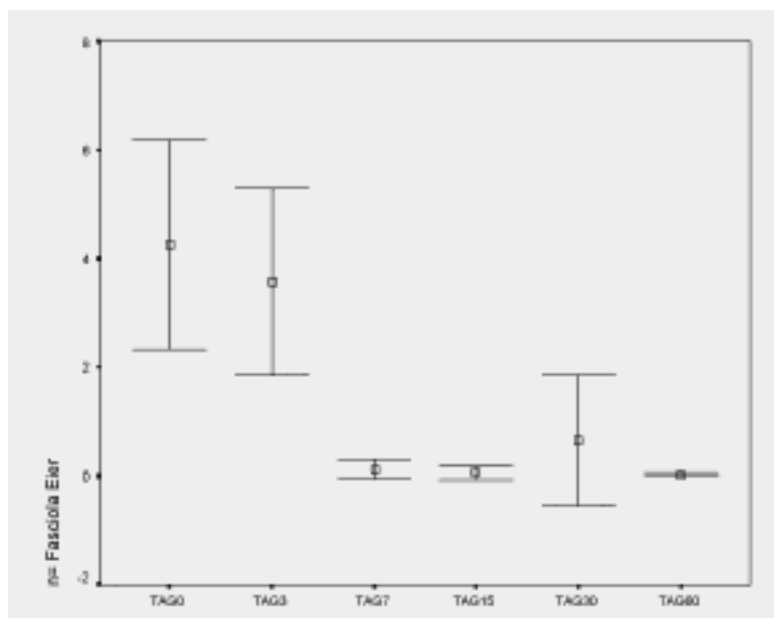


Abb. 16 Verlaufsbeobachtung der Stuhluntersuchung nach Ritchie unter Therapie mit Triclabendazol

Sedimentationsmethode:

Bei Aufnahme gelang bei 79/81 (97,5%) Patienten der Einachweis im Durchschnitt 5,8 Eier. An Tag 7 konnten bei 3/81 (3,7%), an Tag 15 bei 2/79 (2,5%) und an Tag 60 bei 5/76 (6,5%) der Patienten *Fasciola hepatica* Eier nachgewiesen werden.

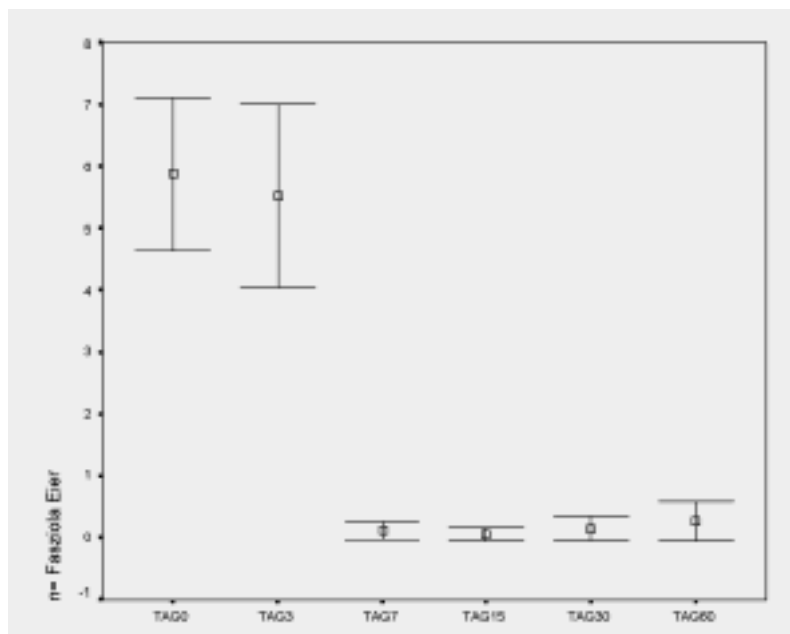


Abb. 17 Verlaufsbeobachtung der Sedimentationstechnik nach Therapie mit Triclabendazol

Einachweis nach Kato modifiziert nach Katz:

Bei dieser Methode wurden jeweils 3 Proben untersucht. An Tag 0 waren in 81/81 (100%) Fällen mindestens eine Probe positiv, an Tag 7 fanden sich in 2/81; (2,4%), an Tag 15 in 1/79 (1,2%), an Tag 60 in 6/76 (7,8%) *Fasciola hepatica*-Eier in den Stuhluntersuchungen.

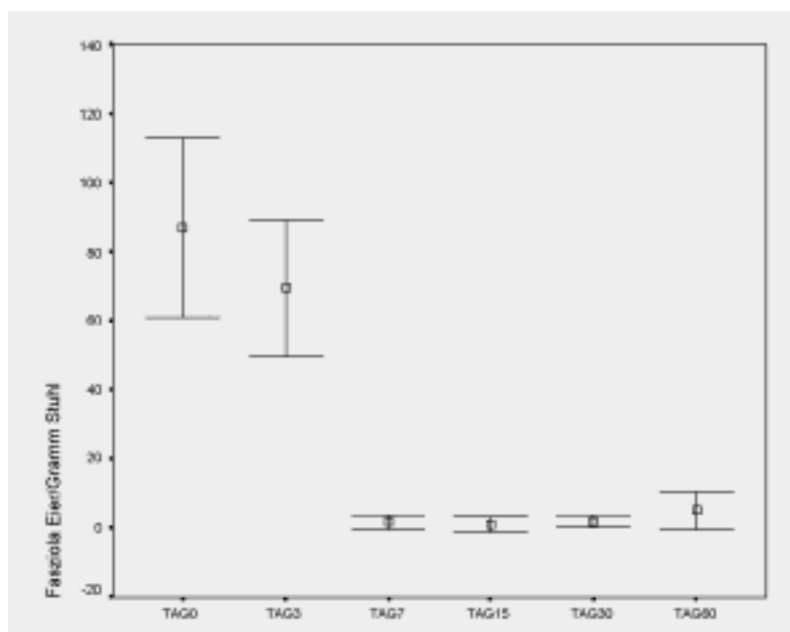


Abb. 18 Verlaufsbeobachtung des Einachweis nach Kato-Katz unter Therapie mit Triclabendazol

3.5.3.2 Immunparasitologische Befunde

ELISA:

ELISA-Titer wurden vor Therapie, an Tag 30 und an Tag 60 bestimmt. 57/76 (75%) Patienten hatten an Tag 60 positive Testresultate. 5/76 (6,5%) Patienten wiesen auch mikroskopisch gesichert eine Fasziole auf. Ein Patient mit negativem ELISA Test wies an Tag 60 eine mikroskopisch und sonographisch gesicherte Fasziole auf. Auch nach anderen Untersuchungen scheint die Immundiagnose mittels Elisa erst nach langen Beobachtungszeiträumen negative Testresultate zu liefern (44,61,101,39), (Normwert: $\leq 0,368$).

Stuhluntersuchung auf exkretorisch-sekretorische Antigene (FES):

Bei 12/79 (15,2%) Patienten konnte an Tag 60 noch ein positives Ergebnis erhoben werden. Bei 6/6 (100%) mikroskopisch bestätigten Therapieversagern reagierte der Test positiv. 6 mikroskopisch nicht bestätigte positive Ergebnisse normalisierten sich bei einer Nachuntersuchung an Tag 90 (persönliche Mitteilung des Klinikleiters Dr. Millán), (Normwert: $\leq 0,24$).

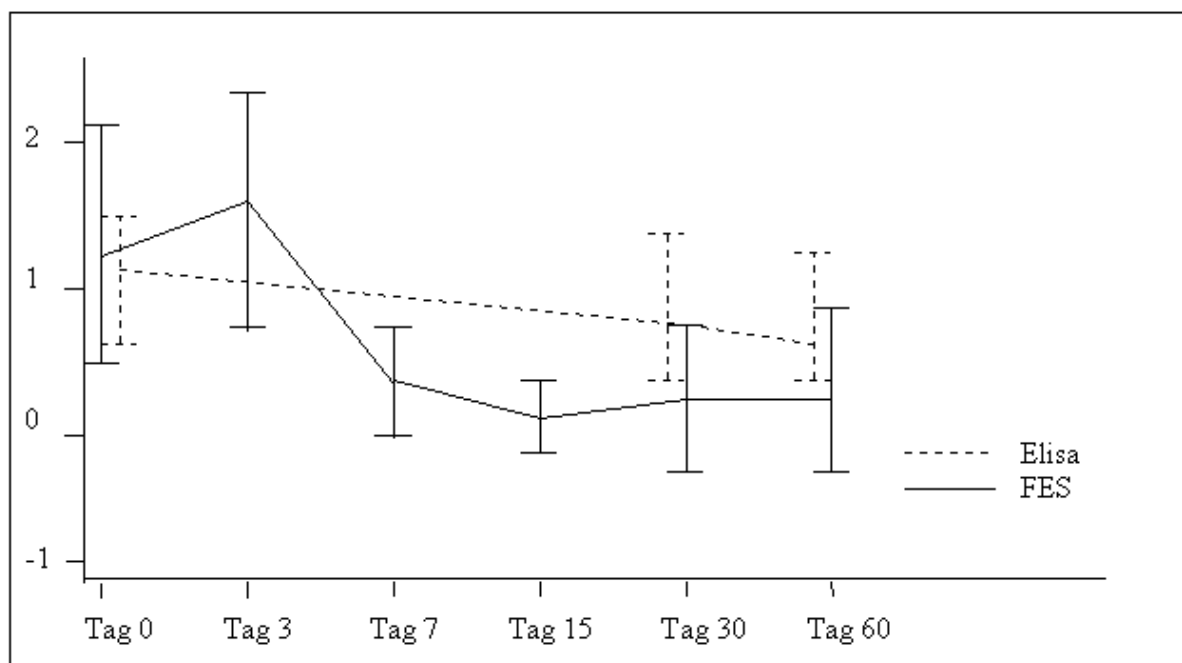


Abb. 19 Verlaufsbeobachtung der ELISA und FES-Titer nach Therapie mit Triclabendazol

3.5.4 Signifikanzberechnung der Laborparameter

Signifikanzberechnung der Laborparameter vor und nach Therapie mittels Wilcoxon-signed-rank Test. Es wurde die Aufnahmeuntersuchung (vor Therapie, Tag 0) mit der letzten Nachuntersuchung (Tag 60 nach Therapie) verglichen.

Parameter	Z	p	Median	
			Tag 0	Tag 60
<i>Hämatologische Parameter</i>				
BSR	-2,789	<0,005	20	12 mm/1h
Hämoglobin	-3,486	<0,001	12,2	12,9 g/dl
Hämatokrit	-1,783	0,075	42	42%
Leukozyten	-3,082	<0,002	8,1	7,2*10E9/L
Eosinophile Leukozyten	-2,309	<0,021	800	500/mm ³
<i>Biochemische Parameter</i>				
Harnstoff	-0,764	0,445	20	19 mg/dl
ALP	-2,139	<0,032	101	92 IU/ml
GOT	-1,995	<0,046	23	21 IU/ml
GPT	-0,603	0,546	18,5	18,0 IU/ml
Bilirubin	-0,777	0,437	0,50	0,48 mg/dl
<i>Parasitologische Parameter</i>				
Stuhluntersuchung n. Ritchie	-7,533	<0,001	2	0 Eier
Sedimentationsmethode	-6,928	<0,001	4	0 Eier
Stuhluntersuchung n. Kato-Katz	-7,342	<0,001	54	0 E./gr.Stuhl
ELISA	-6,260	<0,001	1,13	0,73 OD
FES	-6,393	<0,001	1,7	0,11 OD

3.5.5 Ultraschallbefunde:

Pathognomische und verdächtige Ultraschallbefunde: Score 4 und 3

Spontan sich bewegende Parasiten konnte in drei Fällen dargestellt werden (3,9%).

