

Aus der  
Medizinischen Universitätsklinik und Poliklinik Tübingen  
Abteilung VII, Tropenmedizin  
(Schwerpunkt: Institut für Tropenmedizin, Reisemedizin,  
Humanparasitologie)

**POC-CCA Schnelltest zur Schistosomiasis Diagnostik  
bei schwangeren Frauen in Gabun**

**Inaugural-Dissertation  
zur Erlangung des Doktorgrades  
der Medizin**

**der Medizinischen Fakultät  
der Eberhard Karls Universität  
zu Tübingen**

**vorgelegt von**

**Baral, Ruben Immanuel**

**2023**

Dekan: Professor Dr. B. Pichler

1. Berichterstatter: Professor Dr. P. G. Kremsner

2. Berichterstatter: Professor Dr. D. Sauter

Tag der Disputation: 19.10.2023

## **Inhaltsverzeichnis**

<b>Abkürzungsverzeichnis .....</b>	<b>6</b>
<b>Abbildungs- und Tabellenverzeichn .....</b>	<b>9</b>
<b>1. Einleitung.....</b>	<b>11</b>
<b>1.1. Schistosomiasis.....</b>	<b>11</b>
1.1.1. <b>Verbreitung der Schistosoma-Spezies .....</b>	<b>12</b>
1.1.2. <b>Lebenszyklus .....</b>	<b>13</b>
1.1.3. <b>Erkrankung .....</b>	<b>14</b>
1.1.4. <b>Diagnostik .....</b>	<b>15</b>
1.1.5. <b>Therapie und Elimination .....</b>	<b>16</b>
1.1.6. <b>Schistosomiasis in der Schwangerschaft .....</b>	<b>17</b>
1.1.7. <b>Schistosomiasis im Kleinkind- und Säuglingsalter.....</b>	<b>18</b>
<b>1.2. Gabun.....</b>	<b>20</b>
1.2.1. <b>Schistosomiasis in Gabun .....</b>	<b>21</b>
<b>1.3. Fragestellung und Studienziel .....</b>	<b>22</b>
<b>2. Methoden .....</b>	<b>26</b>
<b>2.1. Studienbeschreibung .....</b>	<b>26</b>
<b>2.2. Ein- und Ausschlusskriterien .....</b>	<b>27</b>
<b>2.3. Patientenpopulation.....</b>	<b>28</b>
<b>2.4. Datenerhebung.....</b>	<b>28</b>
<b>2.5. Urinanalyse.....</b>	<b>30</b>
2.5.1. <b>Urinfiltration .....</b>	<b>30</b>
2.5.2. <b>POC-CCA Test .....</b>	<b>31</b>
2.5.3. <b>Dip-Stick Test .....</b>	<b>32</b>
2.5.4. <b>UCP-LF CAA Test .....</b>	<b>33</b>
<b>2.6. Lagerung.....</b>	<b>34</b>
<b>2.7. TCA Treatment .....</b>	<b>34</b>
<b>2.8. Stuhldiagnostik .....</b>	<b>35</b>
2.8.1. <b>Kato Katz .....</b>	<b>35</b>
2.8.2. <b>Copro-Kultur .....</b>	<b>36</b>
<b>2.9. Blutuntersuchung .....</b>	<b>36</b>
2.9.1. <b>Saponin-Leuco-Konzentration .....</b>	<b>36</b>
<b>2.10. Statistische Analyse.....</b>	<b>37</b>
<b>2.11. Ethische Aspekte.....</b>	<b>37</b>

<b>3.</b>	<b>Ergebnisse</b>	<b>38</b>
<b>3.1.</b>	<b>Beschreibung der Studienpopulation</b>	<b>38</b>
<b>3.2.</b>	<b>Longitudinale Untersuchung der falsch positiven POC-CCA Resultate</b>	<b>41</b>
<b>3.2.1.</b>	<b>Urinergebnisse</b>	<b>41</b>
3.2.1.1.	Mikroskopie	41
3.2.1.2.	UCP-LF CAA Test	41
3.2.1.3.	POC-CCA Test	41
3.2.1.4.	Dip-Stick Test	42
<b>3.2.2.</b>	<b>Stuhlergebnisse</b>	<b>42</b>
<b>3.2.3.</b>	<b>Blutergebnisse</b>	<b>42</b>
<b>3.2.4.</b>	<b>Detaillierte Analyse der POC-CCA Ergebnisse</b>	<b>42</b>
<b>3.2.5.</b>	<b>Intensität der POC-CCA Testergebnisse</b>	<b>45</b>
<b>3.3.</b>	<b>Parasitäre Begleitinfektionen und weitere Infektionsparameter</b>	<b>47</b>
3.3.1.	Begleitinfektionen	47
3.3.2.	Dip-Stick Ergebnisse	47
<b>3.4.</b>	<b>Betrachtung der Neugeborenen</b>	<b>49</b>
<b>3.5.</b>	<b>Experimentelle Faktoren</b>	<b>51</b>
3.5.1.	Lagerung	51
3.5.2.	Abtrennung verunreinigender Proteine	52
3.5.2.1.	Evaluation der Methode	53
3.5.2.2.	Ergebnisse TCA-Behandlung	54
<b>4.</b>	<b>Diskussion</b>	<b>57</b>
<b>4.1.</b>	<b>POC-CCA Kreuzreaktivität in der Schwangerschaft</b>	<b>57</b>
4.1.1.	Aktuelle Studienlage	57
4.1.2.	Vergleich mit sensitiver Referenzdiagnostik	58
<b>4.2.</b>	<b>Vergleich der POC-CCA Ergebnisse während und nach der Schwangerschaft</b>	<b>59</b>
4.2.1.	Eigene Ergebnisse	59
4.2.2.	Bewertung anhand der aktuellen Studienlage	60
<b>4.3.</b>	<b>Verlauf der G-Score Ergebnisse</b>	<b>61</b>
<b>4.4.</b>	<b>Parasitäre Infektionen</b>	<b>62</b>
4.4.1.	Helminthen	62
4.4.2.	Protozoen	63
<b>4.5.</b>	<b>Urogenitale Infektionen</b>	<b>64</b>
4.5.1.	Urogenitale Infektionen in der Schwangerschaft	64
4.5.2.	Einfluss urogenitaler Infektionen auf den POC-CCA	64

4.5.3.	Urogenitale Infektionen in der Studienpopulation .....	65
<b>4.6.</b>	<b>POC-CCA zur Diagnostik bei Säuglingen .....</b>	<b>67</b>
4.6.1.	Infektion mit Schistosomen bei Säuglingen in der Literatur .....	67
4.6.2.	POC-CCA Diagnostik bei Säuglingen .....	67
<b>4.7.</b>	<b>Experimentelle Untersuchungen .....</b>	<b>70</b>
4.7.1.	Lagerung .....	70
4.7.2.	Abtrennung verunreinigender Proteine .....	71
<b>5.</b>	<b>Zusammenfassung.....</b>	<b>74</b>
	<b>Literaturverzeichnis .....</b>	<b>76</b>
<b>6.</b>	<b>Erklärung zum Eigenanteil .....</b>	<b>86</b>
	<b>Danksagung.....</b>	<b>87</b>

## Abkürzungsverzeichnis

BIP	Bruttoinlandsprodukt
CAA	Circulating anodic antigen <i>(Zirkulierendes anodisches Antigen)</i>
CCA	Circulating cathodic antigen <i>(Zirkulierendes kathodisches Antigen)</i>
CDC	Centers for Disease Control and Prevention <i>(Behörde der Vereinigten Staaten von Amerika für Krankheitskontrolle und Prävention)</i>
CERMEL	Centre de Recherches Médicales de Lambaréné <i>(Medizinisches Forschungszentrum in Lambaréné)</i>
CNAMGS	Caisse Nationale d'Assurance Maladie et de Garantie Sociale <i>(Nationale Krankenversicherung in Gabun)</i>
DALYs	Disability-adjusted life years <i>(Verlorene gesunde Lebensjahre)</i>
EDCTP	European and Developing Countries Clinical Trials Partnership <i>(Partnerschaft der Europäischen Union mit Entwicklungsländern zur Forschungsförderung von mit Armut in Zusammenhang stehenden Erkrankungen)</i>
<i>freeBILy-GAB</i>	Studienakronym: Fast and reliable easy-to-use-diagnostics for eliminating Bilharzia in young children and mothers in Gabun
G-Score	<i>Graded-Score (System zur graduellen Bewertung von Testergebnissen)</i>
HWI	Harnwegsinfekt
ID	Identifikator
KI	Konfidenzintervall

LUMC	Leiden University Medical Center ( <i>Medizinisches Zentrum der Universität Leiden</i> )
MDA	Mass-Drug-Administration-Programm ( <i>Medikamentöse Behandlung ganzer Teile einer Bevölkerung unabhängig vom Infektionsstatus</i> )
NA	Not applicable ( <i>Test nicht anwendbar durch fehlende Proben oder durch nicht ausreichendes Probenmaterial</i> )
POC	Point-of-Care ( <i>System zur patientennahen Labordiagnostik</i> )
Rpm	Revolutions per minute ( <i>„Umdrehung pro Minute“ als Maßeinheit für Zentrifugen</i> )
SD	Standardabweichung
SOP	Standard Operating Procedure ( <i>Dokument mit festgelegter Vorgehensweise</i> )
Spec.	<i>Species</i> (Spezies)
S.	Schistosoma
TCA	Trichloressigsäure
TRIS	Trishydroxymethylaminomethan
UCP-LF	Upconverting phosphor lateral flow ( <i>Auf einem System mit Phosphor markierten Antikörpern basierendes Verfahren in der Diagnostik</i> )
UNAIDS	Joint United Nations Programme on HIV/AIDS ( <i>Gemeinsames Programm der Vereinten Nationen für HIV/AIDS</i> )
V-Score	Visual-Score ( <i>Visuelles Bewertungssystem</i> )
WHO	World Health Organization ( <i>Weltgesundheitsorganisation</i> )

ZNS

Zentrales Nervensystem

# Abbildungs- und Tabellenverzeichnis

## Abbildungsverzeichnis

<b>Abb. 1</b> Lebenszyklus der Schistosoma Spezies.....	S. 13
<b>Abb. 2</b> Ablauf der Probengewinnung.....	S. 39
<b>Abb. 3</b> POC-CCA-Ergebnisse im Verlauf der beiden Probenentnahmen....	S. 43
<b>Abb. 4</b> Anzahl der vermutlich falsch-positiven POC-Ergebnisse (im Vergleich zu Mikroskopie plus UCP-LF CAA Assay) vor und nach der Geburt.....	S. 45
<b>Abb. 5</b> Ergebnisintensitäten des POC-CCA Tests im G-Score vor und nach der Geburt.....	S. 46
<b>Abb. 6</b> POC-CCA-Resultate Mutter und Säugling im Zeitraum von 10 Monaten nach der Geburt.....	S. 51
<b>Abb. 7</b> POC-CCA Kontrollsubstanz mit TCA behandelt und ohne Behandlung.....	S. 54
<b>Abb. 8</b> Gegenüberstellung von POC-CCA-Ergebnissen von mit TCA behandelten und unbehandelten Urinproben.....	S. 56

## **Tabellenverzeichnis**

<b>Tab. 1</b> Übersicht über die Diagnostischen Ergebnisse der schwangeren Frauen.....	S. 40
<b>Tab. 2</b> Ergebnisse der diagnostischen Tests über den Untersuchungszeitraum im Vergleich.....	S. 44
<b>Tab. 3</b> Anteil der positiver Dip-Stick-Befunde bei Mikroskopie und UCP-LF CAA negativen Frauen.....	S. 48
<b>Tab. 4</b> Beschreibung der untersuchten Kinder.....	S. 50
<b>Tab. 5</b> POC-CCA Ergebnisse vor und nach Behandlung mit TCA.....	S. 55

# 1. Einleitung

## 1.1. Schistosomiasis

Die Schistosomiasis, auch Bilharziose genannt, ist eine parasitäre Erkrankung, die durch Helminthen der Gattung *Schistosoma* ausgelöst wird. Drei Spezies – *Schistosoma (S.) haematobium*, *japonicum* und *mansoni* - sind hauptsächlich für die Krankheitslast beim Menschen verantwortlich, der ihren Hauptwirt darstellt. Weitere Spezies wie *S. mekongi*, *S. intercalatum* und *S. guineensis* haben deutlich kleinere Verbreitungsgebiete (*World Health Organization, 2021b*).

Da die Schistosomiasis sich hauptsächlich durch Wasserkontakt verbreitet, ist die Erkrankung eng mit dem Zugang zu sauberem Nutz- und Trinkwasser und damit wiederum mit Armut verknüpft (*World Health Organization, 2021b*). Nach Zahlen von 2014 sind 3,46% der Weltbevölkerung mit dem Parasiten infiziert, der größte Anteil davon in Subsahara-Afrika, mit über 1,6 Millionen Disability Adjusted Life Years (DALY) allein im Jahre 2019 (*Colley et al., 2014; World Health Organization*). Bei dem Instrument der DALYs handelt es sich um die Bemessung der durch Erkrankung verlorenen gesunden Lebensjahre. Diese offiziellen Zahlen werden jedoch oft als extrem unterbewertet kritisiert, da mit diesem Bewertungssystem vor allem die chronischen Effekte der Erkrankung vernachlässigt werden (*Chitsulo et al., 2004*). Mittlerweile wird die Erkrankung nach Malaria als zweitwichtigste tropische parasitäre Krankheit genannt (*CDC, 2018*). *S. haematobium* als die besonders in Subsahara-Afrika vorherrschende Spezies ist Auslöser der Urogenitalen Schistosomiasis (*Organization et UNAIDS, 2002*).

Zwar ist die Schistosomiasis auch immer wieder bei Reiserückkehrern in Deutschland zu finden, doch eine dauerhafte Ausbreitung ist in Europa aus mehreren Gründen nicht zu erwarten: Zum einen erschwert die gute sanitäre und medizinische Infrastruktur eine Ausbreitung des Erregers. Infizierte werden so meist schnell erkannt und Fäkalien gelangen nur selten ungeklärt in freie Gewässer. Zum anderen sind die zur Vermehrung der Erreger notwendigen Wasserschnecken nur in kleinen Teilen Südeuropas, wie zum Beispiel in

Korsika, zu finden (*Robert Koch Institut, 2014*). Somit ist besonders die arme Landbevölkerung der tropischen und subtropischen Zonen betroffen, mit besonderem Fokus auf Personen, die auf den täglichen Kontakt mit offenen Gewässern angewiesen sind. Dazu zählen beispielsweise Fischer und Hausfrauen (*Dejon-Agobé et al., 2019*). Trotz der weiten Verbreitung und der hohen Krankheitslast zählt die Erkrankung zu den sogenannten „*Neglected Tropical Diseases*“ und ist erst in den letzten Jahrzehnten in den Fokus der Aufmerksamkeit gerückt.

### **1.1.1. Verbreitung der Schistosoma-Spezies**

Schistosomiasis ist endemisch in 78 Ländern, wobei die Hauptlast der Infektionen auf die Subsahara-Region des afrikanischen Kontinents entfällt. Die verschiedenen Spezies unterscheiden sich unter anderem in ihrer geographischen Verbreitung: *Schistosoma haematobium* ist die am weitesten verbreitete Spezies und findet sich hauptsächlich auf dem afrikanischen Kontinent; geringere Verbreitungsgebiete liegen jedoch auch im Mittleren Osten und auf Korsika. Die Verbreitungsgebiete von *Schistosoma mansoni* liegen in Afrika, dem mittleren Osten, der Karibik, Brasilien sowie Venezuela und Surinam. *Schistosoma japonicum* ist endemisch in China, Indonesien und auf den Philippinen (*World Health Organization, 2021b*).

## 1.1.2. Lebenszyklus

### *Schistosoma* spp.

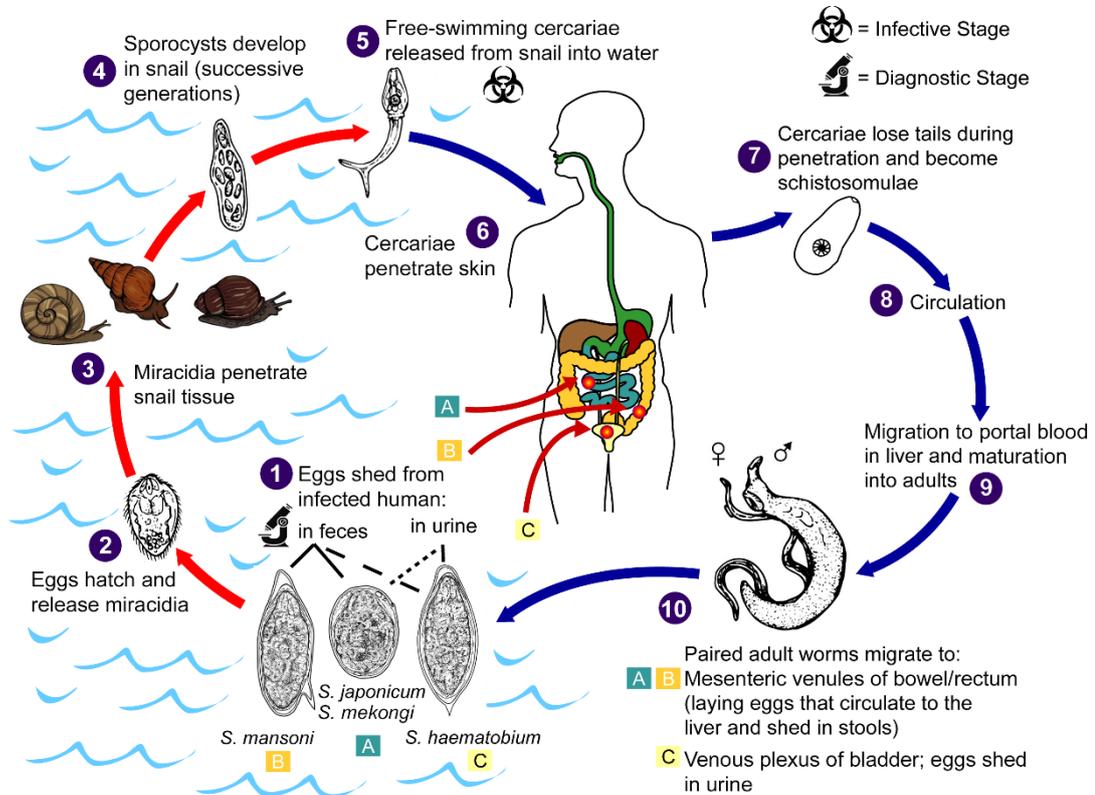


Abbildung 1-Lebenszyklus *Schistosoma* Spezies (Quelle: CDC/ Alexander J. da Silva, PhD; Melanie Moser/ Public Health Image Library)

#### Abbildung 1: Lebenszyklus der *Schistosoma* Spezies

Der Lebenszyklus der *Schistosoma* Spezies beginnt mit der Ausscheidung von infiziertem Stuhl (*S. mansoni*, *S. japonicum*) oder Urin (*S. haematobium*) in Süßwasser (1) (s. Abb. 1). Unter günstigen Umständen schlüpfen dann aus den in den Ausscheidungen enthaltenen Eiern die so genannten Miracidien (2). Miracidien, auch Wimpernlarven genannt, können sich aktiv im Gewässer bewegen und infizieren Wasserschnecken, der Zwischenwirt des Parasiten. (3). Die unterschiedlichen Schistosomenspezies infizieren unterschiedliche Arten von Wasserschnecken. *Schistosoma haematobium* dient die Gattung *Bulinus* als Zwischenwirt. Über zwei verschiedene Entwicklungsstadien als Sporocyste (4) entwickelt sich der Parasit innerhalb der Schnecke weiter, bis er als Cercarie (5).

(Gabelschwanzlarve) von der Schnecke wieder ins Wasser ausgeschieden wird (5). Dabei handelt es sich um die für den Menschen infektiöse Form des Parasiten. Kommt ein Mensch nun mit infiziertem Wasser in Kontakt, penetrieren die dort vorhandenen Cercarien aktiv die intakte Haut des Menschen. Bei Durchdringen der Haut verlieren die Cercarien ihren beweglichen Schwanz und werden zu Schistosomulae (7). Diese migrieren über die Blutzirkulation (8) in die Portalvene und reifen dort zu den adulten Pärchenegeln (9) heran. Die adulten Parasiten migrieren anschließend – je nach Spezies unterschiedlich – entweder in die mesenterischen Venen des Darms (*S. mansoni*, *S. japonicum*) oder in das Venengeflecht des Urogenitaltraktes (*S. haematobium*) (10). Die hier von den adulten Würmern ausgeschiedenen Eier können nun erneut über Urin und Stuhl in die Umwelt gelangen (CDC, 2019).

### 1.1.3. Erkrankung

Eine Infektion mit Schistosomen kann in eine akute und in eine chronische Infektion mit jeweils unterschiedlichen Auswirkungen unterteilt werden. Die akuten Symptome der Schistosomiasis sind das Auftreten eines juckenden makulopapulösen Ausschlages, welcher durch die Penetration der Haut durch die Cercarien entsteht (CDC, 2019). Es kann außerdem zum Katayama-Fieber kommen. Dabei handelt es sich um eine überschießende Reaktion des Immunsystems des Wirtes mit systemischen Symptomen wie Fieber, gastrointestinalen Schmerzen, Milz- und Lebervergrößerung sowie Eosinophilie. In den meisten Fällen verläuft die erste Phase der Infektion jedoch symptomlos (Ross et al., 2007).

Nach dieser Akutreaktion, die durch den direkten Erregerkontakt entsteht, ist ein Großteil der weiteren chronischen Reaktion nicht auf den Parasiten selbst, sondern auf die von den Schistosomen ausgeschiedenen Eier zurückzuführen (Colley et al., 2014). Diese können sich in den muskulären Wänden der Organe des Intestinal- und Urogenitaltraktes verfangen. Dabei handelt es sich bei der intestinalen Schistosomiasis (*S. mansoni*, *S. japonicum*) um den Darm und bei *S. haematobium* um Blase und Uterus, sowie weitere assoziierte Organe (Ross

*et al.*, 2002). In seltenen Fällen werden Eier auch ins zentrale Nervensystem (ZNS) verschleppt (*Carod Artal*, 2012). Die in den muskulären Wänden gefangenen Eier lösen meist granulomatöse Entzündungsreaktionen aus, die zu Vernarbung und Fibrosierung führen. Typische Zeichen der intestinalen Schistosomiasis sind Bauchschmerzen, Durchfall und Blut im Stuhl. In fortgeschrittenen Fällen kommen dann durch Hypertension der abdominellen Venen Aszites und Milzvergrößerung hinzu. Das klassische Zeichen der urogenitalen Schistosomiasis ist eine schmerzlose Hämaturie (*Colley et al.*, 2014). Die Fibrosierung der Blase und Ureter bedingen mit fortschreitender Erkrankung Nierenschäden. Im Verlauf können diese chronischen Schädigungen zu Blasenkrebs führen (*Mostafa et al.*, 1999). Von großer Bedeutung sind auch die Auswirkungen auf die inneren weiblichen und männlichen Geschlechtsorgane mit möglichen dauerhaften Schäden. Schäden an Uterus und Vagina können zu vermehrten Tot- und Frühgeburten sowie zu Dyspareunie (Kohabilitations-schmerz) und Infertilität führen (*Hotez et al.*, 2019). Beim Mann kann es zu Defekten an Prostata, Samenleitern und Bläschendrüsen kommen (*Abdel-Naser et al.*, 2019; *CDC*, 2019; *World Health Organization*, 2021b). Die durch die Eier verursachten Wanddefekte in Geschlechtsorganen und die daraus folgenden Blutungen begünstigen zudem die Transmission sowie die Suszeptibilität gegenüber HIV (*Patel et al.*, 2021).

#### **1.1.4. Diagnostik**

Der aktuelle Goldstandard in der Diagnostik der Schistosomiasis ist die mikroskopische Untersuchung von Urin oder Stuhlproben. Zur Diagnostik der urogenitalen Schistosomiasis werden Urinproben durch Filtration angereichert und der Filter anschließend unter dem Mikroskop begutachtet. Für die intestinale Schistosomiasis wird eine kleine Menge Stuhl nach Kato-Katz-Technik auf einem Objektträger ausgestrichen und ebenfalls unter dem Mikroskop beurteilt. Durch die charakteristische Form der Eier der unterschiedlichen Spezies ist dann eine Differenzierung möglich. Zur Diagnostik bei Reiserückkehrern kann zusätzlich auf den Nachweis von Antikörpern im Patientenserum zurückgegriffen werden.