Ein Patient zeigte vier sich deutlich bewegende *Fasciola hepatica* bei der Aufnahmeuntersuchung. Diese konnten in unveränderter Stärke bis Tag 4 dargestellt werden. An Tag 5 zeigten sich nur noch vereinzelt Bewegungen, an Tag 6 und 7 konnte keine Bewegung mehr nachgewiesen werden. Bei der Nachuntersuchung an Tag 15 war nur eine homogene Masse nachweisbar. An Tag 30 konnten durch Lageänderung des Patienten wieder aktive Bewegungen gut abgegrenzter *Fasciola hepatica* dargestellt werden. Aktive Bewegung konnte durch gezielte Palpation der Gallenblase, Husten oder forciertes Atmen des Patienten stimuliert werden. Auch zeigte sich mehrmalige Lageänderung (von liegend zu sitzend, -zu Linksseitenlage, -zu stehend) als hilfreich, um die *Fasciola hepatica* frei in der Gallenblase schwebend darstellen zu können.



Abb. 20 *Fasciola hepatica* in erweitertem Ductus hepatis communis

In 12 Fällen (15,8%) wurden Fasciola-ähnliche Bestandteile in den Gallengängen dargestellt (siehe Abb.20), in zwei Fällen konnte aktive Bewegung dokumentiert werden. Bei einer Patientin war an Tag 3 nach Therapie eine Fasciola in einem erweiterten Ductus hepatocholedochus (11mm) zu beobachten, die mit einem Ende fest an der Wand des Ductus (etwa 2cm intrahepatisch) haftete, und heftige schlängelnde Bewegungen zeigte (siehe Abb.21). Auch 3 Stunden später nach einem fettreichen Mittagessen konnte die Fasciola an der gleichen Stelle dargestellt werden (Tag 4). An Tag 5 konnte keine Fasciola in dem noch erweiterten Ductus (9mm) dargestellt werden. Erwähnenswert ist das die Patientin trotz deutlicher Bewegung des Parasiten keine Schmerzen oder Koliken verspürte, und ein Mittagessen zu sich nehmen konnte.

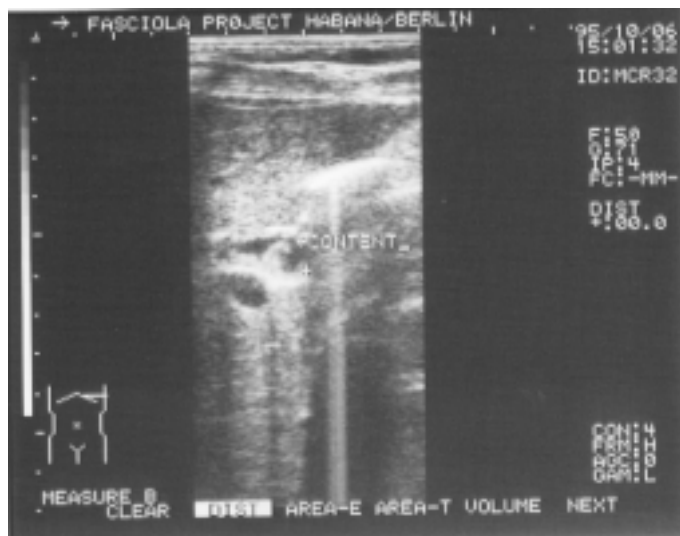


Abb. 21 *Fasciola hepatica* in erweitertem Ductus hepatis communis (5 Mhz Schallkopf)

In 18/76 Patienten (23,6%) konnte die Passage von Gallenblasengries oder halbmondförmigen Bestandteilen zwischen Tag 4 und Tag 7 beobachtet werden. An Tag 60 konnten noch bei 2/76 Patienten (2,6%) verdächtige Befunde erhoben werden.

Die Diagnose Gallengangserweiterung erhöhte sich von 31,5% vor Therapie auf 48,0% zwischen Tag 4 und Tag 7, ebenso wurden in diesem Zeitraum bei 49,3% der Patienten Gallenwegskoliken beobachtet, sowie bei 50,6% der Patienten eine vorübergehende Erhöhung der alkalischen Phosphatase. An Tag 60 wiesen nur noch 8/76 (10,4%) Patienten eine Gallengangserweiterung auf. Bei 6 dieser 8 Patienten konnte eine teilweise Verkleinerung beobachtet werden. Auf der anderen Seite wurde bei 4 von 6 als nicht geheilt entlassenen Patienten eine Gallengangserweiterung nicht beobachtet. Ob hier ein Kriterium für einen Therapieerfolg vorliegt müssen weitere Studien zeigen. Ein als nicht geheilt entlassener Patient mit Gallengangserweiterung klagte über Gallenwegskoliken nach Triclabendazol-Therapie, eventuell wurde hier nur ein Teil der Würmer abgetötet.

Therapieversagen:

Nach Behandlung mit Triclabendazol konnte in zwei Fällen ein Therapieversagen durch Sonographie erhärtet werden. (bestätigt durch mikroskopische Stuhluntersuchungen) Es konnten sich aktiv bewegende Parasiten dargestellt werden. (Abb. 22)

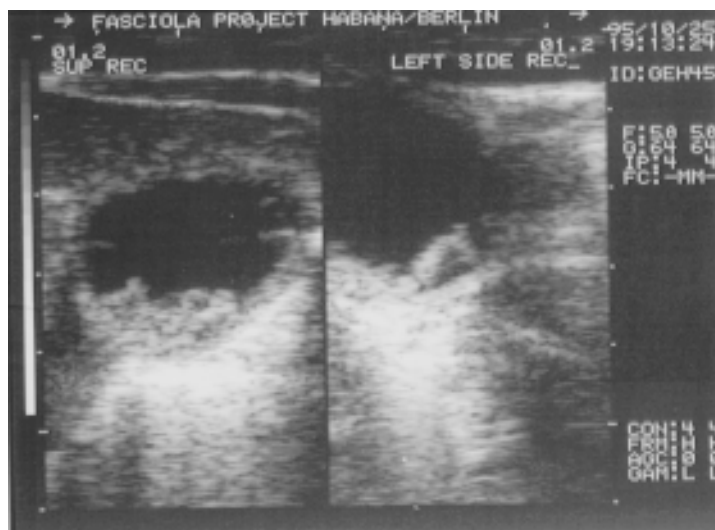


Abb. 22 An Tag 7 nach Triclabendazol sind 3-4 sich spontan-bewegende *Fasciola hepatica* darstellbar

Sonographische Veränderungen unter Triclabendazol- Therapie:

Einige charakteristische sonographische Veränderungen unter der Therapie mit Triclabendazol ließen sich beobachten. War vor Therapie die *Fasciola hepatica* scharf begrenzt halbmondförmig, so stellte sich im Verlauf der Therapie eine Vergrößerung des Volumens ein und gleichzeitig waren die Ränder nicht mehr scharf abgrenzbar.

Nach einem Beobachtungszeitraum von 1-2 Wochen ließ sich in einigen Fällen geformter Gallenblasengries darstellen. (siehe Abb. Nr.23) Man könnte diese Beobachtungen mit Zerfalls- und Auflösungsprozessen der Parasiten in Zusammenhang bringen. Eventuell werden abgestorbene Parasiten nicht gleich durch die Gallengänge ausgestoßen. Dieses Phänomen konnte hauptsächlich bei Patienten mit hoher Parasitenbelastung und behinderter Gallenblasenkontraktion festgestellt werden.



Abb. 23 geformter Gallenblasengries an Tag 15 nach Therapie mit Triclabendazol

Sonographiescore:

(Erklärung der Scorekriterien siehe Kap 2.2.5.)

An Tag 0 wiesen 27,6% der Patienten einen Normalbefund auf. Unter der Therapie mit Triclabendazol (Tag 1-15) wurden bei nur 6,5 % keine Auffälligkeiten beobachtet. In der Nachbeobachtung Tag 60 (30) wiesen deutlich mehr Patienten als vor Therapie einen Normalbefund auf (59,1%).

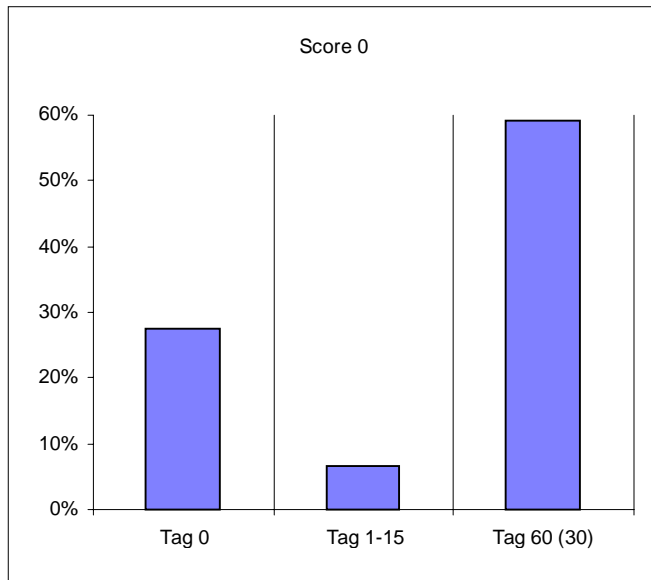


Abb. 24 Score 0; Normalbefund in der Ultraschalluntersuchung

Nur eine Hepato- oder Splenomegalie ohne sonstige Gallengangsveränderungen wurden bei einem kleinen Prozentsatz der Patienten beobachtet: Tag 0 = 3,9%, Tag 1-15 = 3,9%, Tag 60 (30) = 2,6%.

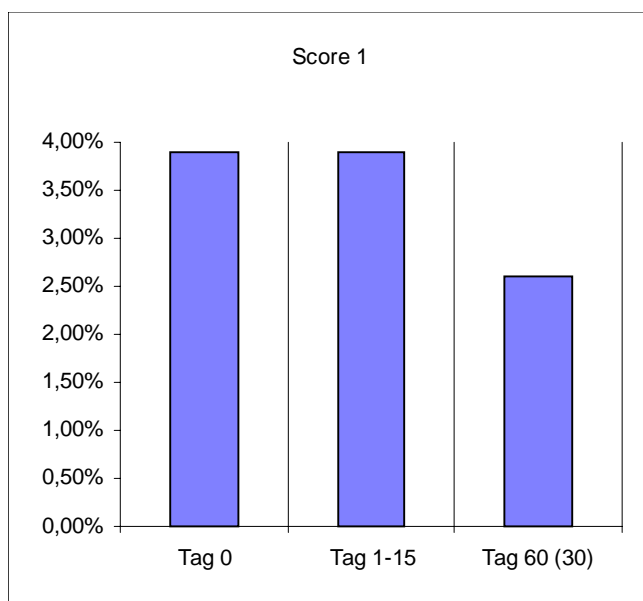


Abb. 25 Score 1; Hepato- und Splenomegalie in der Ultraschalluntersuchung

Der Prozentsatz unspezifischer Gallengangsveränderungen erhöhte sich nach Therapie nur geringfügig (Tag 0 = 47,3%, Tag 1-15 = 52,6%), da einerseits mehr Patienten spezifische Veränderungen zeigten (Score 3 und 4), sowie andererseits bei mehr Patienten erstmals eine Gallengangserweiterung auftrat.