Neue sensitivere Diagnostika sind noch auf dem Weg der Zulassung. Vor allem antigenbasierte Methoden gelten als vielversprechende Alternativen. Für die Diagnostik von *S. mansoni* empfiehlt die World Health Organisation (WHO) bereits einen auf dem Circulation Cathodic Antigen (CCA) basierten Test (*World Health Organization, 2021b*). Der von *Rapid Medical Diagnostics (Pretoria, Südafrika)* kommerziell angebotene Schnelltest basiert auf der Detektion des von adulten Würmern ausgeschiedenem Antigen CCA, das sowohl im Blut als auch im Urin nachgewiesen werden kann (*van Dam et al., 2004*). Ein großer Vorteil der antigen-basierten Tests gegenüber den etablierten Methoden ist, dass auch Infektionen ohne signifikante Ei-Ausscheidung erkannt und anschließend behandelt werden können (*Mwinzi et al., 2015*). Durch den einfachen Aufbau des Tests als Point of Care (POC) -Testkassette ist eine Anwendung ohne Labor und spezielles Training möglich (*Rapid Medical Diagnostics, 13.12.2018*). Neben diesen vielversprechenden Eigenschaften sind jedoch noch einige Herausforderungen bis zur sicheren und breiten Anwendung bei allen Schistosomenspezies zu bewältigen. Laborbasierte Antigentests wie der *Upconverting particle-lateral flow circulating anodic antigen Test (UCP-LF CAA Test)* befinden sich ebenfalls in der klinischen Erprobung (*Corstjens et al., 2020*). Die verschiedenen diagnostischen Verfahren werden in Kapitel 2.5 näher erläutert.

#### **1.1.5. Therapie und Elimination**

Die Strategie zur Therapie und Eliminierung der Schistosomiasis der WHO basiert auf fünf Interventionen. Erstens soll durch die breite Behandlung von Risikogruppen mit Praziquantel, dem aktuell wirksamsten Medikament, die Prävalenz und die Intensität der Infektionen gesenkt werden. Als Zielgruppe gelten hier Kinder im Vorschul- und Schulalter, Bevölkerungsgruppen mit berufsbedingt erhöhtem Risiko einer Infektion, wie Fischer und Hausfrauen sowie die komplette Bevölkerung in hochendemischen Gebieten. Die medikamentöse Intervention ist je nach Prävalenz im entsprechenden Gebiet mehrere Jahre in Folge nötig. Um eine schnelle Reinfektion zu verhindern, soll als zweite Strategie ein verlässlicher Zugang zu sauberem Trink- und

Nutzwasser geschaffen werden. So wäre die lokale Bevölkerung nicht mehr auf den Kontakt mit kontaminierten freien Wasserflächen angewiesen. Da der Lebenszyklus des Parasiten von der Kontamination von Wasser durch menschliche Exkremente abhängig ist, wird drittens eine Verbesserung der sanitären Bedingungen angestrebt. Als vierte Strategie steht die Information der lokalen Bevölkerung im Fokus. Durch Informationskampagnen soll diese für das Problem und seine Ursachen sensibilisiert werden, um eine Verhaltensänderung zu erwirken. Fünftens wird eine Bekämpfung des Vektors, der Süßwasserschnecken, in endemischen Gebieten vorangetrieben (*World Health Organization, 2021b*). Für eine breite Bekämpfung der lokalen Schneckenpopulationen werden Molluskizide basierend auf der Chemikalie Niclosamid genutzt (*World Health Organization, 2020b*).

#### **1.1.6. Schistosomiasis in der Schwangerschaft**

Trotz neuer Erkenntnisse über das gesundheitliche Risiko, das eine Schistosomeninfektion für schwangere Frauen birgt, gibt es nur wenige Daten über die weltweite Prävalenz dieser Erkrankung bei Schwangeren. Eine Inzidenz von 10 Millionen jährlichen Fällen von Schistosomiasis während der Schwangerschaft wird häufig angegeben (*Friedman et al., 2007*). Jedoch ist das zitierte Ursprungsdokument der WHO von 2002 nicht mehr einsehbar.

Auch bei den Prävalenzen in Subsahara-Afrika ist die Datenbasis noch sehr gering. Nach dem Review von Salawu und Odaibo et al. zu diesem Thema bewegt sich die Prävalenz in den Jahren 2001 bis 2013 zwischen 2,5 % in einem Distrikt in Malawi und 63,5 % in Tansania (*Ajanga et al., 2006; Salawu et Odaibo, 2014; Thigpen et al., 2011*). Eine bestehende Infektion hat einen starken negativen Einfluss auf die Schwangere und das ungeborene Kind.

Ein großer Einflussfaktor auf die Morbidität ist die durch die Infektion entstehende Anämie. Neben chronischen Entzündungsprozessen und dem Blutverlust über Stuhl oder Urin werden auch Autoimmunhämolyse und ein verstärkter Abbau von Blutkörperchen in der Milz als Ursache der Anämie beschrieben (*Friedman et al., 2005*). Eine bestehende Anämie in der Schwangerschaft stellt einen Risikofaktor für niedriges Geburtsgewicht und

Frühgeburtlichkeit dar (Salawu et Odaibo, 2014; Steketee, 2003; Stephenson et al., 2000).

Als weiterer großer Faktor für die Morbidität in der Schwangerschaft gilt der Einfluss der Schistosomiasis auf die weiblichen Geschlechtsorgane, bekannt als „Female Genital Schistosomiasis“. Ursächlich sind hier Eier der Schistosomenspezies *S. haematobium*, welche sich in den muskulären Wänden der weiblichen Geschlechtsorgane verfangenen. Die eingeschlossenen Eier werden vom Immunsystem angegriffen und führen zu Entzündung und lokaler Infiltration von Immunzellen (Hotez et al., 2019; Kjetland et al., 1996). Die direkten Mechanismen des Einflusses auf die Schwangerschaft und Fertilität sind bisher noch wenig erforscht, jedoch zeigen Fallberichte (Case Reports) mögliche Komplikationen auf. Fälle von ektopen Schwangerschaften, Tubenschwangerschaften sowie verminderter Fertilität werden berichtet und auf Basis organischer Veränderungen auf die Schistosomiasis zurückgeführt (Bullough, 1976; Freer et al., 2018; Friedman et al., 2007; Hove et Javangwe, 2014; Owusu-Bempah et al., 2013; Youssef et Abdine, 1958).

Nach einer Nutzen-Risiko-Abwägung besteht seit 2002 die uneingeschränkte Empfehlung der WHO zum Einsatz von Praziquantel bei Schwangeren. Durch die direkten negativen Effekte der Schistosomiasis auf die Schwangerschaft und das ungeborene Kind sowie fehlende Hinweise zu toxischen Effekten des Medikamentes ist nach WHO-Empfehlung der Einsatz bei nachgewiesener Erkrankung in allen Trimestern der Schwangerschaft empfohlen (World Health Organization, 2002).

#### **1.1.7. Schistosomiasis im Kleinkind- und Säuglingsalter**

Durch einen starken Fokus der Forschung auf Kinder im Schulalter ist die Datenlage zur Schistosomiasis im Säuglings- (<1 Jahr) und Kleinkindalter (1.-5. Lebensjahr) noch immer gering. Die Prävalenz der Schistosomiasis in der Altersgruppe unter sechs Jahren wird aktuell in Subsahara-Afrika für *Schistosoma mansoni* auf 22 % und für *S. haematobium* auf 15 % geschätzt (Kalinda et al., 2020). Zwischen den einzelnen Regionen variieren die

Prävalenzen jedoch stark und in der Altersgruppe werden auch extreme Prävalenzen von beispielsweise über 70 % für *S. haematobium* in einer endemischen Region in Nigeria berichtet (*Ekpo et al., 2012; Mafiana et al., 2003*). Der Kontakt mit infektiösem Wasser beginnt in vielen Regionen mit der Geburt. Durch fehlenden Zugang zu sauberem Trink- und Nutzwasser und durch geringen Wissensstand über den Infektionswegen der Erkrankung bringen Eltern ihre Säuglinge schon früh mit dem Erreger in Kontakt. Meist geschieht dies im Säuglingsalter durch das Waschen mit infiziertem Wasser und während alltäglicher Aktivitäten der Mütter. Bei Kleinkindern sind Spielen und Arbeiten in infiziertem Wasser häufig berichtete Infektionswege (*Mafiana et al., 2003*). Diagnostisch wurden erste Hinweise auf Infektionen bereits im Alter von zwei Monaten festgestellt (*Bosompem et al., 2004*). Meist handelt es sich um Infektionen niedriger Intensität, welche mit steigendem Alter an Intensität sowie an Morbidität zunehmen (*Freer et al., 2018; Mafiana et al., 2003*). Die Infektionen führen zu Anämie, Hämaturie, Diarrhoe, Wachstumsverzögerung sowie in fortgeschrittenen Fällen auch in dieser Altersgruppe schon zu Blasenwandveränderungen und Lebervergrößerung (*Colley et al., 2014; Freer et al., 2018; Mafiana et al., 2003; Magalhães et Clements, 2011; van der Werf et al., 2003*) Neben den Infektionen mit hoher Parasitenlast können auch Infektionen niedriger Intensität durch das Entstehen einer Anämie einen negativen Einfluss auf die Infizierten haben (*Butler et al., 2012*).

Nach Evaluation der Vor- und Nachteile einer Praziquantel-Behandlung bei Kindern im Säuglings- und Vorschulalter durch die WHO wird empfohlen, Kinder ohne Altersbeschränkung nach Diagnose der Erkrankung mit Praziquantel zu behandeln. Da weiterhin keine pädiatrischen Anwendungsformen erhältlich sind, empfiehlt die WHO, zerkleinerte Tabletten zu nutzen und diese – wenn nötig – in Wasser zu lösen, um die Verabreichung zu ermöglichen (*World Health Organization, 2010*). Eine optimale Dosierung wird aktuell noch evaluiert, jedoch gibt es bisher keine Hinweise auf Unterschiede in Wirksamkeit und Nebenwirkungen verglichen mit Schulkindern (*Olliaro et al., 2020*). Um die Entwicklung eines speziell für die Anwendung bei Kindern optimierten Praziquantel-Präparates voranzutreiben, wurde 2012 das

„*Pediatric Praziquantel Consortium*“ gegründet. Seit 2019 befindet sich das entwickelte Präparat in einer klinischen Phase-III-Studie und soll laut des Konsortiums im Jahr 2025 in ersten Ländern Anwendung finden (*Pediatric Praziquantel Consortium, 2021-10-20*).

## **1.2. Gabun**

Gabun liegt umgeben von Kamerun, der Republik Kongo und Äquatorialguinea an der Atlantikküste Subsahara-Afrikas. Durch die Lage am Äquator herrscht in diesem Land ein ausschließlich tropisches Klima mit zwei jährlichen Regenzeiten. Die Regenzeiten von Oktober bis Mitte Dezember und von Februar bis Mai sind gekennzeichnet durch ausgiebige Regenfälle. In der Studienregion Lambaréné kommt es zu 1800 bis 2000 mm jährlichem Niederschlag. 81 % des 267.000 km<sup>2</sup> großen Landes sind von tropischem Regenwald bedeckt. Vor allem im Ogooué-Becken mit einer Ausdehnung über 220.000 km<sup>2</sup> Fläche dominieren große Wasserflächen und Sümpfe (*World Health Organization, 1987*).

Obwohl in Gabun das Pro-Kopf-BIP knapp 4,5-mal höher ist als das der restlichen Subsahara-Region, leben durch Ungleichheiten in der Vermögensverteilung große Teile der Bevölkerung in Armut und leiden unter schlechten sanitären Verhältnissen (*The World Bank, 2022*). Ein weiteres Problem ist die geringe Bevölkerungsdichte: Während in der Hauptstadt Libreville 845.000 Einwohner sehr konzentriert auf kleiner Fläche leben, lebt der Rest der 2,2 Millionen Einwohner weit über die gesamte übrige Landesfläche verteilt. In Kombination mit den schlechten Straßenverhältnissen außerhalb Librevilles macht dies die flächendeckende Gesundheitsversorgung zu einer großen Herausforderung (*The World Bank, 2020*). Mit einer Ärztedichte von 0,68 Ärzten pro 1.000 Einwohnern sind große Teile der Landbevölkerung nur schlecht an das Gesundheitssystem angebunden (*CIA, 21.10.2021*).

Seit 2007 gibt es in Gabun ein nationales Krankenversicherungssystem, die „Caisse Nationale d'Assurance Maladie et de Garantie Sociale“ (CNAMGS) (*CNAMGS, 2015b*). Vor allem schwangere Frauen haben so die Möglichkeit,

regelmäßige kostenlose Vor- und Nachsorgetermine sowie eine Entbindung im Krankenhaus in Anspruch zu nehmen (CNAMGS, 2015a). Mit diesem System war es in den letzten Jahren möglich, die medizinische Versorgung dieser Gruppe deutlich zu verbessern. Sanogo et Yaya beschreiben, dass zwei Drittel der Frauen regelmäßige Nachsorgetermine wahrnehmen, außerdem berichten sie über eine steigende Rate an Geburten, die im Krankenhaus stattfinden (Sanogo et Yaya, 2020).

Die Studienregion Lambaréné liegt im Westen Gabuns in der Provinz Moyen-Ogooué am Ufer des Flusses Ogooué. Die 38.000 Einwohner leben entlang der Autoroute 1, welche den Westen des Landes mit den Provinzen im Südosten verbindet. Durch die Nähe zum Fluss und die starken Regenfälle während der Regenzeiten erstrecken sich um die Stadt herum ausgedehnte Sumpfgebiete, in denen es regelmäßig zu Überschwemmungen kommt. Die Gesundheitsversorgung in der Region wird durch das Hôpital Albert Schweizer sowie das Hôpital George Rawiri geleistet. Daneben existieren noch kleinere Zentren zur Schwangerschaftsvorsorge wie z. B. das Hôpital General (CIA, 21.10.2021; citypopulation, 2013).

### **1.2.1. Schistosomiasis in Gabun**

Gabun ist durch seine klimatischen Verhältnisse, seine ausgedehnten Wasserläufe und die schwache Infrastruktur prädisponiert für das Vorkommen der Schistosomiasis. Aktuell sind im Land vor allem *S. haematobium* mit einer Prävalenz von 15,4 % sowie *S. intercalatum* endemisch vertreten (Lai et al., 2015; Mintsa Nguema et al., 2018). Daneben tritt auch in geringerem Maße *S. mansoni* auf, dessen Prävalenz im Jahr 2015 mit 4 % angegeben wird (Lai et al., 2015). Als weiterer Wirt für *S. mansoni* sind neben dem Menschen in Gabun die in den Nationalparks lebenden Menschenaffen bekannt (Červená et al., 2016). Die Gesamtprävalenz aller Schistosomiasis-Spezies in der Bevölkerung liegt nach Lai et al. bei 20 % (Lai et al., 2015).

Trotz des relativen wirtschaftlichen Reichtums ist die Schistosomiasis in Gabun (immer noch) weit verbreitet. 2019 benötigten nach WHO-Angaben über

200.000 Menschen im Land eine präventive Behandlung für Schistosomiasis (*World Health Organization, 2020a*). In Lambaréné liegt die Prävalenz für *S. haematobium* in unterschiedlichen Personengruppen zwischen 12 % - 75 % (*Adegnika et al., 2010; Ateba Ngoa et al., 2014; Ateba-Ngoa et al., 2016; Dejon-Agobé et al., 2018*). Die Prävalenz variiert stark zwischen Altersgruppen und zwischen der Stadt Lambaréné selbst und den in der Umgebung gelegenen Dörfern. So wurde die höchste aufgeführte Prävalenz von 75 % unter der Dorfbevölkerung von Zilé, einem in der Umgebung von Lambaréné gelegenen Dorf gemessen. Unter schwangeren Frauen wurde eine Prävalenz von 12 % für *S. haematobium* festgestellt (*Dejon-Agobé et al., 2018*). Neben einem Mass Drug Administration (MDA)-Programm der WHO 2016 verfolgt Gabun eine nationale Strategie zur Ausrottung der Schistosomiasis (*Dejon-Agobé et al., 2020*).

### **1.3. Fragestellung und Studienziel**

In den letzten Jahren rückten neben den bisher in der breiten Öffentlichkeit bekannten tropischen Erkrankungen wie Malaria und Tuberkulose die sogenannten „Neglected Tropical Diseases“ in den Fokus der Aufmerksamkeit. Die „Neglected Tropical Diseases“ sind eine Gruppe von Erkrankungen, die fast ausschließlich in der armen Bevölkerung des globalen Südens verbreitet sind. In der Vergangenheit wurden diese Erkrankungen trotz der hohen Krankheitslast aufgrund der schwachen politische Position und der wenig beachteten Stimme dieses Teils der Weltbevölkerung in der Erforschung und Bekämpfung vernachlässigt (*World Health Organization, 2012*). Seit sich die WHO die Eliminierung der Schistosomiasis als einem der wichtigsten Vertreter der „Neglected Tropical Diseases“ zum Ziel gesetzt hat, wurden deutlich größere Anstrengungen zur Bekämpfung der Erkrankung und seiner Erreger unternommen. Durch groß angelegte Mass Drug Administration-Programme (MDA) mit dem aktuell wirkungsvollsten Medikament Praziquantel konnten über die letzten Jahre hinweg einige Erfolge wie eine deutliche Reduktion der DALYs erzielt werden (*World Health Organization*).

Dennoch stehen dem Programm mit dem Ziel der Eliminierung der Schistosomiasis als öffentliches Gesundheitsproblem bis 2030 noch große Herausforderungen bevor (*World Health Organization, 2021a*). Einer der Gründe für diese Schwierigkeiten sind unter anderem fehlende sensitive diagnostische Mittel (*Amoah et al., 2020*). Durch den breiten Einsatz von Medikamenten in betroffenen Gebieten kommt es zu einer Reduktion der Intensität der Infektionen, also zu einer geringeren Parasitenlast und Ei-Ausscheidung pro Patient (*Ahmed et al., 2012*). Dadurch, dass Praziquantel nur gegen adulte Parasiten effizient wirkt, können die zum Zeitpunkt der Therapie unreifen Parasiten nicht effizient bekämpft werden und verbleiben im Körper (*Kabuyaya et al., 2018*). Diese Infektionen gehen zwar mit einer reduzierten Morbidität einher, doch bleibt der Lebenszyklus des Parasiten bestehen und trägt weiter zur Transmission bei (*World Health Organization, 1993*). Eine Infektion niedriger Intensität ist jedoch deutlich schwerer zu diagnostizieren, denn der aktuelle Goldstandard der Diagnostik - die Mikroskopie von Urin oder Stuhl - ist von der Menge der ausgeschiedenen Parasiten-Eier abhängig. Nur mit sehr sensitiven diagnostischen Mitteln kann eine nach initialer Behandlung weiter fortbestehende Parasitenlast oder eine Reinfektion im frühen Stadium diagnostiziert werden (*Mwinzi et al., 2015*).

Aus diesem Grund ist die Entwicklung und Etablierung sensitiver und einfach anzuwendender diagnostischer Mittel zentraler Bestandteil auf dem Weg zur Eliminierung der Schistosomiasis (*Amoah et al., 2020; Gray et al., 2011*). Der von *Rapid Medical Diagnostics (Pretoria, Südafrika)* kommerziell angebotene Point-of-Care Test (POC) zum Nachweis des schistosomalen Antigens *circulating cathodic antigen (CCA)*, kurz POC-CCA Test, könnte einen Beitrag zur Lösung des diagnostischen Problems leisten. Der Schnelltest basiert auf dem Nachweis von adulten Würmern ausgeschiedenem CCA das im Urin nachgewiesen werden kann (*van Dam et al., 2004*). Ein großer Vorteil dieser Antigen-Nachweistests gegenüber den etablierten Methoden ist, dass auch Infektionen ohne Ei-Ausscheidung erkannt und anschließend behandelt werden können (*Mwinzi et al., 2015*). Für die Anwendung bei *S. mansoni* wurde bereits

eine hohe Sensitivität in einem Systematic Review bestätigt (Ochodo et al., 2015).

Bei der Spezies mit der höheren Prävalenz, *S. haematobium*, kommen Studien jedoch zu unterschiedlichen Ergebnissen, und meistens erreicht die bisherige Version des Tests keine zufriedenstellende Sensitivität (Ashton et al., 2011; Ochodo EA et al., 2015). Neben diesem Problem werden vermehrt Hinweise auf eine Kreuzreaktion des POC-CCA Tests bei schwangeren Frauen bekannt (Greter et al., 2016; Homsana et al., 2020; Marti et al., 2020). Aufgrund der gesundheitlichen Risiken, denen die Frauen durch eine Infektion während der Schwangerschaft ausgesetzt sind, ist es gerade in dieser Gruppe besonders wichtig, zuverlässige Diagnostika zur Verfügung zu stellen. Mit sensitiven und spezifischen diagnostischen Mitteln ist es möglich, schwangeren Frauen unnötige Verabreichung von Medikamenten zu ersparen und infizierten Frauen eine frühzeitige Behandlung zu ermöglichen.

Ziel der Arbeit war die Untersuchung des Zusammenhangs zwischen Kreuzreaktionen des POC-CCA Tests und der Schwangerschaft im Rahmen der *freeBILy* Studie in Gabun.

**Primäre Fragestellung:** Handelt es sich bei den im POC-CCA Test vermehrt bei Schwangeren auftretenden positiven Ergebnissen um falsch-positive Ergebnisse für *S. haematobium*? In welchem Zusammenhang stehen Schwangerschaft und weitere Einflussfaktoren mit den Ergebnissen?

Hierzu wurde eine longitudinale Untersuchung durchgeführt, bei der Urin und Stuhlproben von Frauen vor und nach der Geburt mit diagnostischen Tests hinsichtlich einer Schistosomeninfektion untersucht wurden.

**Sekundäre Fragestellung:** Zu welchem Zeitpunkt nach der Geburt treten bei Säuglingen in Lambaréné (Gabun) frühestens Infektionen mit *Schistosoma spec.* auf?

Als weiterer Schwerpunkt dieser Arbeit wurden die in der Studie geborenen Säuglinge untersucht. Die bisherigen WHO MDA-Programme fokussieren sich größtenteils auf wenige Risikogruppen wie Kinder im Schulalter und Erwachsene mit hohem Infektionsrisiko (Faust et al., 2020). Lange Zeit wurde davon ausgegangen, dass Kleinkinder nicht mit Schistosomen infiziert werden,

jedoch mehreren sich nun Hinweise, dass dem nicht so ist. Da Infektionen und Krankheitslast jedoch auch schon bei deutlich jüngeren Kindern starke Auswirkungen haben können (s. Kap. 1.1.7), ist es dringend nötig, diese diagnostische und therapeutische Lücke zu schließen. Daher ist es von großer Bedeutung, Infektionen im frühen Lebensalter besser zu verstehen und neue sensitive Diagnostika auch für diese Altersgruppe zu evaluieren. Dieser Frage wurde in der Nachverfolgung der geborenen Kinder nachgegangen.

Die von den Untersuchungsteilnehmerinnen geborenen Säuglinge wurden 6-10 Monate nach der Geburt aufgesucht und auf Infektionen mit *S. haematobium* untersucht, um den Zeitpunkt erster Infektionen in der untersuchten Subpopulation zu bestimmen.

## 2. Methoden

### 2.1. Studienbeschreibung

Die vorliegende prospektive Untersuchung „*POC-CCA in pregnancy*“ wurde am „Centre de Recherches Médicales de Lambaréné“ (CERMEL) in Gabun im Zeitraum von Oktober 2019 bis April 2020 durchgeführt. In Gabun ist vor allem *S. haematobium* verbreitet, *S. intercalatum* kommt höchst selten vor, und *S. mansoni* ist nicht endemisch. Die Untersuchung ist Teil der *freeBILy-GAB*-Studie "*Prospective, observational study to assess the performance of CAA measurement as a diagnostic tool for the detection of Schistosoma haematobium infections in pregnant women and their newborn and child in Lambaréné, Gabon*" (Honkpehedji et al., 2020).

*Fast and reliable easy-to-use-diagnostics for eliminating Bilharzia in young children and mothers* (Acronym: *freeBILy-GAB*) ist ein durch *European and Developing Countries Clinical Trials Partnership* (EDCTP, ein Förderprogramm der Europäischen Union) gefördertes Projekt mit dem Ziel, verbesserte Diagnostika und Behandlungen der Schistosomiasis bei Schwangeren in Afrika zu untersuchen und zu entwickeln (EU/EDCTP (RIA2016MC-1626), [www.freebily.org](http://www.freebily.org)) (Hoekstra et al., 2020). Das Projekt beinhaltet zwei unterschiedliche Studien, die parallel in Madagaskar und in Gabun durchgeführt werden (Fusco et al., 2021; Honkpehedji et al., 2020). Die hier beschriebenen Arbeiten sind eingebettet in die *freeBILy-GAB*-Studie, die am CERMEL in Gabun durchgeführt wird.

Das Ziel der vorliegenden Arbeit „*POC-CCA Schnelltest zur Schistosomiasis Diagnostik bei schwangeren Frauen in Gabun*“ war die Untersuchung, ob das Bestehen einer Schwangerschaft Kreuzreaktionen im POC-CCA verursacht und zu falsch positiven POC-CCA Ergebnissen führt. Für diese Unterstudie wurden nur Proben und Daten von Studienteilnehmerinnen der *freeBILy* Studie verwendet, die ein falsch positives POC-CCA Testergebnis bei Untersuchungsbeginn aufwiesen (negative Mikroskopie und/oder UCP-LF CAA Test und positiver POC-CCA Test).

Die Untersuchung besteht aus drei Teiluntersuchungen:

1 – Eine Longitudinale Beobachtung der POC-CCA Ergebnisse während der Schwangerschaft und nach der Geburt getrennt für jede Probandin. Dafür wurden Urinproben während der Schwangerschaft und sechs Monate nach der Geburt gesammelt.

2 – Eine Untersuchung möglicher Einflussfaktoren auf das POC-CCA Ergebnis. Urin, Stuhl und Blutproben der Frauen wurden auf Begleitinfektionen getestet. Außerdem wurden Untersuchungen zum Einfluss der Probenlagerung sowie der Probenbehandlung mit Trichloressigsäure (TCA) auf das POC-CCA Ergebnis durchgeführt.

3 - Die dritte Untersuchung ist der Frage nachgegangen, zu welchem Zeitpunkt frühestens Infektionen mit *S. haematobium* bei Kindern auftreten. Dafür wurden die im Laufe der Studie geborenen Kinder auf Infektionen mit *S. haematobium* untersucht. Die Urinproben für diese Untersuchung wurden ab einem Kindesalter von 6 Monaten erhoben und auf Infektionen untersucht.

## **2.2. Ein- und Ausschlusskriterien**

Als Basis zum Einschluss in die „*POC-CCA in Pregnancy*“ Untersuchung wurden die Einschlusskriterien der *freeBILy-GAB* Studie angewendet. Demnach wurden Frauen mit einem Schwangerschaftsalter zwischen der 16. und 30. Schwangerschaftswoche (basierend auf dem Datum der letzten Menstruation) eingeschlossen. Zusätzlich mussten die Frauen bereit sein, in einer der zwei Entbindungsstationen, im Hôpital Albert Schweizer oder im Hôpital George Rawiri, zu entbinden. Ausschlusskriterien waren medizinisch nachgewiesene Schwangerschaftskomplikationen oder ein geplanter Wegzug aus dem Studienareal innerhalb der nächsten 24 Monate.

Für die longitudinale Untersuchung der „*POC-CCA in Pregnancy*“ wurden Frauen ausgewählt, die bei Einschluss in die *freeBILy-GAB* Studie ein negatives Ergebnis in der Schistosomen-Mikroskopie und im UCP-LF CAA Test aufwiesen und ein positives Ergebnis im POC-CCA Test zeigten. Frauen

welche in der Zeit zwischen den beiden Untersuchungsterminen eine Behandlung mit Praziquantel (Biltricide®, Cesol®, Cysticide®) erhielten, wurden aus der Untersuchung ausgeschlossen. Säuglinge der Studienteilnehmerinnen, die ab einem Zeitpunkt von 6 Monaten nach Ihrer Geburt auffindbar waren, wurden in die Untersuchung eingeschlossen.

### **2.3. Patientenpopulation**

Alle Studienteilnehmerinnen der *freeBILy-GAB*-Studie wurden im oben genannten Zeitraum in den Einrichtungen der Schwangerschaftsvorsorge der Krankenhäuser Hôpital Albert Schweizer, Hôpital General und dem Hôpital George Rawiri rekrutiert. Als Leistung des gabunesischen Gesundheitssystems haben alle schwangeren Frauen in Gabun Anspruch auf kostenlose Vorsorgeuntersuchungen während ihrer Schwangerschaft. Aus diesem Grund ist die Teilnahme an den Untersuchungen für alle Bevölkerungsschichten gleichermaßen möglich und es entsteht keine Vorabselektion aufgrund finanzieller Hürden. Während dieser Termine wurden alle anwesenden Frauen vom Studienpersonal vor Ort über die Studie informiert und zur Teilnahme eingeladen.

### **2.4. Datenerhebung**

Für die „*POC-CCA in Pregnancy*“ Untersuchung wurde zu zwei Zeitpunkten Daten erhoben. Die erste Datenerhebung wurde bei Einschluss in die Studie durchgeführt (während der Schwangerschaft). Der zweite Zeitpunkt lag mindestens 6 Monate nach der Entbindung und wurde mit jeder Frau individuell abgestimmt. Zwischen diesen beiden Terminen wurden im Zuge der *freeBILy-GAB*-Studie die Frauen regelmäßig kontaktiert und Daten von ihnen erhoben - diese sind aber für die in dieser Untersuchung verfolgten Fragestellungen nicht relevant.

Am Tag der Aufnahme in die Studie wurde vor Ort in der Vorsorgeeinrichtung ein erster Datensatz erhoben. Um die Inklusionskriterien vorab zu klären und

die Einwilligungsfähigkeit zu prüfen, wurden initial die personenbezogenen Daten wie Alter, Geburtsdatum und Wohnort erfragt. In Zusammenarbeit mit den Hebammen vor Ort wurden dann das Datum der letzten Menstruation und die aktuelle Fundushöhe zur Bestimmung des ungefähren Alters der Schwangerschaft sowie der aktuelle Gesundheitsstatus erhoben. In Kombination mit einer kurzen Anamnese konnten so offensichtliche Schwangerschaftskomplikationen ausgeschlossen werden, insbesondere chronische Erkrankungen wie HIV, HBV und Sichelzellanämie sowie Komplikationen in vorausgegangen Schwangerschaften. Alle Daten wurden von geschultem Personal in standardisierte *Case-Report*-Dokumente eingetragen und durch eine der Studienteilnehmerin zugeordnete Identifikationsnummer (ID) identifiziert. Um ein mehrmaliges Einschließen der Teilnehmerin bei erneuter Vorstellung zu verhindern, wurde die personalisierte ID auch auf den Mutterpass übertragen, der üblicherweise bei jeder Routineuntersuchung mitgebracht wird. Anschließend wurde die Teilnehmerin gebeten, eine Urin- und eine Stuhlprobe in standardisierten Sammelbehältern abzugeben. War dies nicht möglich, wurde durch ein Fieldworker-Team ein Termin zur Probennahme am Folgetag vereinbart, um den Datensatz zu vervollständigen. Um eine erweiterte Diagnostik blutbasierter Parasiten zu ermöglichen, wurde vom Studienteam vor Ort eine Blutprobe der Studienteilnehmerin entnommen. Dafür wurden mittels *Sarstaedt Multifly*-Kanüle jeweils eine Serum- Monovette (Sarstedt 7.5ml) und ein EDTA-Monovette (Sarstedt 2.7ml) abgenommen. Alle Proben wurden anschließend in einer thermoisolierten Tragetasche zum Labor für Parasitologie und zum klinischen Labor des CERMEL Forschungszentrums in Lambaréné transportiert.

Der zweite Zeitpunkt der Datenerhebung lag 6 bis 10 Monate nach der Entbindung und wurde für jede der Teilnehmerinnen individuell vereinbart. Bei Erreichen des sechsten Monats nach der Geburt wurde jede der Studienteilnehmerinnen telefonisch kontaktiert und zu der weiteren Untersuchung am CERMEL eingeladen. Ebenfalls wurden die Frauen gebeten, ihre Säuglinge zu dem Termin mitzubringen (entsprechend der Einwilligung zur Studienteilnahme an Studienbeginn). Von den Müttern wurde an diesem Termin

erneut eine Urinprobe für eine parasitologische Untersuchung erhoben. Um von den Säuglingen ebenfalls Urin zu gewinnen, wurde den Müttern die Anwendung eines speziellen Urin-Sammelbehälters (Pädiatrischer Urinentnahmebeutel 100 ml P02020050, pfm medical ag, Köln) gezeigt und ein Abholtermin für den nächsten Tag festgelegt. Neben diesen für die hier beschriebene Untersuchung relevanten Daten wurden an diesem Termin weitere Parameter für die *freeBILy-GAB*-Studie erhoben. Alle Proben wurden nach der Erhebung in einem thermoisolierten Behälter zum Labor der Parasitologie gebracht und zeitnah analysiert.

## **2.5. Urinanalyse**

### **2.5.1. Urinfiltration**

Als Referenztest unter den urindiagnostischen Methoden wurde die Urinfiltration mit anschließender Analyse unter dem Mikroskop verwendet. Diese einfach zu implementierende Methode ist nach wie vor der von der WHO empfohlene Goldstandard der Diagnostik von *S. haematobium*-Infektionen. Die niedrigen technischen Anforderungen machen diese Art der Diagnostik besonders brauchbar für die Anwendung in ländlichen Gebieten mit geringen technischen Gegebenheiten. Neben einem Filterpapier und einem Mikroskop werden keine weiteren technischen Gerätschaften oder besondere Reagenzien benötigt. Die genutzten Methoden entsprechen den von der WHO veröffentlichten Standards (*World Health Organization, 1991*). Für die Filtration wurden 12 µm-Filterpapiere (Whatman Nucleopore) verwendet. Nach Durchmischen der Probe durch mehrmaliges Schütteln wurden 10 ml der Urinprobe mit einer 10 ml-Spritze vom Urinbehälter entnommen und durch das Filtersystem gepresst. Nach erfolgter Filtration wurde das Filterpapier per Pinzette auf einen vorher identifizierten Objektträger übertragen. Anschließend wurde der fertige Objektträger von zwei trainierten Laboranten unter dem Mikroskop (Leica DM 1000 LED) in zehnfacher Vergrößerung einer Erst- und Zweitlektüre unterzogen. Bei stark voneinander abweichenden Aussagen in der Erst- und

Zweitlektüre wurde ein dritter Lektor herangezogen. Alle Ergebnisse wurden direkt nach der Lektüre dokumentiert und wöchentlich digitalisiert.

### **2.5.2. POC-CCA Test**

Beim POC-CCA Test handelt es sich um eine neue, schnelle und leicht zu bedienende Alternative zur herkömmlichen Schistosomiasis-Diagnostik. Der von *Rapid Medical Diagnostics (Pretoria, Südafrika)* kommerziell angebotene Test basiert auf der Detektion eines von adulten Würmern ausgeschiedenen Polysacharids, dem *Circulating Cathodic Antigen (CCA)* (*van Dam et al., 2004*). Der Urin wird ohne Vorbehandlung auf einen in der Testkassette befindlichen Nitrocellulosestreifen aufgetropft. Das im Urin enthaltene CCA wird von monoklonalen anti-CCA-Antikörpern gebunden, die mit kolloidalem Kohlenstoff markiert sind und sich auf dem Nitrocellulosestreifen befinden. Der Antigen-Antikörper-Komplex läuft anschließend durch die Testkassette. Auf einer Testlinie fixiert befinden sich ebenfalls monoklonale Anti-CCA-Antikörper, die die markierten Antigen-Antikörper-Komplexe binden. Durch die Akkumulation der Kohlepartikel auf der Testlinie wird dann eine Linie sichtbar und in ihrer Intensität auswertbar. Als Kontrolle dienen monoklonale *Goat-Anti-Mouse*-Antikörper, die auf einer weiteren Linie fixiert sind. Alle ausgeführten Schritte wurden vor Beginn der Studie in einer *Standard Operating Procedure (SOP)* festgelegt. Zu Beginn der Testprozedur wurden alle Testkassetten mit der Studien-ID der Teilnehmerin und mit dem aktuellen Datum gekennzeichnet. Der zu analysierende Urin wurde dann mit einer vom Hersteller mitgelieferten Einmalpipette auf die Testkassette aufgetropft. Dafür sind zwei Tropfen von insgesamt 100 µl ausreichend. Nach Applikation des Urins wurden die Testkassetten, wie vom Hersteller vorgesehen, nach genau 20 Minuten von geschultem Laborpersonal ausgelesen. Um die Intensität standardisiert quantifizieren zu können, wurden für die Studie zwei Scoring-Systeme verwendet. Beide Systeme ermöglichen neben der Beantwortung der rein qualitativen Fragestellung, ob ein positives oder negatives Ergebnis vorliegt, anhand der Intensität der Testlinien auch eine quantitative Aussage über das Ausmaß der Infektion, die anhand der Intensität der Testlinie getroffen werden

kann. Beim Visual-Score handelt es sich um eine einfache visuelle Beurteilung im Vergleich mit vom Hersteller genormten Testflüssigkeiten. Die Ergebnisse werden anhand der Intensität der Testlinie mit „0“, „Trace“, „1“, „2“ oder „3“ bewertet. Dabei ist „0“ ein negatives Ergebnis. Positive Ergebnisse können mit 1 (niedrig-positiv), 2 (mittel-positiv) und 3 (hoch-positiv) in klar positive Ergebniskategorien aufsteigender Intensität unterteilt werden. Bei einem „Trace“-Ergebnis sind Spuren des Antigens nachgewiesen und gelten im Ergebnis als strittig. Je nach Definition können sie entweder als positiv oder als negativ gewertet werden. In dieser Studie werden „Trace“-Ergebnisse als negativ gewertet. Als zweites System wurde das 2019 entwickelte G-Score System verwendet (*Casacuberta-Partal et al., 2019*). Dabei handelt es sich um zehn Testkassetten mit vorgedruckten Testlinien unterschiedlicher Intensitäten, mit denen die Ergebnisse verglichen werden können. Diese teilen die fünf Ergebnismöglichkeiten des Visual-Score in feinere Stufen ein. Zehn Stufen werden durch den das G-Score System definiert. Bei G1 ist kein Antigen nachweisbar. G2-G3 entsprechen einem „Trace“-Ergebnis, da Spuren des Antigens nachweisbar sind. G4-G10 teilen positive Ergebnisse in Kategorien ansteigender Infektionsintensität ein. Über diese Methode lassen sich die Testergebnisse genauer nach ihrer Intensität einordnen. Alle Ergebnisse wurden direkt nach der Testung dokumentiert und wöchentlich digitalisiert. Alle Schritte wurden in einer *Standard Operating Procedure* (SOP) festgehalten und entsprechend dieser ausgeführt. Von allen Testkassetten wurden außerdem Digitalaufnahmen angefertigt. Die Testkits wurden in versiegeltem Zustand bei Raumtemperatur gelagert und regelmäßig den vom Hersteller gestellten Qualitätskontrollen unterzogen. Bei nicht auswertbaren oder unklaren Ergebnissen wurde die Testung wiederholt.

### **2.5.3. Dip-Stick Test**

Da der Verdacht besteht, dass Infektionen des unteren Urogenitaltraktes mit den Ergebnissen des POC-CCA Tests interagieren, wurde neben der spezifischen Schistosomiasis-Diagnostik auch jeweils ein Dip-Stick Test durchgeführt. Für die Studie wurde der *combur® 10-Test* von Roche verwendet.

Nach dem Eintauchen in das Urinsammelgefäß und einer Inkubationszeit von 60 bis 120 Sekunden wurden die Farbumschläge der einzelnen Testfelder anhand der auf die Verpackung gedruckten Farbskala ausgewertet. Die für eine Infektion relevanten Parameter (Erythrozyten, Leukozyten, Nitrit, Protein) wurden anschließend dokumentiert.

#### **2.5.4. UCP-LF CAA Test**

Der neu am Leiden University Medical Center (LUMC (Leiden, Niederlande)) entwickelte *Schistosomiasis Upconverting particle-lateral flow circulating anodic antigen* Test (UCP-LF CAA) basiert auf der Detektion des *Circulating Anodic Antigen* (Corstjens et al., 2020). Das von adulten Würmern ausgeschiedene Polysacharid kann sowohl im Serum als auch im Urin nachgewiesen werden und korreliert mit der Menge der aktuell im Patienten befindlichen lebenden adulten Würmern (van Lieshout et al., 2000). Das Testprinzip basiert auf der Detektion des Antigens mittels Up-Converting Phosphor Technology (UPT) markierter monoklonaler anti-CAA Antikörper. Dabei handelt es sich um wenige Nanometer große Keramikpartikel, welche durch ihren Gehalt an seltenen Erden (Lanthanide) Infrarotstrahlung absorbieren und es als sichtbares Licht wieder abgeben. *Up-Converting* steht außerdem für die Eigenschaft der Partikel, dass keine Verstärkung des Testsignals durch eine autofluoreszierende Probe entsteht (Niedbala et al., 2001). Der in einem Puffermedium gelöste markierte Antikörper wird mit dem Testurin vermischt auf einen Nitrocellulosestreifen gegeben. In einer Linie auf dem Nitrocellulosestreifen befestigt, befinden sich monoklonale anti-CAA-Antikörper, welche die Antigen-Antikörper-Komplexe binden und so auf der Testlinie immobilisieren. Eine weitere Linie aus *Goat anti-Mouse*-Antikörpern dient als Kontrolle. Das nun auf der Testlinie vorhandene Signal kann anschließend von einem speziellen Lesegerät (Upcon; Labrox Oy, Turku, Finland)) ausgelesen werden. Um Interaktionen der Antikörper mit in den Proben befindlicher DNA, RNA oder Proteinen zu reduzieren, wurde jede Probe (500µl) mit 100µl 12,0 %-Trichloressigsäure (TCA) gereinigt. Nach dem standardisierten Vermischen der Probe mit der Säure und fünfminütiger Inkubationszeit wurde der von Proteinen

gereinigte Überstand für den Test benutzt. Wie schon in mehreren Studien bestätigt, zeigt der Test eine hohe Sensitivität, die bis zur Urin-CAA-Konzentration eines einzelnen adulten Wurmes herabreicht (*Corstjens et al., 2020*). Als unterer Cut-Off-Wert für ein positives Ergebnis wurde  $\geq 2$  pg/ml CAA verwendet (*Honkpehedji et al., 2020*). Die vor Beginn der freeBILy Studie in einer SOP festgelegte Methode entspricht damit den etablierten Vorgehensweisen früherer Studien (*van Dam et al., 2013*). Da bedingt durch die geringe Probenanzahl pro Tag nicht jeden Tag ein UCP-LF CAA Test durchgeführt werden konnte, wurden alle Proben nach der Ankunft im Labor in 2 ml Eppendorf-Tubes im Gefrierschrank bei  $-20^{\circ}\text{C}$  konserviert und zum Test wieder aufgetaut.

## **2.6. Lagerung**

Zur Evaluation des Einflusses unterschiedlicher Probenlagerungsbedingungen auf das Analyseergebnis wurden die Proben nach den Vorgaben der Labor-SOP zunächst bei  $-20^{\circ}\text{C}$  konserviert. Die konservierten Proben wurde in identifizierten Eppendorf-Tubes nach dem vor Ort etablierten System gelagert. Die Temperatur des Tiefkühlgerätes wurde täglich überprüft und durch den Laboranten dokumentiert. Für kurzfristige Lagerungen wurde ein  $4^{\circ}\text{C}$ -Kühlgerät verwendet. Auch hier wurde die Temperatur täglich durch das Laborpersonal überprüft und dokumentiert.

## **2.7. TCA Treatment**

Ein Ziel dieser Studie war es, den Zusammenhang zwischen falsch positiven POC-CCA Ergebnissen und einer Schwangerschaft näher zu untersuchen. Um der Vermutung nachzugehen, dass ein in der Schwangerschaft vorhandenes Protein zu einer Kreuzreaktion mit dem POC-CCA Tests führt, wurde eine für den UCP-FL CAA Test in anderen Studien beschriebene Methode der Proteinfällung auf den POC-CCA übertragen und angepasst (*van Dam et al., 2013*). Als erster Schritt wurden die bei  $-20^{\circ}\text{C}$  gelagerten Proben aufgetaut und

mittels Vortexemischer gleichmäßig durchmischt. 160 µl der Proben wurden anschließen mit einer 200 µl Eppendorf Einkanal-Pipette in ein vorher identifiziertes 1,5 ml Eppendorf Tube pipettiert. Zur Proteinfällung wurde dann 32 µl 12,0 %-Trichloressigsäure (TCA) mittels 100 µl Eppendorf-Pipette hinzugefügt, was einem Verhältnis von 1:6 und einer Säurekonzentration von 2,0 % entspricht. Nach anschließendem Mischen wurden die Proben fünf Minuten bei Raumtemperatur inkubiert. Um die flüssigen und festen Bestandteile in der Probe nun voneinander zu trennen, wurden die Proben bei 13 000 Revolutions per minute (rpm) für zehn Minuten zentrifugiert (Mikro 220R, Hettich-Zentrifugen). Da es sich bei CCA um ein Polysacharid handelt, bleibt es nach dem Zentrifugieren im Überstand zurück (*Deelder et al., 1976*). 160 µl des Überstandes wurden dann in ein neues 1,5 ml-Eppendorf-Tube pipettiert. Um den nun sauren pH der Lösung wieder auf einen physiologischen pH zu puffern, wurden dem Überstand 18 µl TRIS-Puffer 200 mM (Trishydroxymethylaminomethan) hinzugefügt. Dieser verfügt über eine gute Pufferwirkung im physiologischen Bereich (pH 7.0). Nach der Zugabe des Puffers und erneutem Mischen mittels Vortexemischer wurde der POC-CCA Test nach Herstellerangaben ausgeführt. Vor Ausführung der ersten Tests mit Probenmaterial wurden die vom Hersteller mitgelieferten standardisierten Testsubstanzen zur Testevaluation mit der Methode behandelt. Damit sollte geprüft werden, ob die Behandlung mit der internen Kontrolle des Tests interagiert.

## **2.8. Stuhldiagnostik**

### **2.8.1. Kato Katz**

Um Infektionen mit intestinalen Parasiten zu diagnostizieren, wurden für jede Teilnehmerin zwei Kato-Katz-Präparate angefertigt und von zwei trainierten Mikroskopisten unter dem Mikroskop (Leica DM 1000 LED) gelesen. Die Kato-Katz-Präparate wurden nach den von der WHO empfohlenen Methoden angefertigt und in SOP-Dokumenten vor Beginn der Studie festgehalten (*Katz et al., 1972; World Health Organization, 1991*). Als erster Schritt wurde die

Stuhlprobe mit einem Spatel durchmischt. Eine geringe Menge wurde dann mittels Spatel durch ein Stahlsieb gepresst. Mit Hilfe einer Lochplatte (6mm) wurde dann ein Stuhlzylinder auf einem vorher identifizierten Objektträger geformt und mit einem in *glycerol malachit green*-Färbung getränkten Cellophanstück überdeckt. Durch gleichmäßiges Pressen mit einem sauberen Objektträger wurde die Probe dann flachgedrückt und anschließend unter dem Mikroskop gelesen.