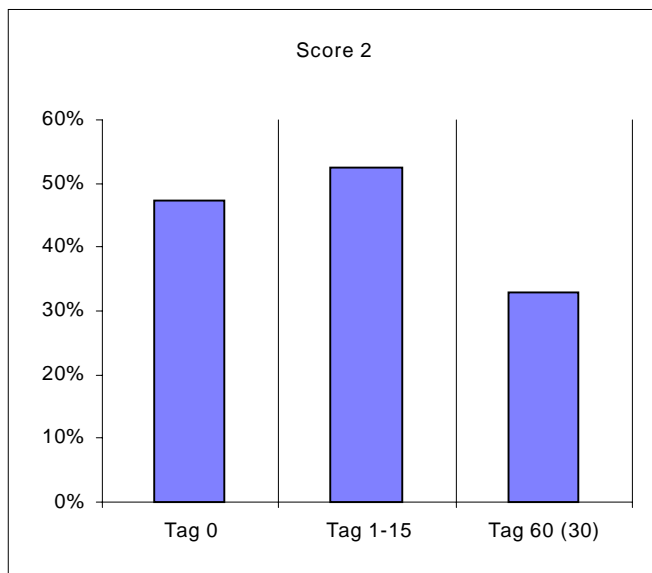


Abb. 26 Score 2; unspezifische Gallengangsveränderungen in der Ultraschalluntersuchung

Nach Behandlung fanden sich hier fast doppelt so viele Patienten (30,3%) wie an Tag 0 (18,3%). In der Nachuntersuchung fanden sich noch 2 Patienten (2,6%) mit verdächtigen Sonographiebefunden. Einer dieser Patienten wurde durch mikroskopischen Einachweis als Therapieversager eingestuft.

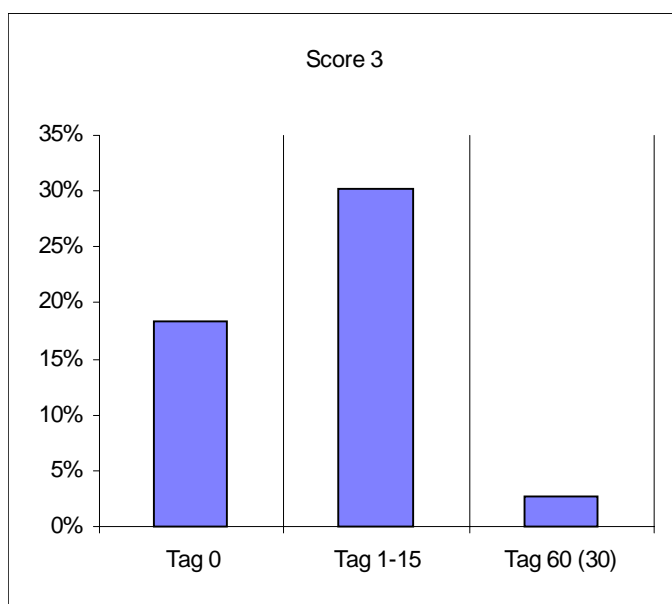


Abb. 27 Score 3: Fasziose-verdächtige Gallenwegsveränderungen in der Ultraschalluntersuchung

Nach Behandlung finden sich in dieser Gruppe mehr als doppelt so viele Patienten (6,5%) wie an Tag 0 (2,6%). In der Nachuntersuchung finden sich 2 Patienten (2,6%) mit pathognomonischen Sonographiebefunden. Diese beiden Patienten wurden auch durch mikroskopischen Einachweis als Therapieversager eingestuft.

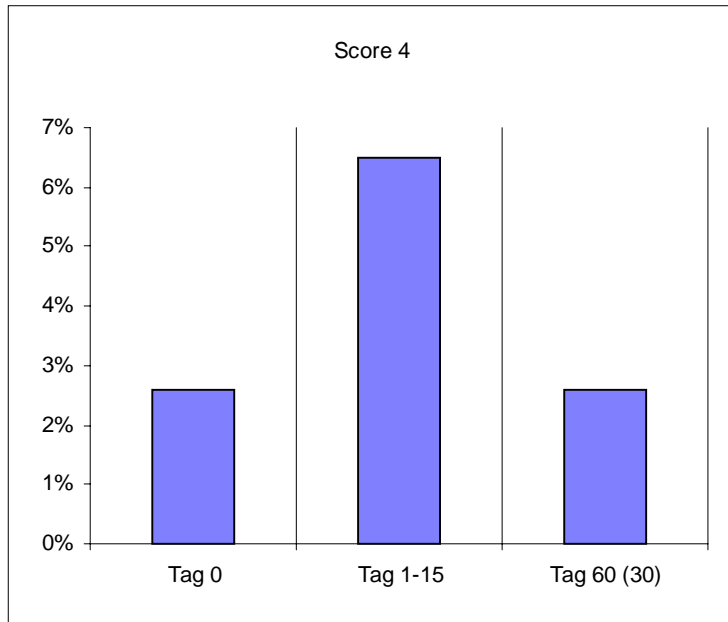


Abb. 28 pathognomonische Veränderungen der Gallenwege in der Ultraschalluntersuchung

3.5.6 Compliance

Durch die hervorragende Organisation der kubanischen Kollegen und die im Kollektiv durchgeführten Transporte zu den Nachuntersuchungen konnte eine hohe Compliance erreicht werden. Für die Nachuntersuchungen an Tag 15 erschienen 78/81 Patienten (96,2%), an Tag 30 : 78/81 Patienten (96,2%), an Tag 60 : 79/81 Patienten (97,5%).

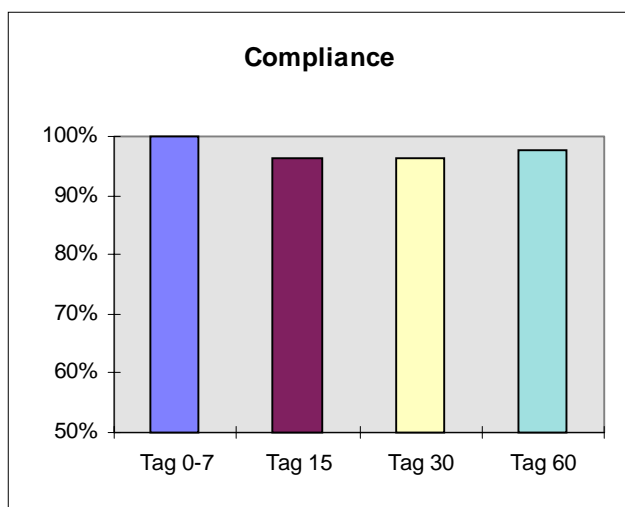


Abb.29 Compliance bei Nachuntersuchungen

Es konnte nicht bei allen Patienten die sich zur Nachuntersuchung (Tag 15, 30, und 60) vorstellten, eine Stuhlprobe gewonnen werden. Andere Patienten die nicht erscheinen konnten schickten wiederum ein Stuhlprobe nach Havanna, so dass zur Beurteilung der Therapie-Effektivität folgende Zahlen zugrunde gelegt wurden. An Tag 15 ermöglichten 79/81 Patienten (97,5%), an Tag 30; 79/81 Patienten (97,5%), und an Tag 60; 76/81 Patienten 93,8% eine mikroskopische Stuhluntersuchung.

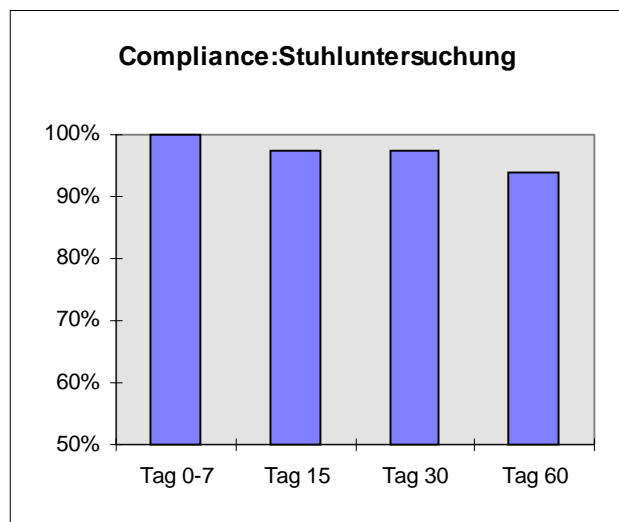


Abb. 30 Compliance bei Abgabe der Stuhlproben

3.6 Behandlungserfolg

Als Goldstandard in der Diagnose der *Fasciola hepatica* Infektion dient der direkte Einachweis im Stuhlpräparat. Bei allen Patienten dieser Studie wurden in der mikroskopischen Stuhluntersuchung Eier von *Fasciola hepatica* nachgewiesen. Als Kriterien zur Beurteilung der Effektivität von Triclabendazol wurden folgende Parameter definiert:

Der Einachweis in der Stuhluntersuchung nach Kato modifiziert nach Katz, Ritchie, oder Sedimentationstechnik, sowie der sonographische Nachweis sich aktiv bewegender *Fasciola hepatica* an Tag 7-60. An Tag 60 konnten bei 6/76 Patienten in mindestens einer der 3 Stuhluntersuchungstechniken *Fasciola hepatica*-Eier nachgewiesen werden. Bei drei dieser Patienten konnten zwischen Tag 7 und 30 keine Eier nachgewiesen werden. In diesen Fällen wäre eine Reinfektion denkbar, aber unwahrscheinlich, da die Eiablage nach Aufnahme der Metazerkarien frühestens nach 2 Monaten beginnt. Dieser Zeitraum wurde durch Versuche bei Schafen und Rindern ermittelt, Untersuchungen beim Menschen liegen nicht vor (68,79).

Bei 2/6 (33%) Patienten konnte der positive Einnachweis durch aktive Bewegung in der Sonographie bestätigt werden. Legt man diese Kriterien des Therapieversagens zugrunde (die Möglichkeit der Reinfektion nicht berücksichtigend) so ergibt sich eine Heilungsrate von 92,1% (70 von 76 Patienten) für Triclabendazol in dieser Studie.