### **2.8.2. Copro-Kultur**

Um auch Infektionen mit *Strongyloides stercoralis* sowie Hakenwurmlarven nachweisen zu können, wurde zusätzlich zu den beiden Kato Katz Präparaten zu jeder Probe eine Stuhlkultur angelegt. Die Methode wurde nach den SOP-Dokumenten des CERMEL ausgeführt (*Koga et al., 1991*). Nach initialem Durchmischen der Stuhlprobe wurde ein kleiner Anteil durch ein feinmaschiges Metallsieb gestrichen. Der gesiebte Stuhl wurde dann mittels Spatel auf einen in Zellstoff eingewickelten Objektträger transferiert und dieser in eine Petrischale gelegt. Um für eine genügend feuchte Umgebung zu sorgen, wurden 20 ml Wasser in die Petrischale eingefüllt. Nach sieben Tagen bei 25°C im Inkubator wurden 10 ml Flüssigkeit aus der Petrischale entnommen und durch einen Filter (Nuclepore Track-Etch Membrane, Whatmann) gepresst. Der Filter wurde dann auf einen identifizierten Objektträger übertragen und von zwei trainierten Mikroskopisten unter dem Mikroskop (10x Vergrößerung, Leica DM 1000 LED) gelesen.

## **2.9. Blutuntersuchung**

### **2.9.1. Saponin-Leuco-Konzentration**

Zum Nachweis blutbasierter Parasiten wie den Filarien Subspezies *Loa Loa* oder *Mansonella perstans* wurde die Saponin-Leuco-Konzentration aus venösem Vollblut angewendet. In einem 15 ml Falcon-Tube wurden jeweils 1 ml Blut mit 1 ml 2,0 % Saponin-Lösung und 1 ml destilliertem Wasser vermischt

und fünf Minuten lang bei Raumtemperatur inkubiert. Die Saponin-Lösung dient hier dazu, eine Hämolyse zu induzieren. Als nächster Schritt wurde die Probe zehn Minuten lang bei 1500 rpm zentrifugiert. Nach Entfernen des Überstandes konnte das Pellet auf einen Objektträger übertragen und mit einem Deckgläschen bedeckt werden. Anschließend wurde das Präparat von zwei trainierten Mikroskopisten unter dem Mikroskop gelesen (Leica DM 1000 LED).

## **2.10. Statistische Analyse**

Für die Dokumentation der Daten wurde eine Datenbank mittels Microsoft® Excel® (Version 2102) erstellt. Die Daten wurden hierfür nicht umcodiert oder umgerechnet. Für die statistischen Analysen wurde ebenfalls Microsoft® Excel® (Version 2102) genutzt.

## **2.11. Ethische Aspekte**

Bei der vorliegenden Arbeit handelt es sich um eine innerhalb der *freeBILy-GAB*-Studie durchgeführte Teiluntersuchung. Der gegebene Rahmen der *freeBILy-GAB*-Studie wurde nicht erweitert. Alle Studienteilnehmerinnen wurden bei Einschluss aufgeklärt und haben der Teilnahme an der Studie sowie ihres Kindes nach der Geburt schriftlich zugestimmt. Bei Minderjährigkeit (<18 Jahre) war das zusätzliche Einverständnis eines Elternteils erforderlich. Alle Anteile der Untersuchung wurden im Einklang mit der Deklaration von Helsinki (2004) und den Regeln der guten wissenschaftlichen Praxis, den „ICH-GCP Guidelines“ der europäischen Arzneimittelagentur (EMA) durchgeführt. Die Durchführung der *freeBILy-GAB*-Studie wurde vom Nationalen Ethikkomitee Gabuns (PROT N°039/2018/SG/CNE) sowie vom institutionellen Ethikkomitee des CERMEL (N° 017/ 2018) genehmigt. Zusätzlich hat auch das Ethikkomitee des Universitätsklinikums Tübingen seine Befürwortung ausgesprochen (597/2018BO1).

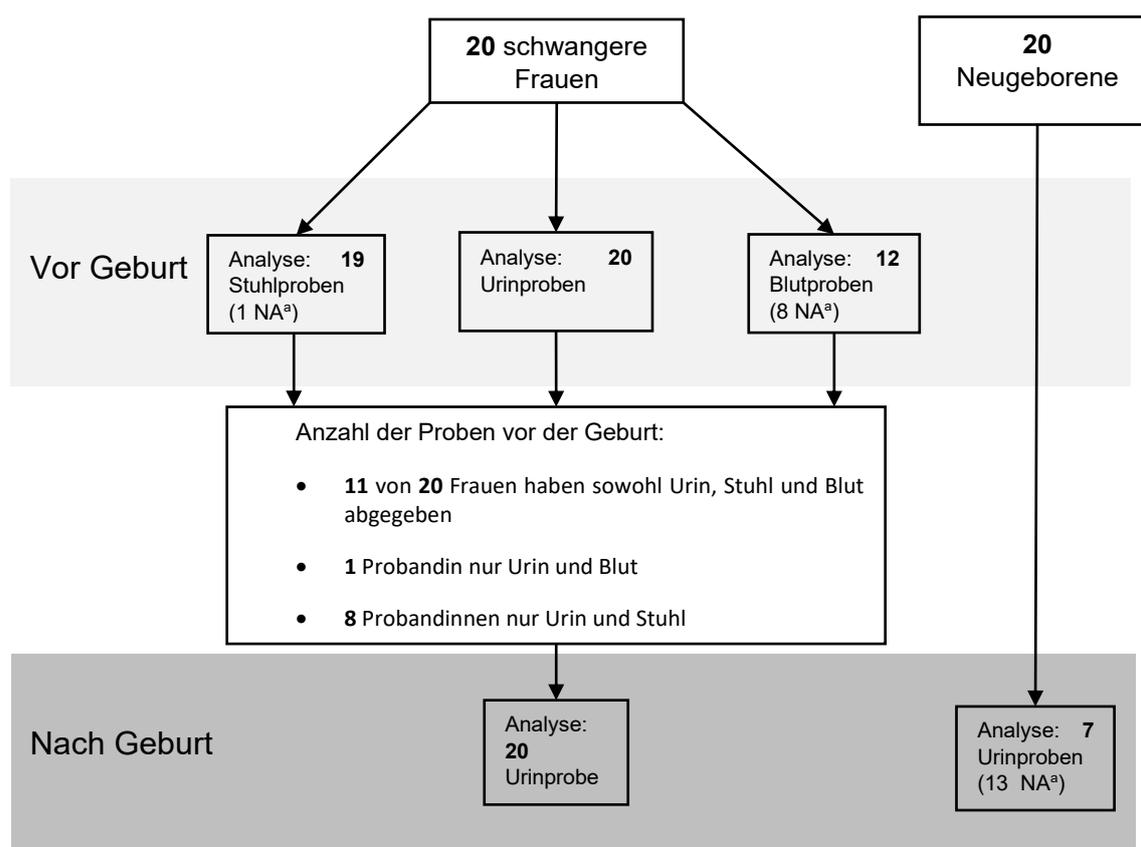
### 3. Ergebnisse

In der vorliegenden Arbeit wurden falsch positive Ergebnisse des POC-CCA Schnelltests für Schistosomeninfektionen bei schwangeren Frauen in Gabun untersucht. In diesem Zusammenhang wurde der Frage nachgegangen, ob die Schwangerschaft selbst beziehungsweise damit assoziierte Faktoren, fälschlicherweise positive Ergebnisse beim POC-CCA verursacht. Hierzu wurden drei Teiluntersuchungen durchgeführt. In der ersten longitudinalen Untersuchung wurden Schwangere eingeschlossen, die ein positives POC-CCA Ergebnis aufwiesen, aber in Referenztest (Mikroskopie und UCP-LF CAA) negativ getestet wurden. Urinproben wurden vor und nach der Geburt (dieselbe Frau) abgenommen und hinsichtlich einer Schistosomeninfektion untersucht. Der zweite Teil der Untersuchung beschäftigt sich mit möglichen Einflussfaktoren auf die POC-CCA Ergebnisse. Berücksichtigt wurde hier ein möglicher Einfluss der im Probenurin enthaltenen Proteine während der Schwangerschaft, der Einfluss bestehender Begleitinfektionen, sowie die Lagerung der Proben. Um mehr Daten hinsichtlich des Zeitpunktes einer Erstinfektion mit *Schistosoma spp.* bei Säuglingen zu gewinnen, wurde in einem dritten Anteil der Untersuchung die Säuglinge der Probandinnen auf Infektionen mit *S. haematobium* untersucht.

#### 3.1. Beschreibung der Studienpopulation

Insgesamt wurden Proben von 53 Probandinnen für die unterschiedlichen Teiluntersuchungen analysiert. Für den ersten Teil, der longitudinalen Untersuchung, kamen 20 schwangere Frauen der *freeBILy-GAB*-Studie für die „POC-CCA in Pregnancy“-Untersuchung infrage. Diese hatten im Untersuchungszeitraum an beiden Erhebungszeitpunkten Proben abgegeben, bei denen sich ein Hinweis auf falsch positive POC-CCA Ergebnisse ergab. Das Alter der Schwangeren lag zwischen 16 und 44 Jahren (Mittelwert= 26,2 Jahre; Standardabweichung (SD) 7,2 Jahre). Für alle Frauen wurde eine umfangreiche labordiagnostische Untersuchung von Urin-, Stuhl- und Blutproben

durchgeführt. Die Ergebnisse sind in Tabelle 1 dargestellt. Die erste Probenentnahme fand bei Aufnahme in die Untersuchung zwischen dem vierten und neunten Schwangerschaftsmonat (berechnet nach dem Datum der letzten Menstruation) statt. Die zweite Probenentnahme fand zwischen sechs und zehn Monate nach der Geburt statt. Hier wurde von Mutter und – soweit möglich – vom Säugling eine Urinprobe untersucht. Insgesamt konnten sieben Proben von Säuglingen im Alter zwischen sechs und neun Monaten gewonnen werden. Zur Untersuchung der möglichen Einflussfaktoren auf das POC-CCA Ergebnis in der zweiten Teiluntersuchung wurden zusätzlich zu den 20 Teilnehmerinnen der longitudinalen Untersuchung Proben von weiteren 33 Probandinnen der *freeBILy-GAB*-Studie untersucht. Ablauf und Anzahl der Probenentnahmen wird in Abbildung 2 dargestellt.



**Abbildung 2:** Ablauf der Probengewinnung:

<sup>a</sup> not applicable

**Tabelle 1:** Übersicht über die diagnostischen Ergebnisse der schwangeren Frauen <sup>a</sup>Umfasst Endolimax Nana, Entamoeba Coli/Histolytica/Dispar, Chilomastix mesnili, Iodamoeba buetschlii; <sup>b</sup>Upconverting phosphor lateral flow circulating cathodic antigen; <sup>c</sup>Point of Care circulating cathodic antigen

	<b>Vor der Geburt</b>	<b>Nach der Geburt</b>
	n (%)	n (%)
<b>Schistosomiasis Diagnostik (N = 20)</b>		
Mikroskopie positiv	0	0
UCP-LF CAA <sup>b</sup> positiv	0	2
POC-CCA <sup>c</sup> positiv	20 (100)	11 (55)
<b>Dip-Stick Ergebnisse</b>	<b>(N = 20)</b>	<b>(N=6)</b>
Erythrozyten positiv	5 (25,0)	2 (33,3)
Leukozyten positiv	13 (65,0)	3 (50)
Nitrit positiv	2 (10,0)	3 (50)
Protein positiv	9 (45,0)	1 (16,7)
<b>Stuhl Ergebnisse</b>	<b>(N = 19)</b>	
<i>Ascaris</i>	0	
<i>Trichuris Trichiura</i>	2 (10,5)	
<i>Necator Americanus / Ancylostoma Duodenale</i>	1 (5,3)	
<i>Strongyloides</i>	0	
Protozoen im Stuhl <sup>a</sup>	7 (36,8)	
Gesamt (intestinale Helminthen und Protozoen)	10 (52,6)	

Filarien	(N = 12)	
<i>Loa loa</i>	0	
<i>Mansonella perstans</i>	0	

### 3.2. Longitudinale Untersuchung der falsch positiven POC-CCA Resultate

#### 3.2.1. Urinergebnisse

##### 3.2.1.1. Mikroskopie

Durch die Untersuchung des Urins mittels Filtration konnte in allen 20 Proben, welche vor der Geburt erhoben wurden, eine Infektion mit *S. haematobium* ausgeschlossen werden. Nach der Geburt wurden ebenfalls alle Urinproben durch die Mikroskopie als negativ für Infektionen mit *S. haematobium* bestätigt.

##### 3.2.1.2. UCP-LF CAA Test

Der UCP-LF CAA Test detektiert ein Schistosomen-spezifisches Antigen, welches von adulten Würmern der Spezies kontinuierlich ausgeschieden wird. In den 20 Urinproben aus der Erhebung vor der Geburt konnten durch den Test Infektionen mit *S. haematobium* ausgeschlossen werden. Bei Wiederholung der Untersuchung mit Urinproben der gleichen Frauen nach der Geburt fanden sich zwei positive (10,0%) und 18 negative Testergebnisse (90,0%) unter den Probandinnen (N = 20).

##### 3.2.1.3. POC-CCA Test

Als drittes urinbasiertes diagnostisches Mittel wurde der POC-CCA eingesetzt. Dieser Test basiert auf einem Nachweis des CCA-Antigens im Urin infizierter Personen. Während der Schwangerschaft wurden 20 Frauen (100%) positiv im

POC-CCA Test (N = 20) getestet. Nach der Schwangerschaft hatten noch sieben Frauen (35,0%) ein positives Ergebnis im POC-CCA Test (N = 20).

#### **3.2.1.4. Dip-Stick Test**

Zusätzlich zur parasitologischen Diagnostik wurde bei jeder Urinprobe ein Dip-Stick Test durchgeführt. Die Mehrzahl der schwangeren Frauen wies ein auffälliges Dip-Stick Ergebnis auf: in 13 Fällen (65,0 %) wurden Leukozyten im Urin nachgewiesen – ein möglicher Hinweis auf einen Harnwegsinfekt (N = 20). Weitere Ergebnisse sind in Tab. 1 dargestellt.

#### **3.2.2. Stuhlergebnisse**

In der Stuhldiagnostik (Kato Katz) wurden wenige Infektionen mit Geohelminthen in der Studienpopulation festgestellt. Mittels Mikroskopie konnten insgesamt zwei Monoinfektionen mit *Trichuris trichiura* und eine Monoinfektion mit der Hakenwurmspezies *Necator americanus* identifiziert werden.

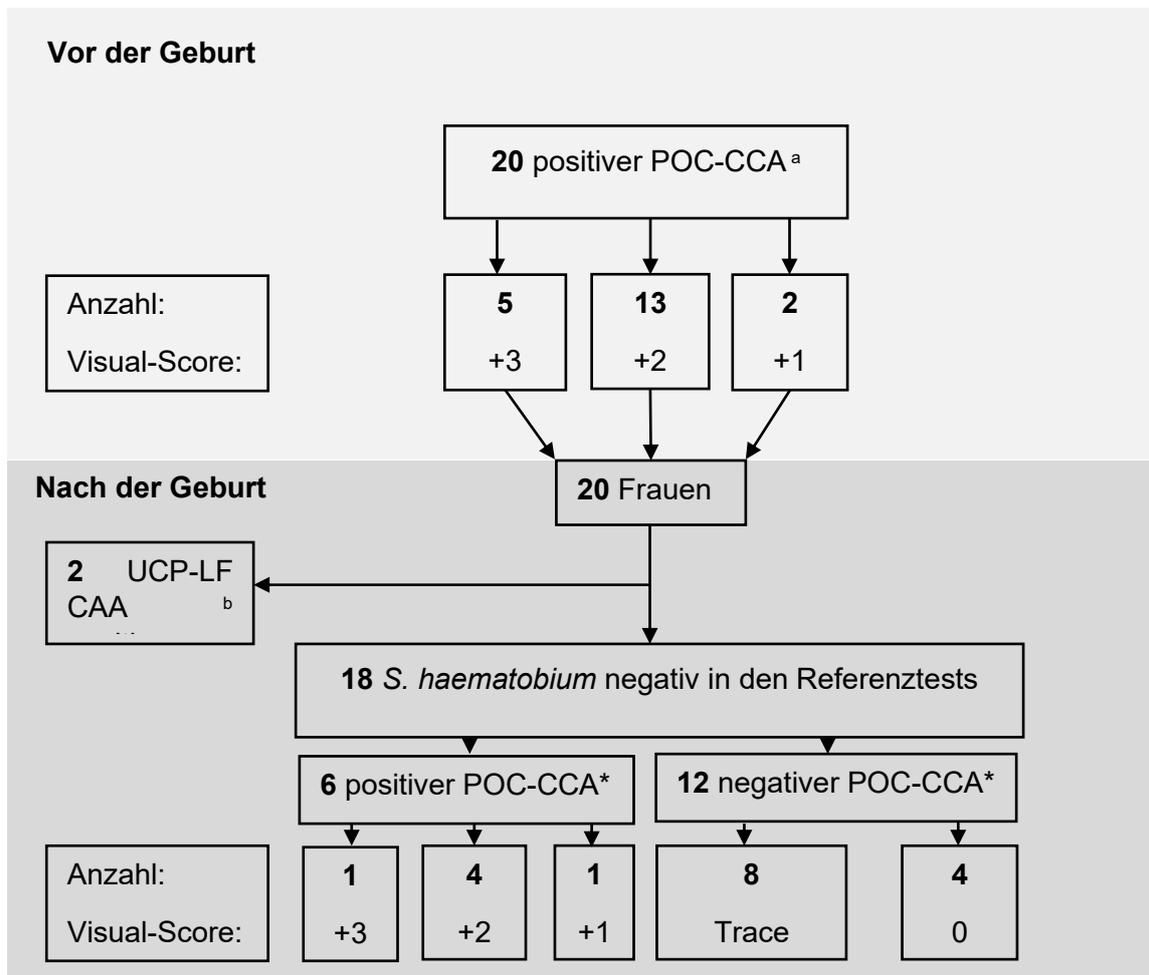
#### **3.2.3. Blutergebnisse**

Um weitere Begleitinfektionen zu erfassen, wurde eine Saponin-Leuko-Konzentration durchgeführt. Es konnten keine Infektionen unter den Teilnehmerinnen identifiziert werden (N = 12).

#### **3.2.4. Detaillierte Analyse der POC-CCA Ergebnisse**

Für die Teiluntersuchung „*POC-CCA in Pregnancy*“ wurden 20 schwangere Frauen rekrutiert. Für die Untersuchung, ob die Schwangerschaft bzw. assoziierte Faktoren (Proteine, u.ä.) zu falsch positiven POC-CCA Ergebnissen führt, wurden solche Frauen ausgewählt, die sowohl in der Mikroskopie als auch im sensitiven UCP-LF CAA negativ für *S. haematobium* waren, aber ein positives POC-CCA Ergebnis aufwiesen. Diese Frauen wurden nach der Geburt

ein weiteres Mal hinsichtlich einer *S. haematobium* Infektion per Mikroskopie, UCP-LF CAA Test und POC-CCA Test untersucht. Einen Überblick über den Verlauf der POC-CCA Ergebnisse gibt Abbildung 3.



**Abbildung 3:** POC-CCA Ergebnisse im Verlauf der beiden Probenentnahmen

<sup>a</sup> Point of Care circulating cathodic antigen; <sup>b</sup> Upconverting phosphor lateral flow circulating cathodic antigen

Der „Visual-Score“, der zur Quantifizierung des POC-CCA Ergebnisses dient, reichte von hoch-positiv (+3) bei fünf Frauen, über mäßig-positiv (+2) bei 13 Frauen, zu niedrig-positiv (+1) bei zwei Frauen: alle Frauen waren also in der Schwangerschaft eindeutig positiv nach den Bewertungskriterien des POC-CCA. Bei einer dieser 20 Frauen wurde durch einen Fehler beim Sampling die Urinprobe erst einen Tag nach der Entbindung erhoben. Außer einem

geburtsbedingtem nicht verwertbaren Erythrozytenbefund im Dip-Stick Test wies diese Probe jedoch ebenfalls einen (vermutlich) falsch-positiven POC-CCA Test auf. Da der Stoffwechsel sowie der Blaseninhalt der Frau direkt nach der Geburt vermutlich noch ähnlich dem vor der Geburt war, wurde die Probe in die Analyse mit einbezogen. Sechs bis zehn Monate nach der Geburt waren die 20 Frauen, welche vor der Geburt von den Referenztests als negativ bestätigt wurden, immer noch negativ für *S. haematobium* per Mikroskopie. Bei 18 von 20 Frauen wurde dies auch per UCP-LF CAA Test bestätigt. Es wurden also zwei Untersuchungsteilnehmerinnen nach der Geburt neu als mit *S. haematobium* infiziert gewertet (siehe Tab. 2).

**Tabelle 2:** Ergebnisse der diagnostischen Tests über den Untersuchungszeitraum im Vergleich

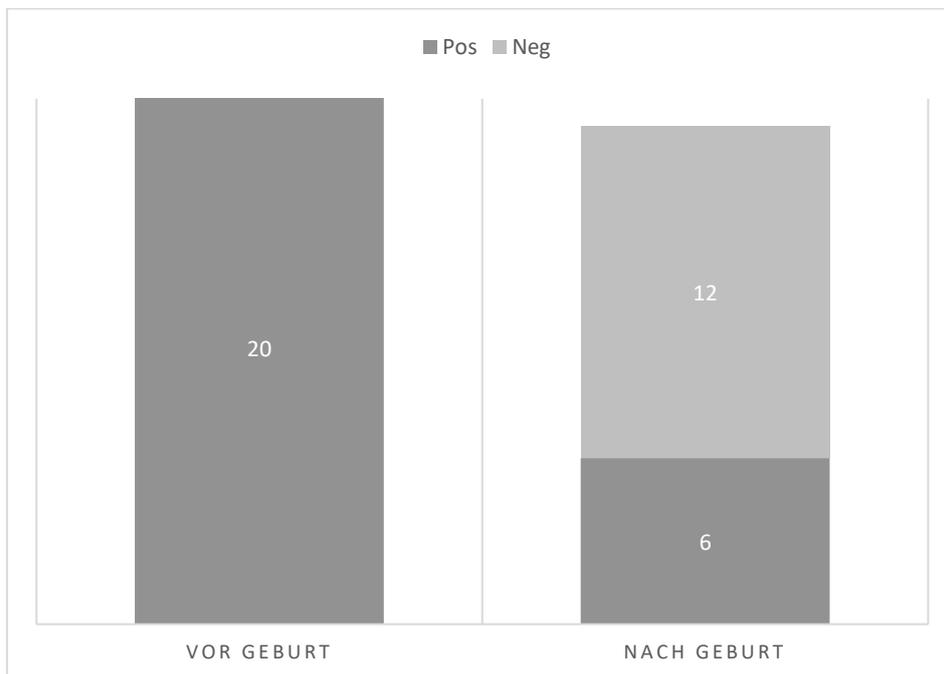
Der untere Teil der Grafik zeigt eine genaue Betrachtung der Ergebnisse der im Laufe der Studie neu mit *S. haematobium* infizierten Frauen.

<sup>a</sup> Point of Care circulating cathodic antigen; <sup>b</sup> Upconverting phosphor lateral flow circulating cathodic antigen; <sup>c</sup> Graded-Score; <sup>d</sup> Visual-Score

Testergebnisse	Vor der Geburt N=20		Nach der Geburt N=20	
	Positiv	Negativ	Positiv	Negativ
POC-CCA <sup>a</sup>	20	0	7	13
Mikroskopie	0	20	0	20
UCP-LF CAA <sup>b</sup>	0	20	2	18

	Teilnehmerin 1	Teilnehmerin 2
UCP-LF CAA <sup>b</sup>	2.6 pg/ml	4.7 pg/ml
Mikroskopie	Negativ	Positiv
POC-CCA <sup>a</sup>	G-Score <sup>c</sup> : 7 V-Score <sup>d</sup> : 2+	Negativ

Von diesen 18 Frauen wiederum hatten sechs ein positives POC-CCA Ergebnis und zwölf ein negatives POC-CCA Ergebnis. Zusammenfassend bedeutet dies, dass 33,3% aller Frauen auch nach der Geburt ein vermutlich „falsch-positives“ POC-CCA Ergebnis aufwiesen und 66,6% mittels POC-CCA korrekt als negativ diagnostiziert wurden (siehe Abb. 4).