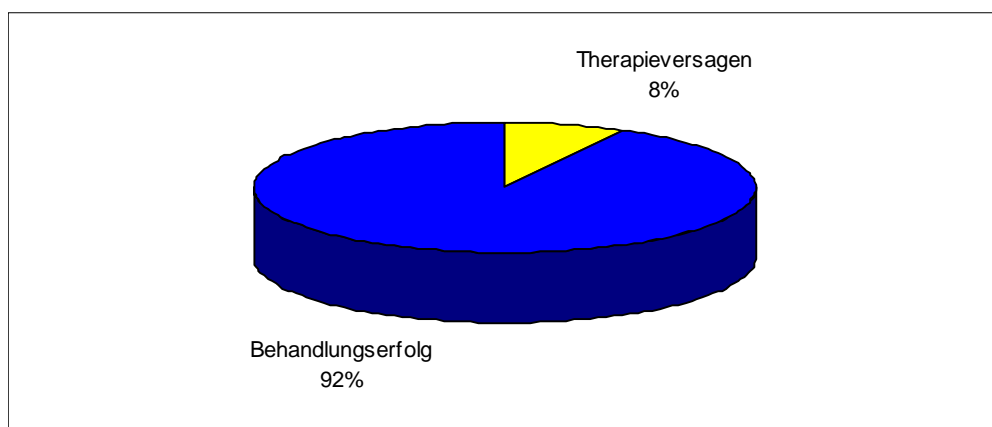


Abb. 31 Behandlungserfolg der Triclabendazoltherapie bei Fasziolose

4 Diskussion

4.1 Triclabendazol

Die genaue antifasziolide Wirkung von Triclabendazol ist nicht vollständig geklärt. Auf zellulärer Ebene konnten bei in vitro Untersuchungen zwei Angriffspunkte nachgewiesen werden. Triclabendazol bzw. seine Metaboliten fungieren bei Untersuchungen an der Rattenleber als Blocker der oxidativen Phosphorylierung in den Mitochondrien (109). Ein weiterer Wirkansatz könnte in der Verhinderung der Polymerisation von Tubulinmonomeren zu Mikrotubuli bestehen und daraus resultierend eine Beeinträchtigung des zellulären Stützskelettes (108). Elektronenoptische Untersuchungen an juvenilen und adulten *Fasciola hepatica* konnten schwere Veränderungen am Tegument des Parasiten bereits nach vergleichsweise kurzen Inkubationszeiten (3-24 Stunden) zeigen. Auch scheint der Transport von Vorläufermolekülen zur Reparatur durch Triclabendazol behindert zu werden. Hier scheint eine direkt toxische Wirkung auf das Tegument, sowie eine Verhinderung der Reparaturmechanismen vorzuliegen, die möglicherweise von funktionsfähigen Mikrotubuli abhängig ist (93). Eine weitere Frage ist die mäßige Wirkung anderer Breitspektrum-Antihelminthika auf *Fasciola hepatica*. Konformationsanalysen des Triclabendazolmoleküls legen eine nicht planare Molekülstruktur im Gegensatz zu den untersuchten Molekülen nahe (Albendazol, Thiabendazol, Oxfendazol), (109). Eventuell hat der Effektorrezeptor in *Fasciola hepatica* eine andere räumliche Struktur als zum Beispiel *Schistosoma spp.* oder *Clonorchis spp.*

Da nach vorläufigen Resultaten die Bioverfügbarkeit von Triclabendazol bei der postprandialen Gabe um den Faktor zwei bis drei zunimmt, wurde Triclabendazol in dieser Studie zusammen mit einer fetthaltigen Mahlzeit verabreicht (126).

In dieser Studie traten bei 49 % der Patienten Gallenwegskoliken auf, eventuell ist eine einschleichende Dosierung in Kombination mit Spasmolytika erwägenswert. Entsprechende Therapieregimen sind noch zu erarbeiten. In vitro Studien von Stitt (93, 94, 41) belegen, dass die aktiven Metaboliten von Triclabendazol in hoher Konzentration bereits nach 6 Stunden zu einer deutlichen Degeneration des Teguments führen, in der niedrigsten untersuchten Dosierung nach 24 Stunden deutlich die Motilität hemmen. Sonographische Befunde (siehe Kap. 3.5.4.), das zeitliche Auftreten der Gallenwegskoliken (siehe Kap 3.4.), und die Veränderungen der Laborparameter (siehe Kap. 3.5.2.) legen nahe, dass bei der gegebenen Dosierung die Wirkung am dritten Tag einsetzt. Eventuell wurden einige Parasiten durch Triclabendazol nur geschwächt und bei nicht intaktem Tegument der Wirkung von

Gallenflüßigkeit und Wirtsimmunsystem ausgesetzt. Untersuchungen der fascioliden Wirkung von Diamphenetid konnten zeigen, daß das Tegument von *Fasciola hepatica* je nach Entwicklungsstadium unterschiedlich raschen Umbauprozessen unterliegt und dass Medikamente die am Tegument des Parasiten angreifen in den frühen Entwicklungsstadien des Parasiten wirksamer sind. Ein Erklärungsansatz ist die hohe Umbaurate der Glykokalix beim juvenilen Egel um den Angriffen des Wirtsimmunsystems zu entgehen (111, 112, 113). Eventuell ist mit der zweimaligen Gabe von 10 mg/kg Körpergewicht noch nicht die optimale Dosierungsstrategie erreicht.

4.2 Effektivität

Dies ist die erste Phase II Studie mit Triclabendazol an einem größeren Patientenkollektiv. In der Literatur sind 5 Studien mit Fallzahlen von 1-24 Patienten beschrieben (7, 15, 16, 44, 61). Um den Behandlungserfolg zu untersuchen wurde ein Nachbeobachtungszeitraum von 60 Tagen mit Kontrolluntersuchungen an den Tagen 7, 15, 30 und 60 gewählt. Bei jeder Nachuntersuchung kamen drei mikroskopische Stuhluntersuchungen zur Anwendung (Kato-Katz, Ritchie und Sedimentationstechnik). Die höchste Nachweisrate wurde durch die Untersuchung nach Kato-Katz erreicht. Die erreichte Effektivität von 92,1% ist in Anbetracht der bekannten faszioliden Antihelminthika als Fortschritt zu werten. Für die Wirksamkeit der bei *Fasciola hepatica* eingesetzten Medikamente (Praziquantel, Bithinol, Mebendazol, Levamisol, Metronidazol, Thiabendazol) finden sich in der Literatur unterschiedliche Angaben bezüglich der Heilungsrate. Es konnten keine Therapiestudien an größeren Patientenkollektiven bei Fasziose gefunden werden, so daß die Effizienz der verwendeten Substanzen vorsichtig bewertet werden sollte. Das in Lehrbüchern häufig erwähnte Praziquantel hat nach mehreren Studien keine zufriedenstellenden Heilungsraten bei Fasziose gezeigt (4, 14, 120). Auch konnte bei in vitro Studien keine hohe Wirksamkeit nachgewiesen werden (119).

Tabelle 12 Therapieschemata in der Literatur bei Fasziose

Medikament	n=Pat	Heilung (%)	Dosierung	Quelle
Praziquantel	6	0 (0%)	25mg/Kg, 3 mal tägl, für 7 Tage	Farid (14)
Praziquantel	7	5 (71%)	75mg /Kg 1 mal täglich für 3 Tage	Arjona (4)
Mebendazol	1	1 (100%)	4g täglich für 21 Tage	Duger.(118)
Metronidazol	4	4 (100%)	1,5g täglich für 13-26 Tage	Nik-A.(117)
Bithinol	12	7 (58%)	40mg/Kg, jeden 2. Tag, über 28 Tage	Farid (54)
D-H-Emetin	3	1 (33%)	1,0mg/Kg, i.m., 1mal tägl., für 14 Tage	Farid (54)

In einer Studie aus Chile an 24 Patienten wird über ähnliche Ergebnisse bei der Therapie der *Fasciola hepatica* Infektion mit Triclabendazol berichtet. 19 Patienten (79,2%) waren nach der ersten Behandlung (10 mg/kg als Einmaldosis) in der Stuhluntersuchung negativ. Nach einem zweiten Therapiezyklus konnten weitere 3 Patienten geheilt werden. Beide Therapiezyklen zusammengenommen ergibt sich hier eine Effektivität von 88% (44). Dort wurde eine Einmaldosis von 10mg/kg nüchtern appliziert. Nach neueren Untersuchungen werden mit der zweimaligen Gabe von 10 mg/kg zusammen mit einer Mahlzeit höhere Plasmaspiegel erreicht (126).

Aufgrund der kurzen und komplikationsarmen Therapie, die besonders in Regionen mit limitierten Gesundheitsressourcen von Vorteil ist, wurde Triclabendazol unter anderem durch die Resultate dieser Studie in die Liste der „essential drugs“ der WHO aufgenommen (114).

Tabelle 13 Triclabendazol Therapieschemata in der Literatur bei Fasziole

n=Anzahl der Pat.	Heilungsrate (%)	Dosierung	Quelle
1	(100%)	1 mal 10mg/Kg KG	Markwalder et al.(7)
1	(100%)	1 mal 10mg/Kg KG	Picot et al.(61)
2	(100%)	1 mal 12mg/Kg KG	Wessely et al.(15)
3	66% (100%)	1 (2) mal 10mg/Kg KG	Loutan et al.(16)
24	79,2% (91,6%)	1 (2) mal 10mg/Kg KG	Apt et al.(44)

4.3 Nebenwirkungen

Triclabendazol zeichnet sich durch eine hohe Plasmaeiweißbindung von > 99% aus. Es wird diskutiert, ob das Medikament auch durch Hämatophagie des Parasiten an seinen Wirkungsort kommt (109). Dies wäre ein Erklärungsansatz für die hohe selektive fasziolide Wirkung bei niedriger Wirtstoxizität. In dieser Studie wurden keine schweren Nebenwirkungen beobachtet. Bei einem Patienten bestand der klinische Verdacht einer Cholezystitis, die aber früh und hochdosiert antibiotisch behandelt blande verlief. Gleichwohl spricht diese Nebenwirkung für die Notwendigkeit einer stationären Behandlung in der Therapie der Fasziole. Bei 49% der Patienten wurden Gallenwegskoliken während des stationären Aufenthaltes beobachtet. Der zeitliche Verlauf des Auftretens (Tag 3 bis Tag 7) dieser Nebenwirkung kann auch als Folge des Austreibens abgestorbener Würmer aus dem Gallengangssystem gewertet werden. In Therapiestudien mit Triclabendazol bei Paragonimiasis wurde nicht über Gallenwegskoliken berichtet (130, 22). 43% der Patienten

berichteten neben Gallenwegskoliken über epigastrische Schmerzen. Auch in den oben erwähnten Therapiestudien bei Lungenelegelinfektion wird über diese Nebenwirkung berichtet. Sie ist daher als unabhängig von den Gallenwegskoliken zu betrachten. Pruritus wurde von 5 Patienten berichtet. In drei Fällen im Zusammenhang mit Ikterus, sowie in zwei Fällen im Zusammenhang mit Urtikaria. Drei Patienten berichteten über inspiratorische Atemschmerzen. Ein Symptom über das bei *Fasciola hepatica* Infektionen gelegentlich berichtet wird (1, 4, 18). Die Möglichkeit einer ektopischen *Fasciola hepatica* in der Lunge ist in diesen drei Fällen unwahrscheinlich, da die Symptomatik mild war und die Beschwerden erst nach Therapie auftraten. Wahrscheinlicher ist eine pulmonale eosinophile Hypersensitivitätsreaktion (122). Bei zwei Patienten wurden urtikarielle Hautveränderungen beobachtet. In einem Fall in zeitlichen Zusammenhang mit der Medikamenteneinnahme (wenige Stunden nach Einnahme der 2. Dosis), diese Veränderungen bildeten sich ohne Therapie nach einen Tag zurück). Andere Nebenwirkungen wie Kopfschmerzen und Nausea waren vorübergehender Natur und wurden von den Patienten nicht als schwerwiegend eingestuft. In Einzelfällen (maximal zwei Patienten) traten folgende Nebenwirkungen auf: Schmerzen in der Milzgegend, neuauftretender erhöhter Blutdruck, Synkope bei erhöhten Blutdruck, Schmerzen in der Herzgegend, Makrohämaturie, Nierenschmerzen, Nierenkolik bei Urolithiasis, Katarh, Pharyngitis, Ischialgie, Rückenschmerzen, Durchfall.