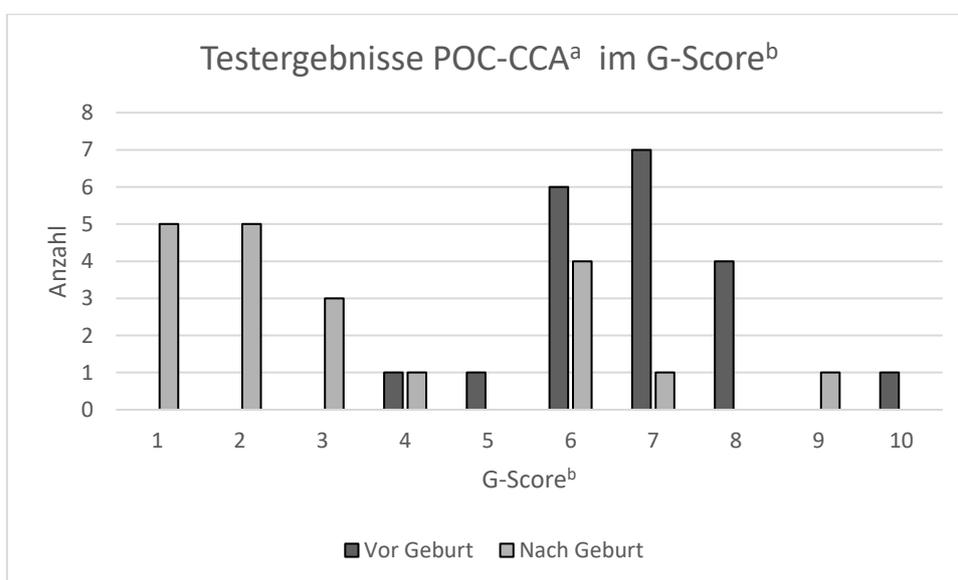
**Abbildung. 4:** Anzahl der vermutlich falsch-positiven POC-Ergebnisse <sup>a</sup> (im Vergleich zu Mikroskopie plus UCP-LF CAA Assay) vor und nach der Geburt

<sup>a</sup> Point of Care circulating cathodic antigen

### 3.2.5. Intensität der POC-CCA Testergebnisse

Vor der Geburt war nicht nur der Anteil der falsch-positiven Testergebnisse höher als nach der Geburt, sondern auch der Anteil der hoch-positiven Ergebnisse: 18 von 20 Ergebnissen zeigten vor der Geburt einen V-Score von 2+ oder 3+ bzw. 18 von 20 einen G-Score von mindestens sechs. Der G-Score ist eine auf Vergleichstestkassetten basierende Methode zur visuellen

Unterteilung der Intensitäten der POC-CCA Ergebnisse und reicht von 1 (schwach positiv) bis 10 (stark positiv) (siehe 2.5.2). Nach der Geburt verschoben sich die Ergebnisse des POC-CCA stark in den negativen Bereich. 13 Ergebnisse (N = 20) hatten nun einen G-Score von 3 oder niedriger und wurden daher als negativ gewertet (siehe Abb. 5). Mehr als zwei Drittel der Ergebnisse des POC-CCA nach der Schwangerschaft waren also negativ. Unter den sechs auch nach der Entbindung weiterhin vermutlich falsch positiven Testergebnissen konnte keine Abnahme der Intensität der Testlinien im G-Score ausgemacht werden. Vor und nach der Geburt lag die durchschnittliche Intensität im G-Score in dieser Gruppe bei sechs. Dies lag aber ausschließlich an einem einzelnen Messwert. Nur bei einer von sechs Frauen stieg der G-Score von sechs vor der Entbindung auf neun nach der Entbindung. Klammert man dieses Ergebnis aus, so kommt es auch unter den weiterhin „falsch-positiv“ getesteten Frauen zu einer Reduktion des G-Scores auf einen Mittelwert von fünf, also einer leichten Reduktion der Intensitäten im Mittel.



**Abbildung 5:** Ergebnisintensitäten des POC-CCA Tests im G-Score<sup>b</sup> vor und nach der Geburt

<sup>a</sup> Point of Care circulating cathodic antigen; <sup>b</sup> Graded-Score

### **3.3. Parasitäre Begleitinfektionen und weitere Infektionsparameter**

Im Rahmen der Teilstudie „*POC-CCA in Pregnancy*“ sollten mögliche Einflussfaktoren auf das POC-CCA Testergebnis untersucht werden. Hierzu wurden Einflussfaktoren auf das POC-CCA Ergebnis untersucht, die mit dem Probenmaterial, also dem Urin, in Zusammenhang stehen könnten. Die Urinproben während der Schwangerschaft wurden dazu mit Urinproben nach der Entbindung verglichen. Da auch Ko-Infektionen mit anderen Parasiten das Potential für eine mögliche Kreuzreaktion bieten, wurden die Probandinnen neben der Urindiagnostik noch auf intestinale und hämatogene Parasiteninfektionen untersucht.

#### **3.3.1. Begleitinfektionen**

Ko-Infektionen mit mehreren Parasiten gleichzeitig sind in der untersuchten Region sehr häufig. Dies liegt hauptsächlich an der Tatsache, dass unter den meist schlechten hygienischen Bedingungen parasitäre Infektionen endemisch in der Bevölkerung vorliegen. Um diese Infektionen nachzuweisen, wurden bei Inklusion in die Studie neben dem Urin auch Stuhl und Blut auf parasitäre Infektionen untersucht (s. Tab. 1). Unter den untersuchten Frauen wurden drei intestinale Infektionen mit Helminthen gefunden, was 15,0 % der teilnehmenden Frauen entsprach. Bezieht man auch Protozoen in die Analyse mit ein, so waren 50,0% und damit die Hälfte der Frauen mit intestinalen Parasiten infiziert. (siehe Tab. 1).

#### **3.3.2. Dip-Stick Ergebnisse**

Zusätzlich zur Schistosomiasis-Diagnostik wurden die Urinproben mit einem Dip-Stick Test auf den Gehalt von Erythrozyten, Leukozyten, Nitrat und Protein getestet. Vor der Geburt wurde für alle 20 Proben ein Dip-Stick Test durchgeführt. Nach der Geburt wurden sechs Urinproben getestet (siehe Tabelle 1 bzgl. der Anzahl der positiven Befunde). Die Mehrzahl (65 %) wiesen zum Zeitpunkt der Schwangerschaft Leukozyten im Urin auf, mit hoher

Wahrscheinlichkeit einen Hinweis auf einen bakteriellen Harnwegsinfekt (siehe Tab. 3). Ebenfalls interessant ist hier der Vergleich zwischen Leukozytenbefunden im Urin und den G-Score Ergebnissen des POC-CCA Tests. Vor der Entbindung lag der durchschnittliche G-Score bei Schwangeren bei 6,5, ungeachtet, ob Leukozyten im Urin zu finden waren. Nach der Geburt lag der mittlere G-Score bei den Frauen mit Leukozyten im Urin bei 1,3 und damit unter dem der Frauen ohne Leukozyten im Urin. Die Frauen ohne Leukozyten im Urin zeigten nach der Geburt durchschnittlich einen G-Score von 3 im POC-CCA Test.

**Tabelle 3:** Anteil positiver Dip-Stick Befunde bei Mikroskopie und UCP-LF CAA negativen Frauen

<sup>a</sup>Harnwegsinfekt

<b>Parameter</b>	<b>Bedeutung</b>	<b>Positive Dip-Stick Befunde vor der Geburt</b> (N = 20) n (%)	<b>Positive Dip-Stick Befunde nach der Geburt</b> (N = 5) n (%)
Erythrozyten	Blutung, Infekt oder entzündliche Erkrankung	5 (25,0)	2 (40,0)
Leukozyten	HWI <sup>a</sup> oder urogenitale Entzündung	13 (65,0)	3 (60,0)
Nitrit	Nitrit-bildende Bakterien	2 (10,0)	1 (20,0)
Protein	Hoch: HWI <sup>a</sup> , Nierenschäden  Niedrig: Stress, körperliche Belastung	9 (45,0)	2 (40,0)

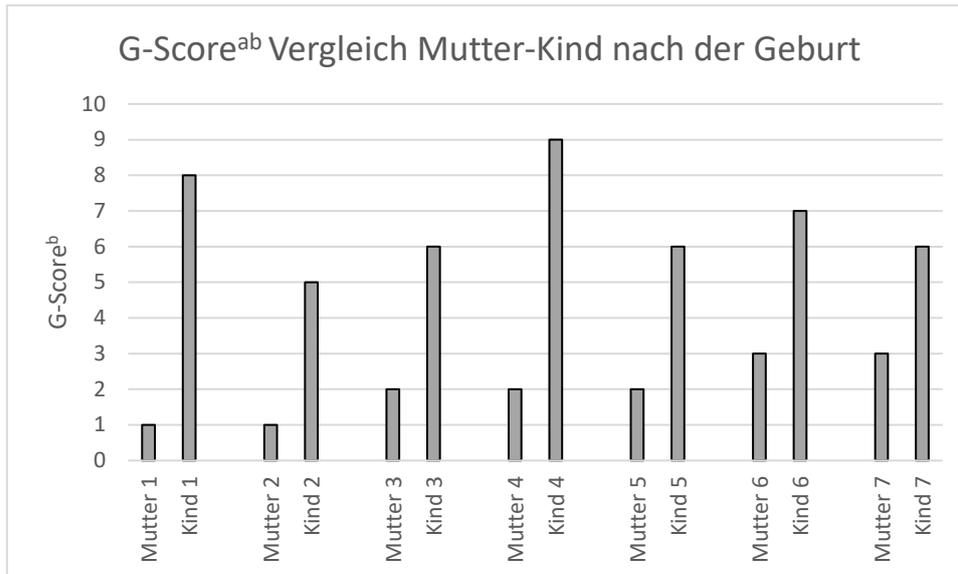
### 3.4. Betrachtung der Neugeborenen

Im Laufe der Teiluntersuchung konnten sieben der von den Teilnehmerinnen geborenen Säuglinge untersucht werden. Die niedrige Anzahl war bedingt durch Probleme bei der Probengewinnung. Durch logistische Schwierigkeiten waren zu Beginn der Studie keine pädiatrischen Urinsammelbeutel vor Ort erhältlich. Auch die Probengewinnung mithilfe von selbstklebenden Urinsammelbeuteln war durch die hohe Luftfeuchtigkeit nur selten problemlos möglich. Bedingt durch Schweiß und Bewegung lösten sich die Beutel oftmals ab. Ein weiterer Grund für die geringe Anzahl an Proben von Säuglingen war die geringe Bereitschaft der Mütter, erneut zum Studienstandort zu kommen. Auch das Follow-up gestaltete sich als schwierig, da sich die Telefonnummern und Adressen der lokalen Bevölkerung häufig ändern. Alle sieben Mütter der Säuglinge, die an der Nachuntersuchung teilnahmen, waren nach der Geburt nicht mit *S. haematobium* infiziert (negativ in Mikroskopie, UCP-LF CAA Test und dem POC-CCA Test). Die Kinder dagegen wurden zwar alle ebenfalls mit dem Referenztest (UCP-LF CAA) negativ getestet, wiesen jedoch alle ein positives Ergebnis im POC-CCA Test auf. Alle Daten diesbezüglich sind in Tabelle 4 und Abbildung 6 zu sehen. Bei den Säuglingen wurde auf die Mikroskopie als weiteren Referenztest verzichtet. Da es technisch schwierig ist, eine ausreichende Menge Urin von Säuglingen zu gewinnen, um ein aussagekräftiges Präparat für die Mikroskopie anzufertigen (10 ml), wurde auf den UCP-LF CAA Test als Referenztest zurückgegriffen. Dieser benötigt eine deutlich geringere Urinmenge (417  $\mu$ l), um ein aussagekräftiges Ergebnis zu erbringen. Vergleicht man nun die POC-CCA Ergebnisse der Säuglinge mit den Ergebnissen der Mütter, so besteht auch hier eine klare Differenz. Durch die „Trace“-Ergebnisse (5 der 7 Mütter) ist zwar ersichtlich, dass auch die Mütter Kontakt mit dem Erreger hatten, doch steht dies in klarem Kontrast zu den meist doppelt so hohen G-Scores der Säuglinge (detailliert dargestellt in Abbildung 6).

**Tabelle 4:** Beschreibung der untersuchten Kinder

<sup>a</sup> Für die Pregnancy POC-CCA Studie wurden 7 Kinder der 28 untersuchten Frauen eingeschlossen; <sup>b</sup> Daten nicht für alle Kinder vorhanden; <sup>c</sup> Upconverting phosphor lateral flow circulating cathodic antigen; <sup>d</sup> Point of Care circulating cathodic antigen

Allgemeine Daten	
Anzahl der untersuchten Kinder <sup>a</sup>	7
Mädchen/Jungen	2/5
Alter der Kinder, als Urin gesammelt wurde (Mittelwert in Monaten)	7
Gestillt	4/6 <sup>b</sup>
<i>S. haematobium</i> -Diagnostik (N = 7)	
Mikroskopie positiv	Nicht durchgeführt
UCP-LF CAA <sup>c</sup> positiv	0
POC-CCA <sup>d</sup> positiv	7



<sup>a</sup> Ein G-Score von 0-3 ist ein negatives POC-CCA Resultat; <sup>b</sup> Graded-Score

**Abbildung 6:** POC-CCA Resultate Mutter und Säugling im Zeitraum von 10 Monaten nach der Geburt

### 3.5. Experimentelle Faktoren

Ergänzend zu Faktoren, die direkt mit der Schwangerschaft in Zusammenhang stehen und ggf. zu einer Kreuzreaktion mit dem POC-CCA führen, wurden auch Faktoren untersucht, die mit der Durchführung des Testes verknüpft sind. Hierzu wurden 38 Urinproben mit einem positiven POC-CCA Resultat untersucht. Es wurden sowohl Proben von in den Referenztests positiv auf *S. haematobium* getesteten Frauen sowie negative Proben einbezogen. Diese stammten ebenfalls aus dem Patientenkollektiv der *freeBILy-GAB*-Studie und wurden nach deren Auswahlkriterien rekrutiert.

#### 3.5.1. Lagerung

Um den Einfluss unterschiedlicher Lagerungskonditionen auf die Proben zu überprüfen, wurden zehn Urinproben nach initialer Testung in jeweils zwei Anteile aufgeteilt und über sieben Tage unterschiedlichen Bedingungen ausgesetzt. Ein Anteil wurde bei 4°C im Kühlschrank, der andere bei -20°C im

Tiefkühlgerät gelagert. Dabei handelt es sich um die Bedingungen, denen die Proben im normalen Laborbetrieb ausgesetzt sind. Für die Untersuchung wurden fünf Proben mit positivem und fünf mit negativem POC-CCA Test einbezogen. Nach sieben Tagen wurde dann der POC-CCA Test wiederholt. Von den zehn Proben, die bei 4°C gelagert wurden, zeigten sechs bei wiederholter Messung ein positives und vier ein negatives Resultat – ein Testergebnis wurde also durch ein abweichendes Ergebnis nach der Lagerung als positiv deklariert. Nach Lagerung bei -20°C wurden keine veränderten Testergebnisse festgestellt.

Hinsichtlich der Intensität der Testergebnisse werden jedoch Unterschiede sichtbar. Unter den bei 4°C gelagerten Proben wurden die stärksten Abweichungen von den Ausgangsergebnissen gefunden. Bei nur vier Proben kam der POC-CCA Test auf den gleichen G-Score wie die initiale Messung. Die maximale Abweichung lag hier bei drei G-Score Stufen bei einer Probe. Da der Wert in dieser Messung von G1 auf G4 stieg, änderte sich hier die grundsätzliche Bewertung des Ergebnisses von initial negativ auf nun positiv. Bei vier weiteren Proben war der Wert um zwei, bei einer um eine Stufe im G-Score abweichend. Die Messwerte verändern sich sowohl in negativer als auch in positiver Richtung, verglichen mit dem Ausgangsergebnis. Nach Lagerung bei -20°C war der G-Score bei drei Proben abweichend. Die maximale Veränderung lag hier bei zwei G-Score Stufen. Dabei handelte es sich um die Reduktion des G-Scores einer Probe von neun auf sieben. Bei den beiden weiteren Proben variierte der G-Score nur um eine Stufe. In dieser Messsequenz hatte also eine Aufbewahrung bei -20°C eine höhere Übereinstimmung mit den Ergebnissen des unbehandelten Urins erzielt.

### **3.5.2. Abtrennung verunreinigender Proteine**

Sowohl der POC-CCA Test als auch der UCP-LF CAA Test detektieren über spezifische monoklonale Antikörper nicht ein Protein, sondern einen Zucker: CCA oder CAA. Proteine im Urin können jedoch einen Störfaktor für das Testergebnis darstellen. Beim hoch sensitiven UCP-LF CAA Test werden die

Urinproben daher zunächst mit TCA (Trichloressigsäure) vorbehandelt, um Proteine durch Fällung abzutrennen und somit die Sensitivität und Spezifität des Tests zu erhöhen. Beim POC-CCA ist dies nicht vom Hersteller vorgesehen. Um die Möglichkeit auszuschließen, dass der POC-CCA Test in der Schwangerschaft durch kreuzreaktive Proteine beeinflusst wird, wurde die TCA-Fällung experimentell beim POC-CCA angewendet.

#### **3.5.2.1. Evaluation der Methode**

Zur Überprüfung, ob die Methode der Fällung verunreinigender Proteine die Ergebnisse des POC-CCA verändert, wurden die vom Hersteller gelieferten genormten Probesubstanzen zur Testevaluation der TCA-Behandlung unterzogen und parallel zur unbehandelten Substanz getestet. Alle POC-CCA Kassetten, welche mit der behandelten Probesubstanz ausgeführt wurden, zeigten eine gut sichtbare Kontrolllinie. Die interne Kontrolle des Tests wurde also durch den weiteren Bearbeitungsschritt nicht beeinflusst. Zwei von vier der mit der behandelten Probesubstanz ausgeführten POC-CCA Tests zeigten leichte Abschwächung der Farbintensität der Testlinien. Die Farbintensität zeigte sich zum Kassettenrand hin weniger intensiv. Außerdem war bei einzelnen Kassetten die Testlinie nicht komplett durchgängig und an einer Stelle etwas ausgewaschen (siehe Abb. 7). Die Testlinien waren aber dennoch gut lesbar. Da es in diesem Versuch nur wichtig war, zwischen positiven und negativen Ergebnissen zu differenzieren, wurden diese leichten Abweichungen toleriert.



Quelle: Eigene Aufnahme

**Abbildung 7:** POC-CCA<sup>a</sup> Kontrollsubstanz mit TCA<sup>b</sup> behandelt (oben) und ohne Behandlung (unten)

<sup>a</sup> Point of Care circulating cathodic antigen; <sup>b</sup> Trichloressigsäure

### 3.5.2.2. Ergebnisse TCA-Behandlung

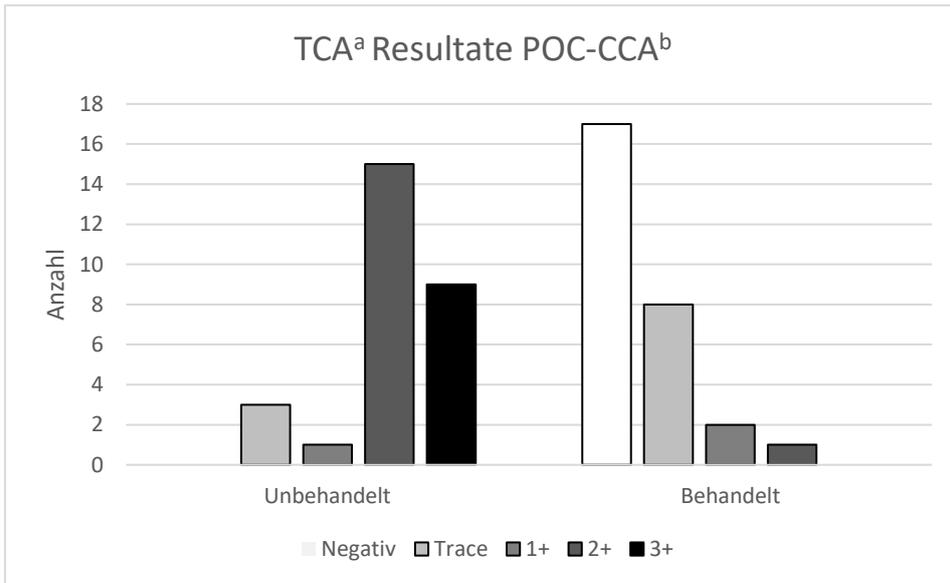
Nach der Evaluation wurden insgesamt 28 Urinproben mit TCA vorbehandelt – 25 POC-CCA positive und 3 POC-CCA negative Proben. Mittels Mikroskopie wurden neun von 28 Proben als *S. haematobium*-positiv identifiziert, vier weitere wurden anschließend mittels UCP-LF CAA zusätzlich als positiv erkannt. Die genauen Ergebnisse sind in Tabelle 5 dargestellt.

**Tabelle 5:** POC-CCA Ergebnisse vor und nach Behandlung mit TCA<sup>b</sup>

<sup>a</sup> Point of Care circulating cathodic antigen; <sup>b</sup> Trichloressigsäure; <sup>c</sup> Konfidenzintervall

POC-CCA <sup>a</sup> (N = 28)	Vor TCA <sup>b</sup> - Behandlung n (%)	Nach TCA - Behandlung n (%)	Trace als positiv gewertet n (%)	Referenztests (Mikroskopie und/oder UCP-LF CAA) n (%)
Richtig-positiv	13 (46,4)	1 (3,5)	6 (21,4)	13 (46,4)
Falsch-positiv	12 (42,9)	2 (7,1)	5 (17,9)	
Richtig-negativ	3 (10,7)	13 (46,4)	10 (35,7)	15 (53,6)
Falsch-negativ	0	12 (42,9)	7 (25,0)	
Richtigdeklariert	16 (57,1)	14 (50,0)	16/28 (57,1)	
Sensitivität	100,0 %	7,7%	46,2 % (95%KI <sup>c</sup> 86.1%-24.3%)	
Spezifität	20,0 %	86,7 %	66,7 % (95%KI <sup>c</sup> 45.2%-86.8%)	

Durch die Behandlung der Proben kam es, wie in Abbildung 8 visualisiert, zu einer Verschiebung der Ergebnisse hin zu negativen Ergebnissen. Es wurden mehr negative Probanden auch tatsächlich als negativ erkannt. Die gesteigerte Spezifität ging aber mit einer starken Reduktion der als richtig-positiv erkannten Frauen einher (1/13). Die Behandlung reduzierte also die Sensitivität des Tests stark. Betrachtet man nun nach der Behandlung „Trace“-Ergebnisse versuchsweise als ein positives Resultat, da Spuren des Antigens nachgewiesen wurden, so kam es zu einem geringeren Verlust an Sensitivität (46 %) und Spezifität (67 %).



**Abbildung 8:** Gegenüberstellung von POC-CCA Ergebnissen von mit TCA behandelten und unbehandelten Urinproben

<sup>a</sup> Trichloressigsäure; <sup>b</sup> Point of Care circulating cathodic antigen

## 4. Diskussion

### 4.1. POC-CCA Kreuzreaktivität in der Schwangerschaft

Im Rahmen der *freeBILy-GAB*-Studie wurde die longitudinale Untersuchung „*POC-CCA in Pregnancy*“ durchgeführt. Hierbei wurde untersucht, ob es sich bei den vermehrt auftretenden positiven POC-CCA Testergebnissen bei Schwangeren für Infektionen mit *Schistosoma haematobium* um „falsch-positive“ Ergebnisse handelt. Um diesen Zusammenhang näher zu untersuchen, wurden für die „*POC-CCA in Pregnancy*“ Untersuchung 20 Frauen mit positivem Ergebnis im POC-CCA Test von *Rapid Medical Diagnostics (Pretoria, Südafrika)* rekrutiert. Bei allen Frauen konnte mit den für die Studie verwendeten Referenztests (Mikroskopie und UCP-LF CAA Test) eine Schistosomen-Infektion ausgeschlossen werden.