4.4 Ultraschall

Der direkte Parasitennachweis mittels Ultraschall gelang nur in einem unerwartet geringen Prozentsatz (3/76, 3,9%). Spontan sich bewegende Parasiten konnten nur in drei Fällen dargestellt werden. Es kann angenommen werden, dass der Leberegel mit seinen Saugnäpfen fest an der Wand des Gallenblasenlumens haftet und daher Kontraktionen der Wurmmuskulatur nicht erkennbar sind. Die postprandiale Untersuchung mit kontrahierter Gallenblase ermöglichte trotz eingeschränkter Untersuchungsbedingungen (Meteorismus) in einigen Fällen die Darstellung der Leberegel. Wahrscheinlich lässt sich durch die kontrahierte Gallenblase ein höherer Kontrastunterschied zwischen Gallenblasenwand und *Fasciola hepatica*-Parenchym erreichen. Nach Therapie und der darauf folgenden Ablösung des Wurmes von der Wand der Gallengänge ließen sich *Fasciola hepatica* ähnliche Halbmonde bei 20,5 % der Patienten nachweisen.

Bei zwei Patienten konnten geformte nicht sedimentierende Gallenblasenbestandteile dargestellt werden. In den Nachuntersuchungen waren diese nicht mehr nachweisbar. Eventuell handelt es sich hier um abgestorbene Parasiten die durch die Gallengänge

ausgestoßen wurden. In einem Fall konnten teilweise kalzifizierte Gallenblasenbestandteile dargestellt werden, die den Verdacht nahe legen, dass abgestorbene Parasiten auch als Kristallisationspunkt für Gallenblasenkonkremente dienen könnten.

In zwei Fällen konnte ein Nichtansprechen der Therapie durch Ultraschall bestätigt werden.

Ein Patient zeigte vier sich deutlich bewegende *Fasciola hepatica* in der Gallenblase bei der Aufnahmeuntersuchung. Diese konnten in unveränderter Beweglichkeit bis zum vierten Tag dargestellt werden. Am fünften Tag zeigten sich nur noch vereinzelt Bewegungen. Am sechsten und siebten Tag konnte keine Bewegung mehr nachgewiesen werden. Bei der Nachuntersuchung an Tag 15 war nur noch eine homogene Masse darstellbar. An Tag 30 konnte wieder Bewegung gut abgegrenzter *Fasciola hepatica* dargestellt werden. Aktive Bewegungen konnten durch vorsichtige Palpation in der Gallenblasenloge ausgelöst werden. Betrachtet man den Entwicklungszyklus von *Fasciola hepatica* (siehe Kap 1.4.) so ist eine Reinfektion an Tag 30 unwahrscheinlich, wahrscheinlicher ist eine vorübergehende Schwächung des Parasiten. Untersuchungsergebnisse sich nicht mehr bewegender *Fasciola* sind folglich mit Vorsicht zu bewerten.

Obwohl der direkte Nachweis von *Fasciola hepatica* nur in einem kleinen Prozentsatz gelang, erwies sich die Sonographie zur Verlaufkontrolle und zur Beurteilung des Gallengangssystems als sehr hilfreich. Eine chronische *Fasciola hepatica* Infektion kann durch einen unauffälligen Befund in der Sonographie nicht ausgeschlossen werden, sehr wohl können aber die Veränderungen des Gallengangssystems und etwaige Komplikationen erkannt werden.

4.5 Immunparasitologische Methoden

Der Einachweis bei *Fasciola hepatica*-Infektion kann Schwierigkeiten bereiten. In der akuten Phase sind die Parasiten noch nicht in das Gallengangssystem eingedrungen bzw. in einem Entwicklungsstadium in dem noch keine Eier produziert werden. In der chronischen Phase bei niedriger Parasitenlast kann die Eiausscheidung spärlich und unregelmäßig sein. Immunparasitologische Methoden stellen hier eine wertvolle diagnostische Ergänzung dar.

Die Aussagekraft der Serum-ELISA Bestimmung wird durch Kreuzantigenität mit *Schistosoma mansoni* und *Fasciola gigantica* eingeschränkt (5, 6). Der Serum-ELISA Test eignet sich bei einem Beobachtungszeitraum von 60 Tagen eher zur Verlaufskontrolle, als zur Effektivitätskontrolle, da von parasitären Erkrankungen bekannt ist, dass eine Normalisierung längere Zeit benötigt. Apt et al. (44) beobachtete bei mikroskopisch Ei-negativen Patienten eine Normalisierung des Elisa im zweiten Monat nach Behandlung von 40%, nach einem

Zeitraum von 12 Monaten jedoch von 91,3%. Auch von anderen Trematodeninfektionen wie Schistosomiasis sind über Monate persistierende Antikörper nach erfolgreicher Therapie bekannt (129).

Die Untersuchung auf exkretorisch-sekretorische Antigene im Stuhl (FES) bietet sich als zusätzliches diagnostisches Mittel an. Kreuzreaktionen mit anderen Helminthen bzw. deren Eier werden nicht beobachtet. Espino et al. empfehlen die Methode zur groben Quantifizierung der Eiausscheidung. Sie fanden eine positive Korrelation zwischen Eiausscheidung und Stuhlantigenkonzentration, aus der sich eventuell Rückschlüsse auf die Zahl adulter Egel ziehen lassen (4, 6, 40, 66). Auch zeigt der Test positive Befunde bei negativer Eizählung (bei nachträglich gesicherter Infektion). Diese Diskrepanz könnte dadurch erklärt werden, dass auch nicht adulte *Fasciola hepatica* exkretorisch-sekretorische Antigene exprimieren (5). Eventuell ist für die Beurteilung der FES-Antigene der Beobachtungszeitraum von 60 Tagen zu kurz gewählt, da 6 Patienten die an Tag 60 noch einen erhöhten FES-Titer aufwiesen bei einer Nachuntersuchung (Tag 90) normale Werte aufwiesen. (persönliche Mitteilung des Klinikleiters Dr. Millan) Im akuten Stadium hat die Serum-ELISA Untersuchung einen höheren Stellenwert, im chronisch-latenten Stadium kann die Bestimmung exkretorisch-sekretorischer Antigene im Stuhl die Diagnose ermöglichen. Im Vergleich zur Aufnahmeuntersuchung (vor Therapie) zeigt sich bei beiden Untersuchungen (Serum-ELISA und FES-Stuhluntersuchung) an Tag 60 eine statistisch signifikante Erniedrigung der Titer ($p < 0,001$).

4.6 klinische und laborchemische Untersuchungen

Bei der Untersuchung der Vitalparameter wurden bei Blutdruck und Puls keine Veränderungen beobachtet. Das Gewicht der Patienten nahm im Median um 2 Kg während der Studiendauer zu. Sieben Patienten entwickelten erhöhte Körpertemperaturen die nicht in Zusammenhang mit einer Virusgrippe zu bringen waren. Die Erythrozytensedimentationrate stieg unter Therapie an, um im Nachuntersuchungszeitraum unter den Ausgangswert zu fallen. Vor Therapie waren 40% der Patienten anaemisch, nach Therapie zeigten 31% einen erniedrigtes Hämoglobin. Eosinophile Granulozyten und der eosinophile Anteil am Differentialblutbild stiegen unter Therapie an und fielen in den Nachuntersuchungen unter den Ausgangswert. Es wurden keine Veränderungen des Hämatokrit beobachtet, die Leukozytenzahlen verringerten sich geringfügig während des Untersuchungszeitraumes. Vor Therapie fanden sich bei vielen Patienten erhöhte Leberenzyme (AP 17%, GOT 50%, GPT 39%), unter Therapie kam es zu einer weiteren Zunahme (AP 50%, GOT 66%, GPT 66%).In

Einzelfällen fanden sich Werte bis zum vierzigfachen des Normwertes (GPT). Bei der alkalischen Phosphatase konnten in Einzelfällen bis sechsfach über den Normwert erhöhte Werte gemessen werden. Diese Veränderungen waren passager. Im Vergleich zur Aufnahmeuntersuchung (vor Therapie) zeigten sich an Tag 60 signifikant niedrige Werte bei AP ($p < 0,032$) und GOT ($p < 0,046$). Unter Therapie zeigten zwei Patienten eine Hyperbilirubinämie mit Ikterus die sonographisch in Zusammenhang mit einer vorübergehenden Gallengangsobstruktion gebracht werden konnte. In einer Therapiestudie über Triclabendazol bei Paragonimiasis wurden keine erhöhten Leberenzyme beobachtet, so dass passager erhöhte Leberenzyme eventuell mit der Passage abgestorbener Parasiten durch das Gallengangssystem in Verbindung gebracht werden können. Es ergab sich kein Anhalt für eine direkte toxische Wirkung von Triclabendazol auf das Blutbild. Leukozyten, sowie neutrophile und basophile Granulozyten, Monozyten und Lymphozyten des Differentialblutbildes zeigten keine Veränderungen. Die passagere Erhöhung der eosinophilen Leukozyten lässt sich eventuell durch die erhöhte Antigenität absterbender Leberegel erklären. Im Vergleich zur Aufnahmeuntersuchung (vor Therapie) zeigt sich an Tag 60 eine statistisch signifikante Erniedrigung der eosinophilen Leukozyten ($p < 0,021$).