#### 4.1.1. Aktuelle Studienlage

Es gibt bis heute nur drei Studien, welche sich mit dem Thema einer möglichen Kreuzreaktion unter schwangeren Frauen beim POC-CCA Test befassen. Die Frage nach einer möglichen Kreuzreaktion des POC-CCA Tests bei Schwangeren wurde erstmals von Greter et al. aufgeworfen: Angestoßen durch drei schwangere Frauen aus einem Schistosomen-Endemiegebiet am Tschadsee (Tschad) mit fraglich „falsch-positiven“ Ergebnissen wurden zwei weitere schwangere Frauen ohne vorherigen Aufenthalt in einem Schistosomen-Endemiegebiet in die Studie eingeschlossen. Trotz negativer Referenzdiagnostik wurde eine dieser Frauen durch den POC-CCA Test positiv getestet (Greter et al., 2016). Marti et al. konnte den Verdacht auf eine Kreuzreaktion ebenfalls unter nicht exponierten Schwangeren in der Schweiz bestätigen. In einem Kollektiv aus unterschiedlichen Personengruppen ohne Kontakt zu einem Schistosomen-Endemiegebiet wurden gehäuft positive- und „Trace“-Ergebnisse unter schwangeren Frauen beobachtet (Marti et al., 2020). Insgesamt wurden in den beiden Studien acht Fälle von falsch positiven POC-CCA Ergebnissen beschrieben. Es gibt jedoch auch eine Publikation, welche

den Verdacht auf eine Kreuzreaktion nicht bestätigen konnte: Homsana et al. untersuchten diesen Zusammenhang in einem *Schistosoma mekongi*- und *S. mansoni*-Endemiegebiet in Kambodscha. Unter acht in dieser Studie untersuchten Schistosomen-negativen Schwangeren wurde nur eine einzige von der Referenzdiagnostik abweichend durch den POC-CCA Test positiv getestet. Die Autoren sehen auf Basis Ihrer Daten keine Hinweise auf eine Kreuzreaktion des Schnelltests in Verbindung mit einer Schwangerschaft (Homsana et al., 2020).

#### **4.1.2. Vergleich mit sensitiver Referenzdiagnostik**

Ein wichtiger Faktor bei der Bewertung von Testergebnissen bezüglich „richtig- und falsch- positiv“ sind die verwendeten Referenztests. Die unterschiedlichen Eigenschaften der Referenztests haben einen großen Einfluss auf die Schätzung der Sensitivität und Spezifität des zu bewertenden Tests. Die meisten bisherigen Studien zur Evaluation des POC-CCA Tests nutzten die wenig sensitive Methode der Mikroskopie/Urinfiltration zum Nachweis von *S. haematobium*, sowie Kato Katz zum Nachweis von intestinalen Schistosomeninfektionen (Kosinski et al., 2011; Sousa et al., 2019). Beide Methoden diagnostizieren Infektionen anhand der ausgeschiedenen Parasiteneier in Urin und Stuhl. Besonders bei Infektionen niedriger Intensität bleiben bei diesen Methoden durch geringe Konzentrationen von Parasiteneiern im Probenmaterial Infektionen unentdeckt (Amoah et al., 2020; Oliveira et al., 2018). Somit besteht die Gefahr, dass positive Testergebnisse des Antigen-basierten POC-CCA Tests durch die herkömmlichen Referenztests nur aufgrund der fehlenden Ei-Ausscheidung fälschlicherweise als „falsch-positiv“ gewertet werden.

In der „*POC-CCA in Pregnancy*“-Untersuchung wurde der UCP-LF CAA Test als Referenztest verwendet. Dieser nutzt den Nachweis von Schistosomen-Antigenen im Blut oder Urin, sodass selbst eine Parasitenlast von einem einzigen Wurm ohne Ei-Ausscheidung detektiert werden kann. Somit ist es

möglich, mit großer Sicherheit eine bestehende Schistosomeninfektion zu diagnostizieren bzw. auszuschließen (Corstjens et al., 2020). Es kann also davon ausgegangen werden, dass ein vom UCP-LF CAA Test abweichendes Ergebnis tatsächlich ein „falsch-positives“ oder „falsch-negatives“ Ergebnis ist. Durch die Unabhängigkeit dieser diagnostischen Methode von der Anzahl ausgeschiedener Parasiten-Eier ermöglicht der UCP-LF CAA Test eine bessere Bestimmung der Sensitivität und Spezifität des POC-CCA Tests in der untersuchten Studienpopulation. Parameter wie Sensitivität und Spezifität sind wichtig, um den POC-CCA Test als Mittel zur Prävalenzbestimmung der Schistosomiasis bei Schwangeren, sowie als Werkzeug für individuelle Diagnostik und ggf. Therapie zu evaluieren. In der vorliegenden Arbeit war bei allen 20 Frauen während der Schwangerschaft der POC-CCA Test positiv und der UCP-LF CAA Test negativ. Für alle Frauen konnte also ein bestätigt „falsch-positives“ Ergebnis im POC-CCA nachgewiesen werden, womit die Möglichkeit einer Fehlinterpretation der Ergebnisse durch fehlende Ei-Ausscheidung ausgeschlossen werden konnte. Die vorliegende Arbeit unterstützt somit die Vermutung einer Kreuzreaktion des POC-CCA Tests und erweitert die Datenlage zu diesem Thema. Besonders in der vulnerablen Gruppe der schwangeren Frauen ist es wichtig, die bisher noch teils widersprüchliche Datenlage zu verbessern. Um in Zukunft klare Empfehlungen für den Einsatz des Schnelltests in verschiedenen Alters- und Geschlechtsgruppen geben zu können, sollten weitere prospektive Untersuchungen angestrebt werden.

## **4.2. Vergleich der POC-CCA Ergebnisse während und nach der Schwangerschaft**

### **4.2.1. Eigene Ergebnisse**

Um zu untersuchen, ob die Schwangerschaft Ursache für die „falsch-positiven“ Ergebnisse im POC-CCA ist, wurden die Frauen sowohl vor als auch nach der Geburt mit dem POC-CCA Test und den Referenztests auf Infektionen mit *S. haematobium* untersucht. Die 20 vor der Geburt in den Referenztests negativen und im POC-CCA Test positiven Untersuchungsteilnehmerinnen wurden sechs

bis zehn Monate nach der Schwangerschaft erneut untersucht. Von den initial zwanzig Frauen wurden in der Datenerhebung nach der Entbindung zwei von den Referenztests als *Schistosoma haematobium*-positiv, also als infiziert, diagnostiziert. Die Teilnehmerinnen hatten sich also im Zeitraum zwischen den beiden Testzeitpunkten neu mit *S. haematobium* infiziert und wurden aus den weiteren Analysen ausgeschlossen. Die anderen achtzehn Teilnehmerinnen wurden von den Referenztests auch nach Ende der Schwangerschaft als nicht mit *S. haematobium* infiziert bestätigt. Von den achtzehn Frauen wurden nach der Schwangerschaft zwei Drittel (66,6%) durch den POC-CCA Test negativ getestet, also im Vergleich mit den Referenztests als „richtig-negativ“ diagnostiziert. Bei sechs von achtzehn Frauen (33,3 %) war der POC-CCA Test auch nach der Schwangerschaft positiv und wurde im Vergleich mit den Referenztests als „falsch-positiv“ eingestuft. Damit ergibt sich auf Basis der hier erhobenen Daten eine Rate an richtig-negativ diagnostizierten Probanden von 66,6 %. Die Schwangerschaft selbst bzw. assoziierte Faktoren scheinen zu Kreuzreaktionen zu führen, allerdings nicht ausschließlich, da immer noch 33% auch nach der Geburt ein falsch positives POC-CCA Ergebnis aufwiesen.

#### **4.2.2. Bewertung anhand der aktuellen Studienlage**

Basierend auf der aktuellen Studienlage liegt die Spezifität des POC-CCA Tests für *S. haematobium* zwischen 75 % und 88 % (Dood et al., 2018; Ochodo et al., 2015; Sanneh et al., 2017). Die in der vorliegenden Arbeit beobachtete Rate an richtig negativen Ergebnissen des POC-CCA Tests von 66% nach der Entbindung liegt also nur 9 % unter der in größeren Studien bestätigten Spezifität von 75 %. Bei dieser Abweichung könnte es sich also auch um eine statistische Abweichung, bedingt durch die kleine Stichprobe der durchgeführten Untersuchung, handeln. Betrachtet man das Konfidenzintervall der in der vorliegenden Studie berechneten Spezifität ( $_{95\%KI}$  45.2%-86.8%), so liegen die von größeren Studien berechneten Spezifität innerhalb des Intervalls. Dies lässt die Vermutung zu, dass nach der Schwangerschaft keine relevante Kreuzreaktion mehr vorliegt und es sich bei der Abweichung der errechneten Spezifität um eine durch die geringe Stichprobe bedingte Abweichung handelt.

Dies müsste in einer Studie mit einer größeren Stichprobe untersucht werden. Zusammenfassend wurde gezeigt, dass unter schwangeren Frauen deutlich häufiger „falsch-positive“ POC-CCA Testergebnisse auftreten als unter Frauen, die nicht schwanger sind. Sollte sich die deutliche Reduktion der positiven Ergebnisse nach der Schwangerschaft in größeren Studien bestätigen, könnte dies ein Hinweis auf eine Reduktion der Kreuzreaktion nach der Schwangerschaft sein.

### **4.3. Verlauf der G-Score Ergebnisse**

Bemerkenswert sind in diesem Zusammenhang die Intensitäten der POC-CCA Testlinien vor und nach der Geburt. In der vorliegenden Untersuchung wurde der in den Niederlanden entwickelte G-Score zur Einschätzung der Ergebnisse genutzt. Dabei handelt es sich um eine semiquantitative Methode, welche es ermöglicht, über die Farbintensität der Testbanden der POC-CCA Testkassette die relative Menge von CCA-Antigenen zu messen, um damit auf die Intensität der Infektion mit *S. haematobium* zu schließen. Die Skala reicht von eins (kein CCA nachweisbar) bis zehn (hoher CCA-Gehalt). Vor der Geburt lagen die Intensitäten des G-Scores der getesteten Frauen bei einem durchschnittlichen Wert von sechs. Dieser halbierte sich nach der Geburt auf eine durchschnittliche Intensität von drei. Dass der Durchschnitt nicht noch niedriger lag, war bedingt durch viele „Trace“-Ergebnisse (Spuren des Antigens nachweisbar, jedoch negatives Ergebnis) unter den negativ eingestuftem POC-CCA Tests (8/12). Kurz nach der Schwangerschaft blieb der G-Score also auf einem niedrigeren Level positiv (Intensität 3/10 statt 6/10). Dies lässt die Vermutung zu, dass auch nach der Schwangerschaft ein gewisser störender Einfluss auf das POC-CCA Ergebnis vorhanden bleibt. Schaut man sich dahingehend die Daten der auch nach der Schwangerschaft weiterhin im POC-CCA „falsch-positiven“ Frauen an, so ist – abgesehen von den Ergebnissen einer Probandin – ebenfalls ein rückläufiger Trend im G-Score erkennbar. Bei Ausklammern der einzigen Frau mit steigendem G-Score (6 auf 9) aus der Analyse, sinkt die durchschnittliche Intensität des Scores auch bei weiterhin im

POC-CCA Test positiven Frauen leicht. Der Durchschnittliche G-Score sinkt von 6,6 vor der Geburt auf 5,6 nach der Geburt. Der längste dokumentierte Zeitraum liegt bei zehn Monaten nach der Geburt. Sollten sich diese Daten in größer angelegten Studien bestätigen, könnte dies ein Hinweis auf ein mögliches kreuzreaktives Molekül sein, welches nach der Schwangerschaft in reduzierter Menge weiterhin vorliegt. Die hier gezeigten Daten können dafür als Pilotstudie zur Studienplanung herangezogen werden.

## **4.4. Parasitäre Infektionen**

### **4.4.1. Helminthen**

Neben der Schwangerschaft als Einflussfaktor für Interaktionen mit den Ergebnissen des POC-CCA Tests sind in der Literatur noch weitere Ursachen beschrieben. Von Homsana et al. wurden insbesondere intestinale Parasiten als Ursprung falsch-positiver POC-CCA Tests identifiziert (*Homsana et al., 2020*). Da in Lambaréné (Gabun) die beobachtete Prävalenz intestinaler Helminthen unter schwangeren Frauen bei 64 % liegt, könnte dies in der Studienregion ein Faktor für Kreuzreaktionen sein (*Adegnika et al., 2010*). In der Studienpopulation wurden eine Infektion mit *Necator americanus* und zwei mit *Trichuris trichiura* identifiziert. Dies entspricht einem Anteil von 15 % unter den schwangeren Frauen mit vermutlich „falsch-positivem“ POC-CCA Testergebnis und deutet daher eher nicht darauf hin, dass Helminthen die Verursacher von Kreuzreaktionen in der untersuchten Population sind. Neben der geringen Größe der Studienpopulation sind auch die Jahreszeit sowie die Untersuchungsmethoden zur Parasitendiagnostik von Bedeutung (*Brooker et Michael, 2000*). Die „POC-CCA in Pregnancy“-Untersuchung wurde im Gegensatz zur oben genannten Studie von Adegnika et al. nicht über ein ganzes Jahr, sondern nur in einem Zeitraum von Oktober bis April durchgeführt. Zusätzlich wurde zur Parasitendiagnostik nur eine statt drei Stuhlproben pro Untersuchungsteilnehmerin gewonnen und somit eine geringere Sensitivität in der Diagnostik von intestinalen Parasiten erreicht. Diese beiden Faktoren könnten ebenfalls Ursachen der geringen Prävalenz in dieser Studienpopulation

sein. Die beiden identifizierten Spezies sind außerdem bisher nicht als Faktor für falsch-positive POC-CCA Befunde bekannt. Im Gegenteil wurden Hakenwurminfektionen (*Necator Americanus*) durch Homsana et al. sogar als protektiver Faktor gegen Infektionen mit Schistosomenarten identifiziert. Die Beobachtungen wurden in einem Endemie-Gebiet für *Schistosoma mekongi* und *Schistosoma mansoni* in Kambodscha gemacht (Homsana et al., 2020). Die Studie führt dies jedoch nicht auf kreuzreaktive Substanzen, sondern auf die unterschiedlichen Lebensräume der Parasiten zurück. Die von Homsana et al. in besonderem Maße kreuzreaktive Parasitenspezies *Opisthorchis viverrini* gehört, wie auch Schistosomen, zur Klasse der *Trematoden* (Saugwürmer). Auf Grundlage dieser Tatsachen vermuten die Autoren, dass eine Kreuzreaktion mitunter auf die nahe Verwandtschaft der beiden Spezies zurückführbar sein könnte (Homsana et al., 2020). Da es sich weder bei *Necator americanus* noch bei *Trichuris trichiura* um Helminthen der Klasse der Trematoden handelt, ist somit auf Basis der aktuellen Studienlage keine besondere Kreuzreaktivität der beiden in der Population diagnostizierten Spezies zu erwarten (Grenfell et al., 2018). Durch die niedrige Fallzahl kann jedoch auch hier keine abschließende Aussage getroffen werden. Um genauere Aussagen zu treffen, wäre eine nähere Untersuchung mit größerer Studienpopulation und genaueren diagnostischen Methoden für intestinale Helminthen notwendig.

#### **4.4.2. Protozoen**

Häufiger wurden in der Studienpopulation Protozoen wie *Endolimax nana*, *Iodamoeba buetschlii*, *Entamoeba coli/histolytica/dispar* oder *Chilomastix mesnili* identifiziert. Zwischen den mit Protozoen Infizierten und den Nicht-Infizierten lassen sich keine Hinweise auf Unterschiede im G-Score feststellen. Auch in der Literatur sind keine derartigen Interaktionen beschrieben.

## **4.5. Urogenitale Infektionen**

### **4.5.1. Urogenitale Infektionen in der Schwangerschaft**

Die vielen physiologischen Veränderungen des unteren und oberen Urogenitaltraktes einer schwangeren Frau stellen prädisponierende Faktoren für Infektionen der Harnwege dar. Neben der kürzeren Urethra (Harnröhre) im Vergleich zu Männern kommt es zusätzlich im Laufe der Schwangerschaft zu einer Dilatation der Urethra und der oberen ableitenden Harnwege (*Schulman et Herlinger, 1975; Waltzer, 1981*). In Kombination mit einem erhöhten Blasenvolumen, einer reduzierten peristaltischen Aktivität und dem erniedrigten Blasentonus kommt es häufiger zu Harnverhalt und urethrovesicalem Reflux. Beginnend im dritten Schwangerschaftsmonat steigern sich diese prädisponierenden Faktoren bis ins dritte Trimester (*Kalinderi et al., 2018; Waltzer, 1981*). Besonders in Ländern des globalen Südens führt dies zu hohen Inzidenzen von bakteriellen Harnwegsinfekten in der Schwangerschaft (*Belete et Saravanan, 2020*). Die in der Literatur beschriebenen Zahlen für symptomatische und asymptomatische Harnwegsinfekte bei schwangeren Frauen in unterschiedlichen afrikanischen Ländern variieren zwischen 14,6 % und 55 % (*Masinde et al., 2009; Okonko, I. O. et al., 2009; Oladeinde et al., 2015; Tadesse et al., 2014*).

### **4.5.2. Einfluss urogenitaler Infektionen auf den POC-CCA**

Einige aktuelle Studien geben Hinweise auf mögliche Zusammenhänge zwischen falsch positiven POC-CCA Ergebnissen und urogenitalen Infektionen. Marti et al. beschreiben diesen Zusammenhang bei einer kleinen Stichprobe von Personen ohne vorherigen Aufenthalt in einem Schistosomen-Endemie-Gebiet (*Marti et al., 2020*). Zusätzlich dazu beschreiben auch Homsana et al. einen signifikanten Zusammenhang zwischen urogenitalen Infektionen und abweichenden POC-CCA Ergebnissen in einem Endemie-Gebiet der Schistosomenarten *Schistosoma mekongi* und *Schistosoma mansoni* in Kambodscha (*Homsana et al., 2020*). Auch der Hersteller (*Rapid Medical Diagnostics, Pretoria, Südafrika*) gibt dies als einen der limitierenden Faktoren

des POC-CCA im Benutzerhandbuch des Schnelltests an (*Rapid Medical Diagnostics*, 13.12.2018).

#### **4.5.3. Urogenitale Infektionen in der Studienpopulation**

In der Untersuchung „*POC-CCA in Pregnancy*“ wurde in der primären Fragestellung der Urin der Untersuchungsteilnehmerinnen mithilfe eines Dip-Stick auf Leukozyten, Nitrit, Erythrozyten und Proteine untersucht. Um die Beeinflussung der POC-CCA Testergebnisse durch einen Harnwegsinfekt in dieser Untersuchung näher zu bestimmen, wurden sechs Frauen nach Ende der Schwangerschaft erneut durch Dip-Stick und POC-CCA Test auf Infektionen untersucht. Dieser Zeitpunkt wurde gewählt, um die Beeinflussung der POC-CCA Ergebnisse durch die urogenitale Infektion ohne den nachgewiesenen störenden Einfluss der Schwangerschaft bewerten zu können. Ein weiterer Vorteil davon, diesen Zeitpunkt für die Untersuchung von Harnwegsinfektionen zu wählen, ist die Möglichkeit, positive und negative POC-CCA Ergebnisse von Frauen mit unterschiedlichem Dip-Stick Befund miteinander vergleichen zu können. Betrachtet man die Ergebnisse der drei Frauen mit Leukozyten im Urin, also einem Indikator auf einen möglichen Harnwegsinfekt, so weisen alle einen negativen POC-CCA Test auf. Es handelt sich also um ein im Vergleich mit den Referenztests „richtig-negatives“ Ergebnis. Im Gegensatz dazu weisen zwei Frauen ohne Leukozyten im Urin und somit vermutlich ohne bakterielle Infektion einen positiven POC-CCA Test auf. Im Vergleich mit den Referenztests handelt es sich also um ein „falsch-positiv“ bewertetes Ergebnis. Betrachtet man zusätzlich die Dip-Stick Ergebnisse der Frauen vor der Entbindung, so liegen die Mittelwerte der G-Score Ergebnisse bei Schwangeren mit und ohne Harnwegsinfekt bei 6,5. Da der Mittelwert des POC-CCA Ergebnisses in beiden Gruppen identisch ist, kann eine stärkere Beeinflussung durch urogenitale Infekte in dieser Untersuchung ausgeschlossen werden. Es besteht also kein offensichtlicher Zusammenhang zwischen höheren Ergebnissen im G-Score des POC-CCA Tests und einem hohen Leukozytenbefund im Dip-Stick. Auf Basis dieser Daten kann davon ausgegangen werden, dass in dieser Studienpopulation keine relevante

Beeinflussung der POC-CCA Ergebnisse durch Harnwegsinfekte vorliegt. Diese Schlüsse haben jedoch aufgrund der geringen Datenbasis nur eine niedrige Aussagekraft und müssten in Studien mit mehr Teilnehmern bestätigt werden. Um eine genauere Aussage treffen zu können, wäre es zu empfehlen, neben dem Dip-Stick Test mit niedriger Sensitivität und Spezifität noch eine Urinkultur anzulegen, um eine spezifischere Urindiagnostik zu erreichen. Dabei wäre es interessant zu untersuchen, ob eine Kreuzreaktion in diesem Bereich möglicherweise mit bestimmten Bakterienstämmen zusammenhängen könnte. Als weiterer Parameter, um Infektionen im Urogenitaltrakt zu erfassen, gilt das Nitrit, ein spezifischer Parameter für Nitrit-bildende Bakterien. Dieser ist zwar erhoben worden, jedoch lässt sich durch die geringe Anzahl an positiven Befunden (2) keine Aussage treffen. Bei allen hier aufgeführten Frauen handelt es sich bei den durch die Dip-Stick Diagnostik vermuteten Harnwegsinfekte um asymptomatisch verlaufende Infektionen. Dies wurde bei Aufnahme in die Studie über eine Befragung geprüft, da nur gesunde Schwangere den Einschlusskriterien entsprachen. Zusammenfassend lässt sich zu diesem Thema sagen, dass hier keine ausreichende Datenbasis vorliegt. Die aktuelle Literatur zu diesem Thema lässt keine endgültigen Aussagen zu. Homsana et al. zeigen die mögliche Kreuzreaktion zwar anhand einer größeren Stichprobe, die Kreuzreaktion zeigt sich jedoch nur in einem Modell, in welchem „Trace“-Ergebnisse im POC-CCA als positiv gewertet werden. (Homsana et al., 2020). Die Bewertung der „Trace“-Ergebnisse ist in der Literatur umstritten, wird jedoch meistens als negatives Ergebnis gewertet. In der „POC-CCA in Pregnancy“-Untersuchung werden „Trace“-Ergebnisse entsprechend der übergeordneten *freeBILy-GAB*-Studie als negativ gewertet. Weitere Studien zu diesem Thema wie die Arbeit von Marti et al. arbeiteten ebenfalls mit einer zu geringen Datenbasis, um allgemeingültige Aussagen treffen zu können (Marti et al., 2020). Um den POC-CCA Test besser für den Einsatz in *S. haematobium*-Endemie-Gebieten zu evaluieren, sind somit noch größer angelegte Studien zur Interaktion des Tests mit Harnwegsinfekten nötig.

## **4.6. POC-CCA zur Diagnostik bei Säuglingen**

### **4.6.1. Infektion mit Schistosomen bei Säuglingen in der Literatur**

Infektionen mit *Schistosoma haematobium* im frühen Kindesalter rücken in den letzten Jahren weiter in den Fokus der Wissenschaft. Vor allem der Zeitpunkt der Erstinfektion sowie die Prävalenz bei Säuglingen und Kleinkindern sind weiterhin Schwerpunkt aktueller Forschung. In einer großen systematischen Auswertung von Studien kommen Kalinda, Mindu et al. auf eine kumulative Prävalenz von 15% für *S. haematobium*-Infektionen in der Altersgruppe unter sechs Jahren in Subsahara-Afrika (Kalinda et al., 2020). Erste Infektionszeichen werden von Bosompem et al. ab dem Alter von zwei Monaten beschrieben. Dabei handelt es sich jedoch um den Nachweis von Parasiten-Antigenen durch einen Dip-Stick ELISA Test, also einem Nachweis von Erreger-Antigenen im Urin mittels spezifischer Antikörper. Ein direkter Nachweis gelang erst bei vier Monate alten Säuglingen mittels Mikroskopie (Bosompem et al., 2004). Für die Studienregion in Lambaréné selbst gibt es bis dato keine Daten zu Infektionen mit *S. haematobium* in dieser Altersgruppe.