5 Zusammenfassung:

In Zusammenarbeit zwischen dem Tropeninstitut Berlin, dem Instituto de Medicina Tropical "Pedro Couri", Havanna und der Firma Ciba-Geigy, Basel wurde das Antihelminthikum Triclabendazol auf seine Wirksamkeit gegen den Leberegel *Fasciola hepatica* untersucht. Ein Großteil der Patienten (95%) kam aus dem Dorf La Palma (Pinar del Rio), die Infektion ist wahrscheinlich auf eine Charge befallenen Kopfsalates zurückzuführen, der im Dezember 1994 dort verkauft wurde. Bei allen Patienten wurde die Infektion durch Einnachweis im Stuhl gesichert. Am empfindlichsten erwies sich die Untersuchung nach Kato modifiziert nach Katz (67), zusätzlich wurde die Anreicherungstechnik nach Ritchie (63) und die Sedimentationsmethode (56) verwandt. Alle Patienten hatten vorher mindestens eine antihelminthische Therapie gegen *Fasciola hepatica* erfolglos abgeschlossen. 81 Patienten wurden der Therapie mit Triclabendazol unterzogen. Das in der Veterinärmedizin seit 1983 verwendete Triclabendazol wurde bisher nur in Einzelfällen oder bei kleinen Patientengruppen am Menschen eingesetzt (44, 131, 7, 15, 16). Triclabendazol wurde in einer Dosierung von 10 mg/Kg KG zweimal im Abstand von 12 Stunden verabreicht. Triclabendazol wurde mit einer fetthaltigen Mahlzeit verabreicht, um die Resorption zu verbessern. In keinem Fall kam es direkt nach Einnahme zu Erbrechen oder anderen gravierenden Nebenwirkungen. Die Patienten wurden täglich klinisch untersucht, und sonographiert (Oberbauch). Es wurden alle Oberbauchorgane vermessen, die Gallenblase und die Gallengänge dargestellt, es wurde versucht die Egel direkt nachzuweisen. Ein Scoresystem für die Ultraschallbefunde wurde entwickelt. An den Tagen 0, 3, 7, 15, 30, und 60 wurden Blutbild mit Differentialblutbild, Blutchemie, parasitologische Stuhluntersuchungen, Antikörper- und Antigenbestimmungen durchgeführt. Im weiteren Verlauf berichteten 66 % der Patienten über Nebenwirkungen. Bei 49 % der Patienten kam es zu einer Gallenwegskolik häufig um den vierten bis fünften Tag. Diese Nebenwirkung kann auch mit der Passage abgestorbener Leberegel in Zusammenhang gebracht werden. 43 % der Patienten berichteten über epigastrische Schmerzen, 16 % über neu aufgetretene Kopfschmerzen, 9 % über Nausea, bei 9 % kam es zu Fieber, 6% berichteten über Pruritus, und 4 % der Patienten litten unter inspiratorischen Atemschmerzen. Bei zwei Patienten kam es zu urtikariellen Hautveränderungen, in einem Fall unmittelbar nach Einnahme der zweiten Dosis Triclabendazol. Im Verlauf der Untersuchung konnten keine Veränderungen der Vitalparameter beobachtet werden. Folgende Laborwerte stiegen zwischen den Tagen 3 und 7

an, um in der Nachuntersuchungs-periode unter den Ausgangswert zu fallen:

BSG, eosinophile Granulozyten, alkalische Phosphatase, GOT, GPT. Vor Therapie wiesen 41 % der Patienten eine Anämie auf, an Tag 60 noch 31 %. Die mikroskopische Stuhluntersuchung wies an Tag 7 noch bei 3 Patienten Parasiteneier nach. Bei der Untersuchung an Tag 60 wurden bei 6 Patienten Parasiteneier nachgewiesen. Die Antigenbestimmung im Stuhl stieg unter Therapie, um danach unter den Ausgangswert zu fallen, an Tag 60 hatten 15 % der Patienten positive Testergebnisse. An Tag 90 hatten sich die Antigenwerte aller Ei-negativen Patienten normalisiert.

In der Ultraschalluntersuchung konnten in 6,5 % pathognomonische Veränderungen dargestellt werden. Fasziole-verdächtige Ultraschallbefunde wurden vor Therapie bei 18% und nach Therapie bei 30% der Patienten erhoben. Bei den Nachuntersuchungen konnte nur bei 2,6% der Patienten Fasziole-verdächtige Befunde erhoben werden. Bei zwei von sechs der als Therapieversager eingestuften Patienten konnte im Ultraschall während der Nachuntersuchungen pathognomonische Veränderungen (aktive Bewegung der Parasiten) dokumentiert werden.

Zur Beurteilung der Effektivität von Triclabendazol wurde ein Nachuntersuchungszeitraum von 60 Tagen gewählt. Als sichere Kriterien für ein Versagen der Therapie wurde ein positiver Einachweis in einer der drei mikroskopischen Stuhluntersuchungen, sowie der sonographische Nachweis sich aktiv bewegendender *Fasciola hepatica* in den Gallengängen erachtet. In 7,9 % (6/76) der Patienten musste nach diesen Kriterien die Diagnose einer persistierenden *Fasciola hepatica* Infektion gestellt werden, 92,1 % (70/76) der Patienten konnten als geheilt entlassen werden.

6 Anhang

6.1 Abkürzungen

Abb	Abbildung
AP	alkalische Phosphatase
Basoph	basophile Leukozyten
Bili	Bilirubin
Bithin	Bithinol
BSG	Blutsenkungsgeschwindigkeit
DHC	Ductus hepato-choledochus
Dia	diastolisch
Elisa	Enzyme linked Radio Immun Assay
Eosinph	eosinophile Leukozyten
FES	Exkretorisch-sekretorische Antigene im Stuhl
Gew	Gewicht
GOT	Glutamat Oxalacetat Transferase
GPT	Glutamat Pyruvat Transferase
Harn	Harnstoff
Hb	Hämoglobin
Hkt	Hämatokrit
i.v.	intravenös
Kg	Kilogramm
KG	Körpergewicht
Krea	Kreatinin (im Serum)
Leukoz	Leukozyten
Levam	Levamisol
Lymphoz	Lymphozyten
Max	Maxima
Mebend	Mebendazol
Metron	Metronidazol
Min	Minima
mm	Millimeter
Monoz	Monozyten
Mw	Mittelwert
OD	optical density, Lichtabsorption im ELISA Autoreader
PBS	Phosphat-gepufferte Salzlösung
Praziq	Praziquantel
Puls	Pulsfrequenz
rpm	Umdrehungen pro minute
RR	Blutdruck gemessen nach der Methode von Riva und Rocci
spp	Subspecies
Stan.Abw	Standardabweichung
sys	systolisch
TCX	Triclabendazol
Temp	Körpertemperatur
WHO	Weltgesundheitsorganisation

Literaturangaben

1. Chen MG, Mott KE
Progress in Assessment of Morbidity due to Fasciola hepatica Infection
Tropical Diseases Bulletin (1990); Vol 87: No.4
2. Bennett CE
Surface features, Sensory structures and movement of the newly excysted juvenile Fasciola hepatica
The Journal of Parasitology (1975); 61(5): pp 886-91
- 3.) Bennett CE
Scanning Electron Microscopy of Fasciola hepatica during growth and maturation in the mouse
The Journal of Parasitology (1975); 61 (5): pp 892-8
- 4.) Arjona R, et al
Fascioliasis in developed countries: a review of classic and aberrant forms.
Medicine Baltimore (1995); Jan:74 (1): pp 13-23
- 5.) Espino AM, Finlay CM
Sandwich enzyme linked immunosorbent assay for detection excretory secretory antigens in humans with Fascioliasis.
J of Clin Microbiol (1994); 32 (1): pp 190-193
- 6.) Espino AM, Millan JC, Finlay CM
Detection of Antibodies and circulating ES-Antigens for assessing cure in Patients with Fascioliasis
Trans R Soc Med Hyg (1992); 86: p. 649
- 7.) Markwalder K, Koller M, Goebel N, Wolf K
Infektion mit Fasciola hepatica: Erfolgreiche Therapie mit Triklabendazol
Schweiz Med Wochenschr (1988); 118: pp 1048-52
- 8.) Acuna-Soto S, Rodolfo AS, Braun-Roth G.
Bleeding ulcer in common bile duct due to Fasciola hepatica
Am J of Gastroenterol (1987); 82(6): pp 560-562
- 9.) Criado MP, Mazas Artasona L, Balmaseda C, Led A, Criado LM, Undabetia E
Hepato-biliary distomatosis in echography.
J Radiology (1989); 11: pp 617-619
- 10.) Han JK, Choi BI, Cho JM, Chung KB, Han MC, Kim CW
Radiological findings due to human fascioliasis
Abdom Imaging (1993);18(3): pp 261 -264
- 11.) Hodler J, Meier P
Leberbefall bei Fasciola hepatica
Fortschr Geb Röntgenstr Neuen Bildgeb Verfahr (1989); 151 (6): pp 740-1

- 12.) Bechtel U
Fasziola hepatica - Infektion einer Familie
DMW (1992); 117: pp 978-982
- 13.) Bassiliy S, Iskander M, Youssef FG, el Masry N, Bawden M
Sonography in Diagnosis of Fascioliasis
The Lancet (1989); Jun 3: pp 1270-1271
- 14.) Farid Z, Kamal M, Mansour N
Praziquantel and Fasciola hepatica Infection
Trans R Soc Trop Med Hyg (1989); 83: p. 813
- 15.) Wessely K, Reischig HL, Heineremann M, Stempka R
Human Fascioliasis treated with Triclabendazole for the first time
Trans R Soc Trop Med Hyg (1988); 82: pp 743-745
- 16.) Loutan L, Bouvier M, Roujanawisut B, Stalder H, Rouan MC, Buescher G, Poltera AA
Single Treatment of human fascioliasis with Triclabendazole
The Lancet (1989); 12: p. 383
- 17.) Bennett JL, Kohler-P
Fasciola hepatica: action in vitro of Triclabendazole on immature and adult stages.
Exp Parasitol (1987) Feb; 63 (1): pp 49-57
- 18.) Price TA, Tuazon CU, Simon GI
Fascioliasis Case Report and Review
Clinical Infectious Diseases (1993); 17: pp 426-430
- 19.) Hardmann EW, Jones RLH, Davies A
Fascioliasis -A large Outbreak
British Medical Journal (1970); 3: pp 502-505,
- 20.) Farid Z, Mansour N, Kamal M
The Treatment of acute Fasciola hepatica Infection in Children
Tropical and Geographical Medicine (1990); 42: pp 95-96
- 21.) Bjorland J, Brian R, Strauss W
An Outbreak of acute Fascioliasis among Aymara indians in the Bolivian Altiplano
Clin Inf Dis (1995); 21: pp 1228-33
- 22.) Ripert C, Couprie B, Mouyou R
Therapeutic Effects of Triclabendazole in patients with Paragonimiasis in Cameroon: A pilot study
Trans Roy Soc Med (1992); 86: pp 417
- 23.) Cauquil-P, Pariente D, Loyer E, Lallemand D
Unusual echographic aspect of hepatic distomatosis
J Radiol (1986) ;67(10): pp 715-717
- 24.) Van Beers B, Pringert J, Geubel A
Hepatobiliary Fascioliasis, noninvasive imaging Findings
J Radiology (1990);174: pp 809-810