### **4.6.2. POC-CCA Diagnostik bei Säuglingen**

Die Verwendung der POC-CCA Tests zur Diagnostik der *Schistosomiasis* im Säuglings- und Kleinkindalter wurde durch Stothard et al. in einem *S. mansoni* Endemie-Gebiet in Uganda vorbeschrieben. Bei Säuglingen im Alter von sechs Monaten war es möglich CCA-Antigene durch den POC-CCA Test zu detektieren. Die Intensität der Testergebnisse dieser Studie zeigt eine steigende Tendenz mit zunehmendem Alter. Während ein sechs Monate alter Säugling noch ein „Trace“-Ergebnis aufwies, zeigten die neun Monate alten Kinder einen V-Score von „1“. Den Autoren war es jedoch nicht möglich, Infektionen zu einem solch frühen Zeitpunkt mit dem von der WHO empfohlenen Goldstandard, der Mikroskopie, zu bestätigen. Der erste mikroskopische Nachweis von Eiern der Spezies gelang in der Studie von Stothard et al. ab einem Alter von neun Monaten, während übereinstimmende Ergebnisse aller in der Studie verwendeten Tests (Antikörpernachweis,

Antigennachweis, Mikroskopischer Nachweis von Eiern im Stuhl) erst ab einem Alter von drei Jahren möglich war. Trotz dieser Differenzen in den Zeitpunkten erster Infektionsnachweise zwischen den unterschiedlichen Diagnostika empfehlen Stothard et al. den POC-CCA Test zur Anwendung in dieser Altersgruppe (Stothard et al., 2011). In der Studie „POC-CCA in Pregnancy“ wurden neben den Müttern auch deren im Rahmen der Studie geborenen Säuglinge untersucht. Da die Datenlage bezüglich Erstinfektionen bei Säuglingen mit *S. haematobium*-Infektionen gering ist, sollten mit dieser Untersuchung neue Erkenntnisse für die Studienregion in Lambaréné (Gabun) gewonnen werden. Im Laufe der Datenerhebung konnten sieben Säuglinge im Alter zwischen sechs und neun Monaten untersucht werden. Die *S. haematobium*-Diagnostik zeigte hier unerwartete Ergebnisse. Alle untersuchten Säuglinge wurden durch den POC-CCA Test als „positiv“ auf *S. haematobium* getestet. Es konnte jedoch bei keinem der Säuglinge eine Infektion mit *S. haematobium* durch die Referenzdiagnostik nachgewiesen werden. Alle Säuglinge wurden im hochsensitiven UCP-LF CAA Test, welcher hier als Referenzdiagnostik genutzt wurde, negativ auf eine *S. haematobium*-Infektion getestet. Auf Grund der nachgewiesenen hohen Sensitivität des UCP-LF CAA Tests kann davon ausgegangen werden, dass die Neugeborenen nicht mit *S. haematobium* infiziert sind. Somit geben diese Ergebnisse einen Hinweis auf eine mögliche Kreuzreaktion des POC-CCA Tests mit „falsch-positiven“ Ergebnissen im Säuglingsalter.

Die genaue Ursache der positiven POC-CCA Ergebnisse bei Säuglingen in der vorliegenden Arbeit lässt sich auf Basis der vorliegenden Daten nicht erklären. Eine Hypothese wäre eine Übertragung von Parasiten-Antigenen über die Muttermilch auf den Säugling. Dass eine Übertragung von Antigenen möglich ist, wurde in der Vergangenheit schon von anderen Studien aufgezeigt. In der Studie von Petralanda et al. wurde eine Übertragung von Antigenen der Nematoden-Spezies *Onchocerca volvulus* über die Muttermilch von der Mutter auf den Säugling nachgewiesen (Petralanda et al., 1988). Nimmt man an, dass auch das CCA-Antigen über die Muttermilch von der Mutter auf den Säugling übertragen werden kann, so wäre dies ein möglicher Mechanismus zur

Erklärung der positiven POC-CCA Tests bei den Säuglingen. Gegen diese Hypothese spricht, dass das Antigen bei den Müttern zu diesem Zeitpunkt entweder gar nicht mehr oder nur noch in „Trace“-Konzentrationen nachgewiesen werden konnte. Zwei der Mütter gaben außerdem an, ihren Säugling nicht mit Muttermilch, sondern mit Milchersatzprodukten zu ernähren. Trotz dieser Angabe zeigten beide Säuglinge einen positiven POC-CCA Test.

Als weitere Hypothese könnte man auf Basis der Daten davon ausgehen, dass die Kreuzreaktion in der Schwangerschaft vom Fetus ausgeht. Da die Mütter nach der Geburt ein negatives POC-CCA Ergebnis hatten, während die Säuglinge zum Teil bis zehn Monate nach der Geburt noch „falsch-positive“ POC-CCA Ergebnisse aufwiesen, wäre somit eher von einer Übertragung aus dem fetalen Organismus auf den mütterlichen (fetomaternalen Übertragung) auszugehen. Physiologischerweise kommt es in einer Schwangerschaft zu einem Austausch von Blutbestandteilen zwischen Mutter und Fetus – somit wäre eine Übertragung eines kreuzreaktiven Bestandteils aus dem fetalen Organismus ins mütterliche Blut denkbar (*Schröder, 1975*). Nach der Schwangerschaft fällt dieser direkte Übertragungsweg zwischen Mutter und Kind weg, und die Kreuzreaktion kann bei den Müttern weniger nachgewiesen werden, während die Säuglinge weiter „falsch-positiv“ getestet werden. Diese Vermutung müsste jedoch durch spezifische Belege ergänzt werden. Es wäre wichtig, mögliche kreuzreaktive Moleküle der Säuglinge zu identifizieren. Die hier gezeigten Ergebnisse sind ein wichtiger Hinweis auf bestehende Forschungslücken in diesem Bereich. Die Relevanz zeigt sich vor allem im Hinblick auf zukünftige Anstrengungen zur Elimination der Schistosomiasis. Fachartikel wie von Soisa-Figueiredo et al. zeigen den vermehrten Fokus auf Mass-Drug-Administration (MDA) - Programme für Kinder im Kleinkind- und Säuglingsalter (*Sousa-Figueiredo et al., 2010*). Eine Kreuzreaktion mit vermehrt positiven Ergebnissen in dieser Altersgruppe könnte somit in Zukunft zu unnötiger Medikamentenapplikation bei nicht infizierten Kindern führen. Dies unterstreicht die Relevanz vermehrter Forschungsanstrengungen. Vor allem wäre es wichtig, mehr über die Fortdauer der positiven POC-CCA Ergebnisse zu erfahren, um ein Mindestalter für den Test festzulegen. In dieser Studie

wurden Säuglinge bis ins Alter von zehn Monaten erfasst, jedoch konnte bis zu diesem Zeitpunkt keine Reduktion der POC-CCA Ergebnisse festgestellt werden. Eine länger andauernde Studie mit mehr Probanden wäre hier nötig.

## **4.7. Experimentelle Untersuchungen**

### **4.7.1. Lagerung**

Um einen weiteren Einflussfaktor auf die Ergebnisse des POC-CCA zu evaluieren, wurde der Einfluss der Lagerungsbedingungen auf die Proben untersucht. Ausgewählt wurden die Bedingungen, denen die Proben im Laboralltag ausgesetzt sind. Dabei handelt es sich um Kühlschranktemperaturen von 4°C, sowie die Gefrierschranktemperatur von -20°C für längerfristige Lagerung. Im Handbuch des Herstellers wird eine unbedenkliche Lagerungszeit der Proben von mindestens sieben Tagen bei 4°C und von einem Jahr bei -20°C angegeben (*Rapid Medical Diagnostics*, 13.12.2018). Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit bestätigen zwar grundsätzlich die vom Hersteller im Handbuch angegebenen Empfehlungen, dennoch sind die Ergebnisse erwähnenswert. Nach der siebentägigen Lagerung wurden bei beiden Lagerungsbedingungen leichte Abweichungen vom G-Score der initialen Messung festgestellt. Bei Lagerungsbedingungen von 4°C liegt die Abweichung bei bis zu drei G-Score Zählern. Diese maximale Abweichung wurde jedoch nur in einer der zehn untersuchten Proben erreicht. In diesem einen Fall wurde damit eine vor der Lagerung negative Probe nach der Lagerung als positiv gewertet. Der Einfluss durch die Lagerung bedingt hier also einen relevanten Unterschied im Endergebnis. In den restlichen fünf Fällen mit abweichenden Ergebnissen kam es lediglich zu geringen Intensitätsschwankungen der Testlinie und damit zu keiner Veränderung im Endergebnis. Bei Lagerungsbedingungen von -20°C kam es zu maximalen Abweichungen im G-Score von zwei Stufen bei drei Proben. Keine dieser Intensitätsschwankungen führte hier zu einer relevanten Änderung des Endergebnisses vor und nach der Lagerung. Damit wäre auf Basis dieser Studie eine Lagerung bei -20°C empfohlen, da so eine bessere Konservierung

der Ergebnisse möglich ist. Bei Interpretation von Abweichungen in diesem Rahmen ist jedoch die untersucherabhängige Testlinieninterpretation nicht zu vernachlässigen. Trotz der hohen Standardisierung beim Ablesen der Ergebnisse im G-Score durch Vergleichstestkassetten sind die Ergebnisse weiter untersucherabhängig. Es gibt unterschiedliche Ansätze, dieses Problem zu verringern. Wie bereits in der Studie von Casacuberta-Partal et al. gefordert, wäre die Etablierung eines autonomen Readers zur untersucherunabhängigen Interpretation der Intensitäten erstrebenswert (*Casacuberta-Partal et al., 2019*). Ob dies auf längere Sicht praktikabel wäre, ist jedoch anzuzweifeln. Einer der großen Vorteile des POC-CCA ist seine einfache Anwendung. Der Test kann ohne größeren technischen Aufwand in entlegene Gebiete transportiert und vor Ort ohne weitere Hilfsmittel angewendet werden. Dabei kommt der Test komplett ohne weitere Anforderungen an die Umgebung aus. Würde man standardmäßig einen Reader etablieren, wäre zumindest ein Stromanschluss zur Verwendung des Tests nötig. Damit würde der Test an Flexibilität verlieren. Zu diesem Thema lässt sich abschließend sagen, dass sich die Abweichungen der Testergebnisse in beiden Lagerungsbedingungen in einem geringen und somit tolerierbaren Rahmen bewegen.

#### **4.7.2. Abtrennung verunreinigender Proteine**

Um einen ersten Vorstoß in Richtung der Aufklärung der Kreuzreaktionen bei Schwangeren zu unternehmen, wurde in dieser Studie ein experimentelles Verfahren erprobt. Hierbei handelte es sich um die Behandlung des Probenurins mit Trichloressigsäure (TCA) zur Fällung von Proteinbestandteilen im Urin. Das Verfahren wird schon standardisiert beim UCP-LF CAA Test zur Aufreinigung von Proben angewendet (*Corstjens et al., 2014*). In einem ersten Schritt wurde die Methode anhand der vom Hersteller gelieferten CCA-Testreagenzien evaluiert. Dabei handelt es sich um vom Hersteller genormte Substanzen zur regelmäßigen Testevaluation. Bei der Behandlung der Testreagenzien konnte gezeigt werden, dass die Behandlung mit TCA grundsätzlich möglich wäre und die Ergebnisse durch die Behandlung in ihrer Aussage nicht verfälscht werden. Die einzige quantitative Veränderung des

Ergebnisses – im Vergleich zu den mit den unbehandelten Testreagenzien durchgeführten Tests – war eine Abnahme der Intensität der Testlinie. Dabei handelte es sich jedoch vermutlich um ein Artefakt, welches durch die leichte Verdünnung durch Zugabe der Reagenzien zustande kam. Zusätzlich zeigten sich einzelne Testlinien am Rand etwas ausgewaschen (Siehe Abb. 7). Dies könnte bedeuten, dass die Probe nicht gleichmäßig durch den Nitrocellulosestreifen gelaufen war. Die Linien blieben jedoch gut lesbar.

Nach dieser initialen Evaluation der Methode wurden Urinproben der Studienteilnehmerinnen in einem zweiten Schritt mit TCA behandelt und parallel zum unbehandelten Urin im POC-CCA getestet. Betrachtet man nun die Ergebnisse der Untersuchung der Probenurine, so zeigte sich ein von den Ergebnissen der unbehandelten Urinproben deutlich abweichendes Resultat. Bewertet man „Trace“-Ergebnisse in der Untersuchung als negativ, so kam es zu einem massiven Verlust der Sensitivität. Aus 13 durch die Referenztests nachgewiesenen positiven Proben wurde nur eine nach der Behandlung mit TCA durch den POC-CCA als positiv erkannt. Bewertet man „Trace“-Ergebnisse als positiv, was auf Basis der oben beschriebenen Intensitätsverluste vertretbar wäre, so steigt die Sensitivität des Tests bei behandelten Proben wieder an. Nach der TCA-Behandlung wurden dann sechs von 13 Proben als richtig positiv erkannt, und somit eine Sensitivität von 46 % und eine Spezifität von 67 % erreicht.

Zusammenfassend lässt sich somit feststellen. Im standardisierten Versuch mit den vom Hersteller genormten Probesubstanzen zeigte die TCA-Behandlung keine Beeinflussung der Ergebnisse des POC-CCA. In der proteinfreien Flüssigkeit nahm die Behandlung keinen Einfluss auf die Feststellung des CCA-Antigens durch den Test. Somit wäre ein Reinigungsschritt mittels TCA zur Fällung von Proteinen theoretisch möglich. Die Implementierung der Methode auf Probenurin lässt jedoch noch viele Fragen offen. Betrachtet man die Ergebnisse, so sieht man zwar eine Reduktion der falsch-positiven Ergebnisse, jedoch ist dies begleitet durch eine starke Reduktion der Sensitivität (also der richtig negativen Ergebnisse). Der Test zeigt also mit TCA-behandeltem Probenurin keine ausreichende Sensitivität. Auch lässt sich keine Aussage

dazu treffen, ob die Reduktion der falsch-positiven Ergebnisse durch Eliminierung der kreuzreaktiven Substanz oder durch andere Effekte der Behandlung zustande kam. Zur weiteren Evaluation der Methode wäre es also von großem Vorteil „Trace“-Ergebnisse besser klassifizieren zu können. Seit der Etablierung des POC-CCA Tests als Diagnostisches Mittel für *S. mansoni* wurde in der Literatur immer wieder über den Umgang mit „Trace“-Ergebnissen sowie über mögliche Kreuzreaktionen diskutiert. Mittlerweile wurde zum Thema der „Trace“-Ergebnisse ein vielversprechender Lösungsansatz präsentiert. „Trace“-Ergebnisse lassen sich nach neuen Erkenntnissen durch Konzentration des Urins vor der Applikation auf die Testkassette deutlich sicherer bewerten. Dies wurde als gutes Mittel zur Erhöhung der Sensitivität beschrieben (Coelho et al., 2016; Grenfell et al., 2018). Ein weiterer Schritt wäre also, die Methode zur Fällung von Proteinen mit einer höheren Konzentrierung des Urins zu verbinden, um so die vielen „Trace“-Ergebnisse besser bewerten zu können. Mit einem solchen Schritt wäre es möglich, Unterschiede in der Konzentration der Proben auszugleichen und „Trace“-Ergebnisse besser zu klassifizieren. Um eine klare Aussage zum Nutzen der Methode treffen zu können, sind also noch weitere Untersuchungen nötig.

## 5. Zusammenfassung

Zur Elimination der Schistosomiasis, als einer der schwerwiegendsten parasitären Erkrankungen des globalen Südens, sind genaue und einfach bedienbare Diagnostika von zentraler Bedeutung. Das Ziel der „*POC-CCA in Pregnancy*“-Untersuchung war es, festzustellen, ob die Schwangerschaft selbst bzw. mit der Schwangerschaft assoziierte Faktoren ursächlich für die erhöhte Rate an falsch-positiven Schistosomiasis POC-CCA Testergebnissen ist. Der POC-CCA ist ein einfach zu handhabender, urinbasierter Schnelltest zur Detektion von Schistosomeninfektionen und damit ein vielversprechendes Werkzeug im Kampf gegen die Schistosomiasis. Durch den Vergleich diagnostischer Ergebnisse der Probandinnen während und nach der Schwangerschaft konnte ein erster Hinweis auf einen Zusammenhang zwischen „falsch-positiven“ Ergebnisse und der Schwangerschaft gefunden werden. Die starke Reduktion der „falsch-positiven“ Ergebnisse nach der Entbindung weist auf eine Beeinflussung des POC-CCA Tests durch die Schwangerschaft hin. Um dabei andere Einflussfaktoren auszuschließen, wurden alle Teilnehmerinnen auf bestehende parasitäre sowie bakterielle Infektionen untersucht. Eine Beeinflussung durch Harnwegs- und parasitäre Infektionen konnte ausgeschlossen werden.

Die zweite Fragestellung lautete, in welchem Alter sich Säuglinge in der lokalen Population erstmals mit Schistosomen infizieren. Die Säuglinge der Teilnehmerinnen wurden dafür ebenfalls parasitologisch untersucht. Hervorzuheben ist, dass überraschend alle Säuglinge durch den POC-CCA Test positiv getestet wurden, wobei eine Infektion mit *S. haematobium* durch die Referenzdiagnostik (UCP-LF CAA) sicher ausgeschlossen werden konnte. Dies lässt die Vermutung zu, dass auch unter Neugeborenen und Säuglingen eine Kreuzreaktion des POC-CCA Tests vorlag. Diese Zusammenhänge wurden in dieser Studie erstmals beschrieben und müssen zur vollständigen Aufklärung weiter untersucht werden.

Im experimentellen Anteil der Studie wurde erstmals eine TCA-Behandlung von Probenurin beim POC-CCA Test durchgeführt. Es konnte gezeigt werden, dass

diese Methode grundsätzlich anwendbar wäre, es jedoch weiterer Forschung bedarf, um den Nutzen der Methode zu evaluieren.

Durch die Ergebnisse der „*POC-CCA in Pregnancy*“-Untersuchung ist es möglich, vermutete Hypothesen zur Kreuzreaktivität zu bestätigen und neue Erkenntnisse zum Einsatz des POC-CCA Tests bei Schwangeren und Säuglingen zu gewinnen. Trotz der geringen Stichprobengröße gibt die Untersuchung relevante Anstöße für mögliche zukünftige Studien zur Entwicklung einer einfach zu handhabenden und sensitiven Methode in der Diagnostik der Schistosomiasis.

## Literaturverzeichnis

- Abdel-Naser MB, Altenburg A, Zouboulis CC, Wollina U (2019): Schistosomiasis (bilharziasis) and male infertility. *Andrologia* 51(1):e13165. doi:10.1111/and.13165
- Adegnika AA, Ramharter M, Agnandji ST, et al. (2010): Epidemiology of parasitic co-infections during pregnancy in Lambaréné, Gabon. *Tropical medicine & international health : TM & IH* 15(10):1204–1209. doi:10.1111/j.1365-3156.2010.02598.x
- Ahmed AM, Abbas H, Mansour FA, Gasim GI, Adam I (2012): Schistosoma haematobium infections among schoolchildren in central Sudan one year after treatment with praziquantel. *Parasites & vectors* 5:108. doi:10.1186/1756-3305-5-108
- Ajanga A, Lwambo NJS, Blair L, Nyandindi U, Fenwick A, Brooker S (2006): Schistosoma mansoni in pregnancy and associations with anaemia in northwest Tanzania. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* 100(1):59–63. doi:10.1016/j.trstmh.2005.06.024
- Amoah AS, Hoekstra PT, Casacuberta-Partal M, et al. (2020): Sensitive diagnostic tools and targeted drug administration strategies are needed to eliminate schistosomiasis. *The Lancet Infectious Diseases* 20(7):e165-e172. doi:10.1016/S1473-3099(20)30254-1
- Ashton RA, Stewart BT, Petty N, et al. (2011): Accuracy of circulating cathodic antigen tests for rapid mapping of Schistosoma mansoni and S. haematobium infections in Southern Sudan. *Tropical medicine & international health : TM & IH* 16(9):1099–1103. doi:10.1111/j.1365-3156.2011.02815.x
- Ateba Ngoa U, Zinsou JF, Kassa RFK, et al. (2014): Assessment of the effect of Schistosoma haematobium co infection on malaria parasites and immune responses in rural populations in Gabon: study protocol. *SpringerPlus* 3:388. doi:10.1186/2193-1801-3-388
- Ateba-Ngoa U, Jones S, Zinsou JF, et al. (2016): Associations Between Helminth Infections, Plasmodium falciparum Parasite Carriage and Antibody Responses to Sexual and Asexual Stage Malarial Antigens. *The American journal of tropical medicine and hygiene* 95(2):394–400. doi:10.4269/ajtmh.15-0703
- Belete MA, Saravanan M (2020): A Systematic Review on Drug Resistant Urinary Tract Infection Among Pregnant Women in Developing Countries in Africa and Asia; 2005-2016. *Infection and drug resistance* 13:1465–1477. doi:10.2147/IDR.S250654

- Bosompem KM, Bentum IA, Otchere J, et al. (2004): Infant schistosomiasis in Ghana: a survey in an irrigation community. *Tropical medicine & international health : TM & IH* 9(8):917–922. doi:10.1111/j.1365-3156.2004.01282.x
- Brooker S, Michael E (2000): The potential of geographical information systems and remote sensing in the epidemiology and control of human helminth infections. *Advances in parasitology* 47:245–288. doi:10.1016/s0065-308x(00)47011-9
- Bullough CH (1976): Infertility and bilharziasis of the female genital tract. *British journal of obstetrics and gynaecology* 83(10):819–822. doi:10.1111/j.1471-0528.1976.tb00751.x
- Butler SE, Muok EM, Montgomery SP, et al. (2012): Mechanism of anemia in *Schistosoma mansoni*-infected school children in Western Kenya. *The American journal of tropical medicine and hygiene* 87(5):862–867. doi:10.4269/ajtmh.2012.12-0248
- Carod Artal FJ (2012): Cerebral and spinal schistosomiasis. *Current neurology and neuroscience reports* 12(6):666–674. doi:10.1007/s11910-012-0305-4
- Casacuberta-Partal M, Hoekstra PT, Kornelis D, van Lieshout L, van Dam GJ (2019): An innovative and user-friendly scoring system for standardised quantitative interpretation of the urine-based point-of-care strip test (POC-CCA) for the diagnosis of intestinal schistosomiasis: a proof-of-concept study. *Acta tropica* 199:105–150. doi:10.1016/j.actatropica.2019.105150
- CDC (2018): *Schistosomiasis*. <<https://www.cdc.gov/parasites/schistosomiasis/index.html>> [Zugriff 16.09.2021]
- CDC (2019): *Schistosomiasis*. <<https://www.cdc.gov/dpdx/schistosomiasis/index.html>> [Zugriff 17.09.2021]
- Červená B, Brant SV, Fairet E, Shirley MH, Petrželková KJ, Modrý D (2016): *Schistosoma mansoni* in Gabon: Emerging or Ignored? *The American journal of tropical medicine and hygiene* 95(4):849–851. doi:10.4269/ajtmh.16-0446
- Chitsulo L, Loverde P, Engels D (2004): Schistosomiasis. *Nature reviews. Microbiology* 2(1):12–13. doi:10.1038/nrmicro801
- CIA (21.10.2021): *The World Factbook*. <<https://www.cia.gov/the-world-factbook/countries/gabon/>> [Zugriff 22.10.2021]
- citypopulation (2013): *Gabonese Republic*. <<https://www.citypopulation.de/en/gabon/cities/>> [Zugriff 17.09.2021]
- CNAMGS (2015a): *Assurance maladie. Prise en charge de la femme enceinte*. <<http://www.cnamgs.net/node/137>> [Zugriff 17.09.2021]
- CNAMGS (2015b): *LA CNAMGS. Historique de la CNAMGS*. <<http://www.cnamgs.net/node/20>> [Zugriff 17.09.2021]