- 25.) Bonniaud P, Barthelemy C, Veyret C
 Aspect ultrasonore de la distomatose des voies biliares
 J Radiology (1984); 65; pp 589-591
- 26.) Messner M, Pelletier S, Loisanse C
 Distomatose hepaticque. Aspecte echotomographique a un stade precoce.
 Gastroenterol Clin Biol (1983); 7; pp 753
- 27.) Gaucher P, Thelu J, Bigard M
 Hematome sous-capsulaire du foie et distomatose hepaticque
 Nouv Presse Medic (1981); 10 (38); p 3161
- 28.) Eisenscher A, Sauget Y
 Aspect ultrasonore des ascaridioses et distomatoses des voies biliares
 J Radiol (1980); 61, pp 319-322
- 29.) Champetier J, Bonneton G, Guidicelli H
 Distomatose de la voie biliaire, hydiatose hepaticque et lithiase vesiculaire
 Nouv Presse Medic (1975); 4; pp 2111-2112
- 30.) Garel L, Pariente D, Nezelof C
 Liver Involvement in chronic granulomatous disease: The role of Ultrasound in Diagnosis and treatment
 Radiology (1984); 153; pp 117-121
- 31.) Brophy PM, Patterson LH, Brown A, Pritchard DI
 Gluthathione S Transferase (GST) expression in the human hookworm *Neator americanus*; potential roles for excretory secretory forms of GST
 Acta Trop (1995) 59(3): pp 259-263
- 32.) Pillai S, Dermody K, Metcalf B
 Immunogenicity of genetically engineered gluthathione-S-transferase fusion proteins containing a T cell epitope from diphteria toxin
 Infect Immun 1995; 63(4); pp 1535-1540
- 33.) Anderson HR, Fairweather I
 Fasciola hepatica: ultrastructural changes to the tegument of juvenile flukes following incubation in vitro with the amine metabolite of diamphenetide
 Int J Parasitology (1995); 25(3): pp 319-333
- 34.) Creaney J, Spithill TW, Thomphson CM
 Attempted Immunisation of sheep against Fasciola hepatica using gamma irradiated metacercariae
 Int J Parasitology (1995); 25(7): pp 853-6
- 35.) Boulard C, Carreras F, Van Gool F
 Evaluation of nitroxinil and closantel using Elisa and egg counts against Fasciola hepatica in experimentally and naturally infected cattle
 Vet Res (1995); 26(4); pp 249-255
- 36.) Smith AM, Carmona C, Dowd AJ
 Neutralization of the activity of a Fasciola hepatica cathepsin L Proteinase by anticathepsin L antibodies
 Parasite Immunol (1994) Jun; 16(6): pp 325-8

- 37.) Rodriguez-Perez J, Hillver GV
Detection E-S-Circulating Antigens in sheep infected with *Fasciola hepatica* and with *Schistosoma mansoni* and *Fasciola hepatica*
Vet Parasitol (1995); 56(1-3); pp 57-66
- 38.) Shaker Z, Demrdash Z, Mansour W
Evaluation of specific *Fasciola* Antigen in the immunodiagnosis of human fascioliasis in Egypt
J Egypt Soc Parasitol (1994); 24(3): pp 463-470
- 39.) Guobadia EE, Fagbemi BO
Time Course Analysis of Antibody response by EITB and Elisa before and after chemotherapy in sheep infected with *Fasciola hepatica*.
Vet Parasitol (1995); 58(3); pp 247-253
- 40.) Espino AM, Seuret N, Escobar L, Dumenigo BE
Identification and Isolation of common antigens of *Fasciola hepatica*
Rev Cubana Med Trop (1993); 45(1); pp 20-26
- 41.) Stitt AW, Fairweather I, Mackender FO
The effect of TCX on proteinsynthesis by the liverfluke, *Fasciola hepatica*
Int J Parasitol (1995); 25(4); pp 421-429
- 42.) Alvarez M, Basterra G, Moreto M
Cholestasis caused by *Fasciola hepatica*
Rev Esp Enferm Dig (1994); 86(6); pp 915-917
- 43.) Kumar A, Gautam A, Chaturvedi S
Obstructive jaundice due to *Fasciola hepatica*
Ind J Gastroenterol (1995); 14(2); pp 79-80
- 44.) Apt W, Aguilera X, Vega F
Treatment of human chronic Fascioliasis with Triclabendazol: drug efficacy and serologic response
Am J Trop Med Hyg (1995) Jun; 52(6): pp 532-535
- 45.) Hassan MN, Moustafa NE, Mahmoud LA
Prevalence of *Fasciola* infection among school children in Sharkia Governorate, Egypt
J Egypt Soc Parasitol (1995) Aug 25(2); pp 543-549
- 46.) Dawes B
The migration of juvenile Forms of *Fasciola hepatica*
J Parasitology (1963); 53: pp 109-122
- 47.) Bennett C, Threadgold L.
Electronmicroscopy studies of *Fasciola hepatica*
Exp Parasitology (1973); 34; pp 85-89
- 48.) Uribarren R, Borda F, Munoz M
Laparoscopic findings in 8 cases of liver fascioliasis
Endoscopy (1985); 17, pp 137-138
- 49.) Youssef FG, Mansour NS
A purified *Fasciola gigantica* Antigen for the Serodiagnosis of human fascioiliasis
Trans R Soc Trop Med Hyg (1991) Jul-Aug; 85(4): pp 535-7

- 50.) Pulpeiro J, Armesto V, Varela J, Corredoira J
Fascioliasis: Findings in 15 Patients
Br J Radiology (1991) Sep: 64 (765): pp 798-801
- 51.) Ruiz Rebollo M, Basagoiti Uriarte ML, Bustamante Schneider F
Ecographia en el diagnostico de la fascioliasis
Rev Esp Enferm Dig (1991) Apr: 79 (4): pp 297-8
- 52.) Bassiouny HK, Soliman NK, el Daly SM, Badr NM.
Human Fascioliasis in Egypt: Effect of Infection and efficacy of bithinol treatment
J Trop Med Hyg (1991) Oct: 94 (5) : pp 333-337
- 53.) Fawzy RK, Salem AE, Osman MM
Ultrasonographic findings in the gall bladder in human fascioliasis
J Egypt Soc Parasitol (1992) Dec: 22(3): pp 827-831
- 54.) Farid Z, Kamal M, Woody J
Treatment of acute toxaemic fascioliasis
Trans R Soc Trop Med Hyg (1988): (2): p 299
- 55.) Trigalou D, Viard H
Hematome sous capsulaire de foie: une complication rare de la distomatose hepatique
J Chir (1980), 117, pp 253-255
- 56.) Akahane H, Oshima T, Shimazu T, Hirosawa K
Diagnosis of fascioliasis comparison of the efficacies of various concentration technics of ova in stool
Jpn J Parasitol (1975); 24:pp 55-60
- 57.) Aguirre C, Merinho J, Flores M
Formas abberantes de Fasciola hepatica
Med Clin (Barc) (1981); 76: pp 125-128
- 58.) Domart A, Gentilinni M, Brion S, Carbon CL
Manifestations neurologiques de la distomatose hepatique
Soc Med Hop (Paris) (1967); 118: pp 839-47
- 59.) Laird PP, Boray JC
Human Fascioliasis succesfully treated with Triclabendazol
Aust N Z J Med (1992); 22: pp 45-47
- 60.) Parc CL, Ro JY, Kim H, Gutierrez J
Human ectopic Fascioliasis in the Cecum
Am J Surg Pathol (1984); 8: pp 73-77
- 61.) Picco S, Querrec M, Ghez JL, Goullier Fleuret A, Grillot R, Ambroise Thomas P
A new report of Triclabendazole efficacy during invading phase Fascioliasis
Eur J Clin Microbiol (1992) 11: pp 269-70
- 62.) Potier JC, Grollier G, Le Clerc A, Mandard JC, Rousselot P
Insufficiense mitrale secondaire a une fibrose endocardique associee a une distomatose
Arch Mal Coeur (1981); 74: pp 1471-1475

- 63.) Ritchie LS
An ether Sedimentation technique for Routine Stool examination
Bull Us Arm Med Dep (1948); 8: p 326
- 64.) Ruggieri F, Correa AJE, Martinez E
Cerebral Distomatosis: A case report
J Neurosurg. (1967); 27: pp 268-71
- 65.) Maroy B, Moullot P, Daloubeix H, Mathey JC
Acute pancreatitis complicating biliary distomatosis caused by Fasciola hepatica in a patient with choledochal divertikulum
Ann Gastroenterol Hepatol (Paris) (1987): 23 (2): pp 67-70
- 66.) Espino AM, Marcet R, Finlay CM
Detection of circulating excretory sekretory antigens in human fascioliasis by sandwich enzyme linked assay
J Clin Microbiol (1990); 28: pp 2637-2640
- 67.) Katz N, Chavez, A, Pellegrino J
A simple device for quantative stool thick smear technique in schistosomias mansoni
Rev Inst Med Trop (Sao Paolo) (1972); 14: pp 394-400
- 68.) Boray JC
Experimental fascioliasis in Australia
Advances in Parasitology (1969); 7: pp 95-210
- 69.) Boray JC
Fascioliasis and other trematode infections
in Slusarski W. Review of advances in Parasitology, PWN Polish Scientific Publishers (1981) pp 317-339
- 70.) Christensen N, Monrad J, Nansen P
Schisosoma mansoni and Fasciola hepatica: cross resistance in mice with single sex schistosome infections
Exp Parasitol (1980); 49: pp 116-121
- 71.) Espino AM, Dumenigo B, Fernandez B
Immunodiagnosis of human fascioliasis by ELISA using excretory sekretory products
Am J of Trop Med and Hyg (1987); 37: pp 605-608
- 72.) Haroun E, Hillyer GV
Cross resistance between Schistosoma mansoni and Fasciola hepatica in sheep
Journal of Parasitology (1988); 74: pp 790-795
- 73.) Hillyer GV
Fascioliasis in Puerto Rico
Boletin Asocion medica de Puerto Rico (1981); 73: pp 94-111
- 74.) Papillo J, Leslie K, Dean R
Cytologic Diagnosis of liverfluke infestation in a patient with subsequently documented cholangiocarcinoma
Acta Cytologica 1989: 33: pp 865-86

- 75.) Haswell Elkins M, Satarug S, Elkins D
Liver fluke infection and cholangiocarcinoma in northeast Thailand
J Gastroenter Hepatol (1992): 7: pp 538-548
- 76.) Kim Y.I.
Liver Carcinoma and Liver fluke infection
Drug Res (1984): 34: pp 1121-1126
- 77.) Dan M., Lichtenstein D, Lavochkin J
Human fascioliasis in Israel an imported case
Israel Journal of medical sciences (1981); 17: pp 430-432
- 78.) Isserhoff H, Sawma J, Reino D
Fascioliasis: Role of Proline in bile duct hyperplasia
Science (1977); 198: pp 1157-1159
- 79.) Lapage G
Some Trematoda parasitic in farm animals
Veterinary Parasitology (1968) 2nd edition, Oliver and Boyd, Edinburgh and London, p.329-345
- 80.) Olsen OW
Animal parasites their life cycles: Ecologies
3ed Univ.Park Press, Baltimore (1981), pp 267-279
- 81.) Acosta Ferrera W, Vercelle-Retta J, Falconi L
Fasciola hepatica human Infection: histopath.Studys of 16 cases
Virchow arch (1979); 383: pp 319-27
- 82.) Flores M, Merino-Angulo J, Erasti C
Pulmonary Infiltrates as first sign of Fasciola hepatica Infection.
Eur J Resp Dis (1982): 63: pp 231-33
- 83.) Lowry O, Rosebrough N, Farr A
Protein measurement with Folin Phenol Reagent
J Biol Chem (1951): 193: pp 265-275
- 84.) Spengler RN, Isserhoff H
Fascioliasis: Is the Anaemia caused by hematophagia?
J Parasitol (1981): 67 (6): pp 886-92
- 85.) Bouchet F, Petrequin F, Paicheler PC
First palaeoparasitologic approach of the neolithic site in Chalain, Jura, France
Bull Soc Path Exot (1995) :88 (5): pp 265-268
- 86.) Tendler N: Brito CA: Vilar MM
A Schistosoma fatty acid binding protein, Sm14, is the potential basis of a dual purpose antihelminth vaccine
Proc Natl Acad Sci USA (1996): 93(1): pp 269-273
- 87.) Tendler M, Vilar MM, Brito CA
Vaccination against schistosomiasis and fascioliasis with the new recombinant antigen Sm 14
Mem Inst Oswaldo Cruz (1995): 90(2): pp 255-256