- Coelho PMZ, Siqueira LMV, Grenfell RFQ, et al. (2016): Improvement of POC-CCA Interpretation by Using Lyophilization of Urine from Patients with *Schistosoma mansoni* Low Worm Burden: Towards an Elimination of Doubts about the Concept of Trace. *PLoS neglected tropical diseases* 10(6):e0004778. doi:10.1371/journal.pntd.0004778
- Colley DG, Bustinduy AL, Secor WE, King CH (2014): Human schistosomiasis. *The Lancet* 383(9936):2253–2264. doi:10.1016/S0140-6736(13)61949-2
- Corstjens PLAM, Dood CJ de, Knopp S, et al. (2020): Circulating Anodic Antigen (CAA): A Highly Sensitive Diagnostic Biomarker to Detect Active *Schistosoma* Infections-Improvement and Use during SCORE. *The American journal of tropical medicine and hygiene* 103(1\_Suppl):50–57. doi:10.4269/ajtmh.19-0819
- Corstjens PLAM, Dood CJ de, Kornelis D, et al. (2014): Tools for diagnosis, monitoring and screening of *Schistosoma* infections utilizing lateral-flow based assays and upconverting phosphor labels. *Parasitology* 141(14):1841–1855. doi:10.1017/S0031182014000626
- Deelder AM, Klappe HT, van den Aardweg GJ, van Meerbeke EH (1976): *Schistosoma mansoni*: demonstration of two circulating antigens in infected hamsters. *Experimental parasitology* 40(2):189–197. doi:10.1016/0014-4894(76)90081-3
- Dejon-Agobé JC, Edoa JR, Honkpehedji YJ, et al. (2019): *Schistosoma haematobium* infection morbidity, praziquantel effectiveness and reinfection rate among children and young adults in Gabon. *Parasites & vectors*(12):577. doi:10.1186/s13071-019-3836-6
- Dejon-Agobé JC, Honkpehedji YJ, Zinsou JF, et al. (2020): Epidemiology of Schistosomiasis and Soil-Transmitted Helminth Coinfections among Schoolchildren Living in Lambaréné, Gabon. *The American journal of tropical medicine and hygiene* 103(1):325–333. doi:10.4269/ajtmh.19-0835
- Dejon-Agobé JC, Zinsou JF, Honkpehedji YJ, et al. (2018): *Schistosoma haematobium* effects on *Plasmodium falciparum* infection modified by soil-transmitted helminths in school-age children living in rural areas of Gabon. *PLoS neglected tropical diseases* 12(8):e0006663. doi:10.1371/journal.pntd.0006663
- Dood CJ de, Hoekstra PT, Mngara J, et al. (2018): Refining Diagnosis of *Schistosoma haematobium* Infections: Antigen and Antibody Detection in Urine. *Frontiers in immunology* 9:2635. doi:10.3389/fimmu.2018.02635
- Ekpo UF, Oluwole AS, Abe EM, Etta HE, Olamiju F, Mafiana CF (2012): Schistosomiasis in infants and pre-school-aged children in sub-Saharan Africa: implication for control. *Parasitology* 139(7):835–841. doi:10.1017/S0031182012000029

- Faust CL, Osakunor DNM, Downs JA, et al. (2020): Schistosomiasis Control: Leave No Age Group Behind. *Trends in parasitology* 36(7):582–591. doi:10.1016/j.pt.2020.04.012
- Freer JB, Bourke CD, Durhuus GH, Kjetland EF, Prendergast AJ (2018): Schistosomiasis in the first 1000 days. *The Lancet Infectious Diseases* 18(6):e193-e203. doi:10.1016/S1473-3099(17)30490-5
- Friedman JF, Kanzaria HK, McGarvey ST (2005): Human schistosomiasis and anemia: the relationship and potential mechanisms. *Trends in parasitology* 21(8):386–392. doi:10.1016/j.pt.2005.06.006
- Friedman JF, Mital P, Kanzaria HK, Olds GR, Kurtis JD (2007): Schistosomiasis and pregnancy. *Trends in parasitology* 23(4):159–164. doi:10.1016/j.pt.2007.02.006.
- Fusco D, Rakotozandrindrainy R, Rakotoarivelo RA, et al. (2021): A cluster randomized controlled trial for assessing POC-CCA test based praziquantel treatment for schistosomiasis control in pregnant women and their young children: study protocol of the freeBILy clinical trial in Madagascar. *Trials* 22(1):822. doi:10.1186/s13063-021-05769-6
- Gray DJ, Ross AG, Li Y-S, McManus DP (2011): Diagnosis and management of schistosomiasis. *BMJ (Clinical research ed.)* 342:d2651. doi:10.1136/bmj.d2651
- Grenfell RFQ, Taboada D, Coutinho LA, et al. (2018): Innovative methodology for point-of-care circulating cathodic antigen with rapid urine concentration for use in the field for detecting low *Schistosoma mansoni* infection and for control of cure with high accuracy. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* 112(1):1–7. doi:10.1093/trstmh/try014
- Greter H, Krauth SJ, Ngandolo BNR, Alfaroukh IO, Zinsstag J, Utzinger J (2016): Validation of a Point-of-Care Circulating Cathodic Antigen Urine Cassette Test for *Schistosoma mansoni* Diagnosis in the Sahel, and Potential Cross-Reaction in Pregnancy. *The American journal of tropical medicine and hygiene* 94(2):361–364. doi:10.4269/ajtmh.15-0577
- Hoekstra PT, Schwarz NG, Adegnika AA, et al. (2020): Fast and reliable easy-to-use diagnostics for eliminating bilharzia in young children and mothers: An introduction to the freeBILy project. *Acta tropica* 211. doi:10.1016/j.actatropica.2020.105631
- Homsana A, Odermatt P, Southisavath P, Yajima A, Sayasone S (2020): Cross-reaction of POC-CCA urine test for detection of *Schistosoma mekongi* in Lao PDR: a cross-sectional study. *Infectious diseases of poverty* 9(1):114. doi:10.1186/s40249-020-00733-z

- Honkpehedji YJ, Adegnikaa AA, Dejon-Agobe JC, et al. (2020): Prospective, observational study to assess the performance of CAA measurement as a diagnostic tool for the detection of *Schistosoma haematobium* infections in pregnant women and their child in Lambaréné, Gabon: study protocol of the freeBILy clinical trial in Gabon. *BMC infectious diseases* 20(1):718. doi:10.1186/s12879-020-05445-1
- Hotez PJ, Engels D, Gyapong M, Ducker C, Malecela MN (2019): Female Genital Schistosomiasis. *The New England journal of medicine* 381(26):2493–2495. doi:10.1056/NEJMp1914709
- Hove MM, Javangwe TV (2014): Female genital schistosomiasis: pathological features and density infestation. *The Central African journal of medicine* 60(1-4):13–16.
- Kabuyaya M, Chimbari MJ, Mukaratirwa S (2018): Efficacy of praziquantel treatment regimens in pre-school and school aged children infected with schistosomiasis in sub-Saharan Africa: a systematic review. *Infectious diseases of poverty* 7(1):73. doi:10.1186/s40249-018-0448-x
- Kalinda C, Mindu T, Chimbari MJ (2020): A systematic review and meta-analysis quantifying schistosomiasis infection burden in pre-school aged children (PreSAC) in sub-Saharan Africa for the period 2000-2020. *PloS one* 15(12):e0244695. doi:10.1371/journal.pone.0244695
- Kalinderi K, Delkos D, Kalinderis M, Athanasiadis A, Kalogiannidis I (2018): Urinary tract infection during pregnancy: current concepts on a common multifaceted problem. *Journal of obstetrics and gynaecology : the journal of the Institute of Obstetrics and Gynaecology* 38(4):448–453. doi:10.1080/01443615.2017.1370579
- Katz N, Chaves A, Pellegrino J (1972): A simple device for quantitative stool thick-smear technique in *Schistosomiasis mansoni*. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de Sao Paulo* 14(6):397–400.
- Kjetland EF, Poggensee G, Helling-Giese G, et al. (1996): Female genital schistosomiasis due to *Schistosoma haematobium* Clinical and parasitological findings in women in rural Malawi. *Acta tropica* 62(4):239–255. doi:10.1016/S0001-706X(96)00026-5
- Koga K, Kasuya S, Khamboonruang C, et al. (1991): A modified agar plate method for detection of *Strongyloides stercoralis*. *The American journal of tropical medicine and hygiene* 45(4):518–521. doi:10.4269/ajtmh.1991.45.518
- Kosinski KC, Bosompem KM, Stadecker MJ, et al. (2011): Diagnostic accuracy of urine filtration and dipstick tests for *Schistosoma haematobium* infection in a lightly infected population of Ghanaian schoolchildren. *Acta tropica* 118(2):123–127. doi:10.1016/j.actatropica.2011.02.006

- Lai Y-S, Biedermann P, Ekpo UF, et al. (2015): Spatial distribution of schistosomiasis and treatment needs in sub-Saharan Africa: a systematic review and geostatistical analysis. *The Lancet Infectious Diseases* 15(8):927–940. doi:10.1016/S1473-3099(15)00066-3
- Mafiana CF, Ekpo UF, Ojo DA (2003): Urinary schistosomiasis in preschool children in settlements around Oyan Reservoir in Ogun State, Nigeria: implications for control. *Tropical medicine & international health : TM & IH* 8(1):78–82. doi:10.1046/j.1365-3156.2003.00988.x
- Magalhães RJS, Clements ACA (2011): Mapping the risk of anaemia in preschool-age children: the contribution of malnutrition, malaria, and helminth infections in West Africa. *PLoS medicine* 8(6):e1000438. doi:10.1371/journal.pmed.1000438
- Marti H, Halbeisen S, Bausch K, Nickel B, Neumayr A (2020): Specificity of the POC-CCA urine test for diagnosing *S. mansoni* schistosomiasis. *Travel medicine and infectious disease* 33:101473. doi:10.1016/j.tmaid.2019.101473
- Masinde A, Gumodoka B, Kilonzo A, Mshana SE (2009): Prevalence of urinary tract infection among pregnant women at Bugando Medical Centre, Mwanza, Tanzania. *Tanzania journal of health research* 11(3):154–159. doi:10.4314/thrb.v11i3.47704
- Mintsa Nguema R, Mavoungou JF, Mengue Me Ngou-Milama K, et al. (2018): Baseline Mapping of Schistosomiasis and Soil Transmitted Helminthiasis in the Northern and Eastern Health Regions of Gabon, Central Africa: Recommendations for Preventive Chemotherapy. *Tropical medicine and infectious disease*(3):119. doi:10.3390/tropicalmed3040119
- Mostafa MH, Sheweita SA, O'Connor PJ (1999): Relationship between schistosomiasis and bladder cancer. *Clinical microbiology reviews* 12(1):97–111. doi:10.1128/CMR.12.1.97
- Mwinzi PNM, Kittur N, Ochola E, et al. (2015): Additional Evaluation of the Point-of-Contact Circulating Cathodic Antigen Assay for *Schistosoma mansoni* Infection. *Frontiers in public health* 3:48. doi:10.3389/fpubh.2015.00048
- Niedbala RS, Feindt H, Kardos K, et al. (2001): Detection of analytes by immunoassay using up-converting phosphor technology. *Analytical biochemistry* 293(1):22–30. doi:10.1006/abio.2001.5105
- Ochodo EA, Gopalakrishna G, Spek B, et al. (2015): Circulating antigen tests and urine reagent strips for diagnosis of active schistosomiasis in endemic areas. *The Cochrane database of systematic reviews*(3):258-263. doi:10.1002/14651858.CD009579.pub2

- Ochodo EA et al. (2015): Circulating antigen tests and urine reagent strips for diagnosis of active schistosomiasis in endemic areas (Review). *Cochrane Database of Systematic Reviews*. doi:10.1002/14651858.CD009579.pub2.
- Okonko, I. O. et al. (2009): Incidence of urinary tract infection (UTI) among pregnant women in Ibadan, South-Western Nigeria. *African Journal of Biotechnology*, (Vol. 8):pp. 6649-6657. doi:10.4314/AJB.V8I23.66370
- Oladeinde BH, Omoregie R, Oladeinde OB (2015): Asymptomatic urinary tract infection among pregnant women receiving ante-natal care in a traditional birth home in Benin City, Nigeria. *Ethiopian journal of health sciences* 25(1):3–8. doi:10.4314/ejhs.v25i1.2
- Oliveira WJ, Magalhães FdC, Elias AMS, et al. (2018): Evaluation of diagnostic methods for the detection of intestinal schistosomiasis in endemic areas with low parasite loads: Saline gradient, Helmintex, Kato-Katz and rapid urine test. *PLoS neglected tropical diseases* 12(2):e0006232. doi:10.1371/journal.pntd.0006232
- Olliaro PL, Coulibaly JT, Garba A, et al. (2020): Efficacy and safety of single-dose 40 mg/kg oral praziquantel in the treatment of schistosomiasis in preschool-age versus school-age children: An individual participant data meta-analysis. *PLoS neglected tropical diseases* 14(6):5-16. doi:10.1371/journal.pntd.0008277
- Organization, WH, UNAIDS (2002): Prevention and Control of Schistosomiasis and Soil-transmitted Helminthiasis. Report of a WHO Expert Committee. Geneva: World Health Organization, 2002
- Owusu-Bempah A, Odoi AT, Dassah ET (2013): Genital schistosomiasis leading to ectopic pregnancy and subfertility: a case for parasitic evaluation of gynaecologic patients in schistosomiasis endemic areas. *Case reports in obstetrics and gynecology* 2013:1–3. doi:10.1155/2013/634264
- Patel P, Rose CE, Kjetland EF, et al. (2021): Association of schistosomiasis and HIV infections: A systematic review and meta-analysis. *International journal of infectious diseases : IJID : official publication of the International Society for Infectious Diseases* 102:544–553. doi:10.1016/j.ijid.2020.10.088
- Pediatric Praziquantel Consortium (2021-10-20): *From the Program Lead: We have entered the pivotal Phase III stage!* | Pediatric Praziquantel Consortium. <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7360067/pdf/pntd.0008277.pdf>> [Zugriff 20.10.2021.659Z]
- Petralanda I, Yarzabal L, Piessens WF (1988): Parasite antigens are present in breast milk of women infected with *Onchocerca volvulus*. *The American journal of tropical medicine and hygiene* 38(2):372–379. doi:10.4269/ajtmh.1988.38.372

- Rapid Medical Diagnostics (13.12.2018): RMD\_Pamphlet\_13\_12\_2018\_Colourweb. 1–8. <<https://www.rapid-diagnostics.com/products.html>> [Zugriff 10.05.2021]
- Robert Koch Institut (2014): *Epidemiologisches Bulletin Nr. 20*.
- Ross AG, Vickers D, Olds GR, Shah SM, McManus DP (2007): Katayama syndrome. *The Lancet Infectious Diseases* 7(3):218–224. doi:10.1016/S1473-3099(07)70053-1
- Ross AGP, Bartley PB, Sleight AC, et al. (2002): Schistosomiasis. *The New England journal of medicine* 346(16):1212–1220. doi:10.1056/NEJMra012396
- Salawu OT, Odaibo AB (2014): Maternal schistosomiasis: a growing concern in sub-Saharan Africa. *Pathogens and global health* 108(6):263–270. doi:10.1179/2047773214Y.0000000150
- Sanneh B, Joof E, Sanyang AM, et al. (2017): Field evaluation of a schistosome circulating cathodic antigen rapid test kit at point-of-care for mapping of schistosomiasis endemic districts in The Gambia. *PloS one* 12(8):3-8. doi:10.1371/journal.pone.0182003
- Sanogo N'dA, Yaya S (2020): Wealth Status, Health Insurance, and Maternal Health Care Utilization in Africa: Evidence from Gabon. *BioMed research international* 2020:3–10. doi:10.1155/2020/4036830
- Schröder J (1975): Transplacental passage of blood cells. *Journal of medical genetics* 12(3):230–242. doi:10.1136/jmg.12.3.230
- Schulman A, Herlinger H (1975): Urinary tract dilatation in pregnancy. *The British journal of radiology* 48(572):638–645. doi:10.1259/0007-1285-48-572-638
- Sousa MS, van Dam GJ, Pinheiro MCC, et al. (2019): Performance of an Ultra-Sensitive Assay Targeting the Circulating Anodic Antigen (CAA) for Detection of *Schistosoma mansoni* Infection in a Low Endemic Area in Brazil. *Frontiers in immunology* 10:682. doi:10.3389/fimmu.2019.00682
- Sousa-Figueiredo JC, Pleasant J, Day M, et al. (2010): Treatment of intestinal schistosomiasis in Ugandan preschool children: best diagnosis, treatment efficacy and side-effects, and an extended praziquantel dosing pole. *International health* 2(2):103–113. doi:10.1016/j.inhe.2010.02.003
- Steketee RW (2003): Pregnancy, nutrition and parasitic diseases. *The Journal of nutrition* 133(5 Suppl 2):1661S-1667S. doi:10.1093/jn/133.5.1661S
- Stephenson LS, Latham MC, Ottesen EA (2000): Global malnutrition. *Parasitology* 121 Suppl:S5-22. doi:10.1017/s0031182000006478

- Stothard JR, Sousa-Figueiredo JCD, Sousa-Figuereido JC, et al. (2011): Schistosoma mansoni Infections in young children: when are schistosome antigens in urine, eggs in stool and antibodies to eggs first detectable? *PLoS neglected tropical diseases* 5(1):e938. doi:10.1371/journal.pntd.0000938
- Tadesse E, Teshome M, Merid Y, Kibret B, Shimelis T (2014): Asymptomatic urinary tract infection among pregnant women attending the antenatal clinic of Hawassa Referral Hospital, Southern Ethiopia. *BMC research notes* 7:155. doi:10.1186/1756-0500-7-155
- The World Bank (2020): *Gabon*. <<https://data.worldbank.org/country/ga>> [Zugriff 29.04.2022]
- The World Bank (2022): *GDP per capita (current US\$) - Gabon, Sub-Saharan Africa*. <<https://data.worldbank.org/indicator/NY.GDP.PCAP.CD?locations=GA-ZG>> [Zugriff 02.05.2022]
- Thigpen MC, Filler SJ, Kazembe PN, et al. (2011): Associations between peripheral Plasmodium falciparum malaria parasitemia, human immunodeficiency virus, and concurrent helminthic infection among pregnant women in Malawi. *The American journal of tropical medicine and hygiene* 84(3):379–385. doi:10.4269/ajtmh.2011.10-0186
- van Dam GJ, Dood CJ de, Lewis M, et al. (2013): A robust dry reagent lateral flow assay for diagnosis of active schistosomiasis by detection of Schistosoma circulating anodic antigen. *Experimental parasitology* 135(2):274–282. doi:10.1016/j.exppara.2013.06.017
- van Dam GJ, Wichers JH, Ferreira TMF, Ghati D, van Amerongen A, Deelder AM (2004): Diagnosis of schistosomiasis by reagent strip test for detection of circulating cathodic antigen. *Journal of clinical microbiology* 42(12):5458–5461. doi:10.1128/JCM.42.12.5458-5461.2004
- van der Werf MJ, Vlas SJ de, Brooker S, et al. (2003): Quantification of clinical morbidity associated with schistosome infection in sub-Saharan Africa. *Acta tropica* 86(2-3):125–139. doi:10.1016/S0001-706X(03)00029-9
- van Lieshout L, Polderman AM, Deelder AM (2000): Immunodiagnosis of schistosomiasis by determination of the circulating antigens CAA and CCA, in particular in individuals with recent or light infections. *Acta tropica* 77(1):69–80. doi:10.1016/s0001-706x(00)00115-7
- Waltzer WC (1981): The urinary tract in pregnancy. *The Journal of urology* 125(3):271–276. doi:10.1016/s0022-5347(17)55008-9
- World Health Organization *Global Health Estimates 2019: Disease burden by Cause, Age, Sex, by Country and by Region, 2000-2019*.
- World Health Organization (1987): *Atlas of the global distribution of schistosomiasis. Gabon*

- World Health Organization (1991): Basic laboratory methods in medical parasitology. Geneva, 1991
- World Health Organization (1993): *The control of Schistosomiasis. Second report of the WHO Expert Committee*. Geneva
- World Health Organization (2002): *Report of the WHO informal consultation on the use of praziquantel during pregnancy/lactation and albendazole/mebendazole in children under 24 months*. Geneva
- World Health Organization (2010): *Report of a meeting to review the results of studies on the treatment of Schistosomiasis in preschool-age children*.
- World Health Organization (2012): *Neglected tropical diseases. Why are some tropical diseases called "neglected"?* <<https://www.who.int/news-room/q-a-detail/neglected-tropical-diseases>> [Zugriff 18.09.2021]
- World Health Organization (2020a): *PCT Databank - Schistosomiasis*. <<https://www.who.int/teams/control-of-neglected-tropical-diseases/preventive-chemotherapy/pct-databank/schistosomiasis>> [Zugriff 17.09.2022]
- World Health Organization (2020b): *Schistosomiasis elimination: refocusing on snail control to sustain progress*. <<https://www.who.int/news/item/25-03-2020-schistosomiasis-elimination-refocusing-on-snail-control-to-sustain-progress>> [Zugriff 17.09.2022]
- World Health Organization (2021a): *Ending the neglect to attain the Sustainable Development Goals A road map for neglected tropical diseases 2021–2030*. WHO (Hrsg.)
- World Health Organization (2021b): *Schistosomiasis. Key facts*. <<https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/schistosomiasis>> [Zugriff 17.09.2022]
- Youssef AF, Abdine FH (1958): Bilharziasis of the pregnant uterus. *The Journal of obstetrics and gynaecology of the British Empire* 65(6):991–993. doi:10.1111/j.1471-0528.1958.tb08594.x

## 6. Erklärung zum Eigenanteil

Dr. Andrea Kreidenweiss und Ruben Immanuel Baral haben das Konzept der Untersuchung erarbeitet und das Vorgehen gemeinsam festgelegt. Die Daten wurden im Zuge der *freeBILy-GAB* Studie erhoben. Diese steht unter der Leitung von: Prof. Ayola Akim Adegnika, Dr. Andrea Kreidenweiss, Dr. Yabo Josiane Honkpehedji, Jean-Claude Dejon Agobé, Jean Ronald Edoa, Jeannot Zinsou. Die Leitung im Labor hatten über den Zeitraum der Untersuchung Mirabeau Mbng Ngwese, Alwyn Moure, Prince Guedéon Manouana und Anne Marie Nkoma. Die Auswertung der Daten erfolgte durch Ruben Immanuel Baral in Absprache mit Dr. Andrea Kreidenweiss. Das Manuskript dieser Dissertation (Literaturrecherche Einleitung, Material und Methoden, Ergebnisse, Diskussion, Tabellen und Graphiken) wurde ausschließlich durch Ruben Immanuel Baral erarbeitet. Die Korrektur erfolgte durch Dr. Andrea Kreidenweiss und Lea Theresa Baral.

Ulm, 21.12.2022

## Danksagung

Ganz herzlich möchte ich mich bei Dr. Andrea Kreidenweiss für die Unterstützung in allen fachlichen Fragen sowie bei Planung und Begleitung dieser Arbeit bedanken. Auch Herrn Prof. Dr. Kremsner gebührt mein Dank für seine Rolle als Doktorvater. In besonderem Maße möchte ich mich auch beim Team der Parasitologie in Lambaréné bedanken. Laclong Longchi Roméo Aimé und Nick Atiga eure Offenheit, Freude am Leben und ganz besonders eure Freundschaft haben diese Zeit zu etwas besonderem gemacht. Es ist eine Ehre euch zu kennen. Ebenfalls möchte ich mich bei all den Leuten bedanken, die bei der Datenerhebung in der *freeBily* Studie geholfen haben. All den Field-Workern, Krankenschwestern und Laboranten gilt mein besonderer Dank. Ohne diese Unterstützung wäre dies kaum möglich gewesen. Dankbar blicke ich auch auf die Leute zurück, die den Campus zum Leben erweckt haben und deren Freundschaft auch in Zukunft ein Teil meines Lebens sein wird. Anton Hoffman, Johanna Griesbaum, Jana Eybe - es ist etwas Besonderes, dass wir diese Zeit in Lambaréné zusammen erlebt haben und ich bin dankbar, auch weiterhin mit euch verbunden zu sein. Mein größter Dank gilt meiner Frau und Wegbegleiterin Theresa auf dem Weg hin zu dieser Arbeit. Dies alles zusammen erleben und erarbeiten zu können war ein großes Geschenk und ohne dein Durchhaltevermögen wäre diese Arbeit nicht zustande gekommen. Durch deine Anwesenheit hat die Zeit in Lambaréné einen Mehrwert weit über die Dissertation hinaus.