- 88.) Kristoferitsch W, Wessely P, Auer H
Neurologische und kardiale Symptomatik bei einer Infektion mit *Fasciola hepatica*
Nervenarzt (1982): 53 (12): pp 710-713
- 89.) Ben Ismail R, Carme B, Mogahed A
Antigen sharing between *Fasciola hepatica* and human Erythrocytes
Tropenmed Parasitol (1982): 33(1): pp 11-14
- 90.) Coffin JD, McGarry MP, Isserhoff H
Proline induced hemolytic anaemia in Fascioliasis
Proc Soc Exp Biol Med (1984): 177(1): pp 92-96
- 91.) Cho SY, Yang HN, Kong Y
Introcular Fascioliasis: A case report
Am J Trop Med Hyg (1994): 50(3): pp 349-353
- 92.) Ayadi A, Sellami H, Dani A
Neurologic manifestations of hepatic distomatosis caused by *Fasciola hepatica*
Arch Inst Pasteur Tunis (1991): 68(3-4): pp 275-283
- 93.) Stitt AW, Fairweather I
Fasciola hepatica: tegumental surface changes in adult and juvenile flukes following treatment with TCX
Parasitol Res (1993): 79(7): pp 529-536
- 94.) Stitt AW, Fairweather I
The Effect of (Fasinex) on the tegument of mature and immature stages of the liver fluke *F. hepatica*
Parasitology (1994): 108 (PT5): pp 555-567
- 95.) Richter J, Zwingenberger K, Mohamed Ali Q
Hepatosplenic Schistosomiasis: comparison of sonographic findings in sudanese and brasilian patients
Radiology (1992a): 184: pp 711-716
- 96.) Richter J, Silva-Monteiro E, Moreira-Braz R
Sonographic organometry in Brazilian and Sudanese patients with hepatosplenic schistosomiasis mansoni and its relation to the risk of bleeding from oesophageal varices
Acta Trop (1992b); 51: pp 281-290
- 97.) Ralls PW, Halls J, Lapin SA
Prospective evaluation of the sonographic Murphy sign in suspected acute cholecystitis.
J Clin Ultrasound (1982); 10: pp 113-115
- 98.) Lorenz R
Dynamische Ultraschallanatomie des Abdomens
Hippokrates Verlag (1991), Stuttgart
- 99.) Osman MM, Shehab AY, El-Masry SA
Evaluation of *Fasciola* E-S Produkt in diagnosis of acute human fasciolosis by IgM Elisa
Trop Med Parasitol (1995); 46: pp 115-118
- 100.) Jefferies JR, Corbett E, Barret J
Polarisation of ovine and human Neutrophils in Response to *Fasciola hepatica* E-S-Produkts
Int J Parasitol (1996): 26(4): pp 409-414

- 101.) Hillyer G, Sanchez Z, de Leon D
Immunodiagnosis of Bovine Fascioliasis by Enzyme linked Immunosorbent Assay and Immunoprecipitation methods
J Parasit (1985); 71(4): pp 449-454
- 102.) Smith AM, Dowd AJ, Robertson CD
Fasciola hepatica: A secreted Cathepsin L Proteinase cleaves host immunoglobulin.
Int J Parasitol (1993); 23: pp 977-983
- 103.) Smith AM, Dowd AJ, McGonigle S
Purification of a cathepsin like proteinase secreted by adult Fasciola hepatica
Molec Biochem Parasitol (1993); 62: pp 1-8
- 104.) Chappell LH
Feeding and nutritional physiology
Physiology of parasites, ed Chappell, p.5, Blackie, Glasgow and London
- 105.) Fairweather I, Anderson HR, Threadgold LT
Fasciola hepatica: morphological changes in vitelline cells following treatment in vitro with the deacetylated (amine) metabolite of diamphenethide (DAMD).
Int J Parasitol 1988 Dec; 18(8): pp 1061-9
- 106.) Berasain P, Carmona C, Frangione B, Dalton JP, Goni F
Fasciola hepatica: Parasite-Secreted Proteinases degrade All Human IgG Subclasses
Exp Parasitol (2000); 94, pp 99-110
- 107.) Löscher Th
Fasziolose, in W. Lang, Tropenmedizin in Klinik und Praxis, Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1993
- 108.) Lipkowitz K, McCracken R
A molecular modeling approach to in vivo efficacy of triclabendazole
J Parasitol (1991); Dec 77(6): pp 998-1
- 109.) Carr AW, McCracken R, Stillwill W
Uncoupling of rat liver mitochondria oxidative phosphorylation by the fasciolicide triclabendazole
J Parasitol (1993); Apr;79(2): pp 198-204
- 110.) Lacey E
The role of the cytoskeletal protein, tubulin in the mode of action and mechanism of drug resistance to benzimidazoles
Int J Parasitol (1988); 18(7): pp 885-936
- 111.) Hanna R, E.B.
Fasciola hepatica: glykokalix replacement in the juvenile as a possible mechanism for protection against host immunity.
Exp Parasit (1980); 50: pp 103-109
- 112.) Hanna R, E.B.
Fasciola hepatica: An immunofluorescent study of antigenic changes in the tegument during development in the rat and in the sheep
Exp Parasit (1980); 50: pp 110-114

- 113.) Anderson H, Fairweather I, Bamford D
The effect of diamphenetide on proteinsynthesis by the liver fluke, *Fasciola hepatica*
Int J Parasit (1993); 23: pp 1053-1062
- 114.) Chitsulo L, Savioli L
Triclabendazole and fascioliasis-a new drug to combat an age-old disease
WHO Fact Sheet No. 191, april 1998
- 115.) Chatterjee KD
Fasciola hepatica
ed.Parasitology, 10th edition, pp 146 148, SN Guha Ray at Sree Saraswaty Press Ltd, Calcutta
- 116.) Bundschuh HD, Hust W, Preim D
Abdominelle Ultraschalldiagnostik in der Praxis
Hippokrates Verlag , Stuttgart (1992), 3.Auflage,
- 117.) Nik Akthar, Tabibi B
Metronidazol in fascioliasis: Report on 4 cases
J Trop Med Hyg (1977); 80: pp 179-180
- 118.) Dugernier T, Geubel A, Bigaignon G
Human fascioliasis: Cure by Mebendazol?
Gastroent Clin Biol (1986); 10: pp 513-516
- 119.) Becker B, Mehlhorn H, Andrews P
Light and elctron microscope studies on the effect of praziquantel on *Schistosoma*, *Dicroelium* and
Fasciola hepatica.
In Vitro, Zeitschrift für Parasitenkunde (1980); 63:pp 113-128
- 120.) Knobloch J, Delgado A, Alvarez G
Human Fascioliasis in Peru, Diagnostic methods and treatment with Praziquantel
Trop Med Parasitol (1985); 36: pp 88-90
- 121.) Rodrigez Barreras M E, Diaz Hernandez A, Martinez Rodrigues R
Urticaria and *Fasciola hepatica*.
Revista cubana de medicina tropical (1986); 38: pp 305-310
- 122.) Aliaga I, Diaz M, Quiroga J
Eosinophilic pulmonary desease caused by *Fasciola hepatica*, pleuropulmonary manifestations.
Medicina clinica (Barcelona) (1984); 82: pp 764-767
- 123.) el Sayad MH, Allam AF, Osman MM
Prevention of human fascioliasis: a study on the role of acids detergents and potasium permanganat in
clearing salads from metacercariae
J Egypt Soc Parasitol (1997) Apr 27(1): pp 163-169
- 124.) Cervi L, Rossi G, Cejas H, Masih DT
Fasciola hepatica induced immune suppression of spleen mononuclear cell proliferation: role of nitric
oxid
Clin Immunol Immunopathol (1998) May: 87(2): pp 145-154

- 125.) Tkalcevic J, Brandon MR, Meussen EN
Fasciola hepatica: rapid switching of stage specific antigen expression after infection
Parasite Immunol (1996) Mar:18(3): pp 139-147
- 126.) Lecaillon JB, Godbillon J, Campestrini J, Naquira C, Pacheco R, Mull R, Poltera AA
Effect of food on the bioavailability in patients with fascioliasis
Br J Clin Pharmacol (1998) Jun: 45: (6): pp 601-4
- 127.) Memorandum from WHO/ISH meeting: Guidelines for the management of mild Hypertension
J Hypertension (1989): 7: pp 689-693
- 128.) Alvarez Bujidos
Pharmacokinetics of Triclabendazole in rabbits
Comp Biochem Physiol (1993) Nov: 106 (3) : pp 805-8
- 129.) Th. Löscher; Schistosomiasis,
in W. Lang, Tropenmedizin in Klinik und Praxis
Georg Thieme Verlag Stuttgart (1993) p. 128
- 130.) Calvopina M, Guderian RH, Paredes W, Chico M, Cooper PJ
Treatment of human pulmonary paragonimiasis with triclabendazole: clinical tolerance and drug efficacy.
Trans R Soc Trop Med Hyg (1998) Sep-Oct; 92 (5): pp 566-9
- 131.) Picot S, Querrec M, Ghez JL, Guilliert-Fleuret A, Grillet, Ambroise-Thomas P
A new report of triclabendazole efficacy during invading phase fascioliasis
Eur J clin Microbiol (1992); 11: pp 269-70

6.2 Danksagung

Ich danke Herrn Dr. Richter für die Überlassung des Themas, die Betreuung in Kuba sowie für Anregungen und Bemerkungen die zum Gelingen der Arbeit beigetragen haben.

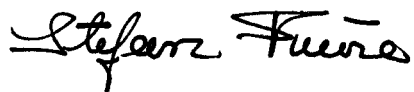
Mein ganz besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. Bienzle für die hervorragende Betreuung der Arbeit.

Den bewundernswerten Patienten aus La Palma möchte ich danken.

Für ständige Unterstützung, Ratschläge und Aufmunterung in allen Situationen danke ich ganz besonders meiner Mutter und Jamila.

6.4 Erklärung an Eides Statt

Diese Dissertation wurde von mir selbst ohne die unzulässige Hilfe Dritter verfasst, sie stellt auch in Teilen keine Kopie anderer Arbeiten dar und die benutzten Hilfsmittel sowie die Literatur sind vollständig angegeben.

A handwritten signature in black ink, reading "Stefan Freise". The signature is written in a cursive style with a prominent horizontal line under the first 'S'.

Berlin, den 20.2. 2001

Stefan Freise