

**Differentialblutbild, Symptome und Prävalenz von Infektionen
mit *Plasmodium falciparum*, *Loa loa* und *Mansonella perstans*
bei Krankenhauspatienten in Fougamou, Gabun**

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin

der Medizinischen Fakultät
der Eberhard Karls Universität
zu Tübingen

vorgelegt von
Strecker, Simon Fabian

2016

Dekan: Professor Dr. I. B. Autenrieth
1. Berichterstatter: Professor Dr. P. G. Kremsner
2. Berichterstatter: Professor Dr. Dr. K. Hamprecht

Inhaltsverzeichnis

1	EINLEITUNG	9
1.1	Problemstellung	9
1.2	Klassifizierung und Diagnostik der Parasiten	10
1.2.1	Filarien	10
1.2.1.1	Biologie und Lebenszyklus	11
	Im Menschen	11
	Im Zwischenwirt	11
1.2.1.2	Diagnostik von Filarieninfektionen	12
1.2.1.3	<i>Mansonella perstans</i>	12
1.2.1.4	<i>Loa loa</i>	16
1.2.1.5	Therapie der Filariosen	22
1.2.2	Plasmodien	22
1.2.2.1	<i>Plasmodium falciparum</i>	24
1.2.2.2	Diagnostik von Plasmodiuminfektionen	25
1.2.2.3	Therapie der Malaria	25
1.3	Blutzellen	26
1.3.1	Eosinophile Granulozyten	26
1.3.1.1	Die Rolle der Eosinophilen bei Mikrofilarien	27
1.3.1.2	Die Rolle der Eosinophilen bei <i>Plasmodium falciparum</i>	28
1.3.2	Mischinfektionen	29
1.4	Zielsetzung	29
2	PATIENTEN UND METHODEN	31
2.1	Studienort	32
2.1.1	Klima	33

INHALTSVERZEICHNIS	5
<i>Loa loa</i>	44
<i>Plasmodium falciparum</i>	45
<i>Loa loa</i> und <i>Mansonella perstans</i> Mischinfektion	45
<i>Mansonella perstans</i> und <i>Plasmodium falciparum</i> Mischinfektion	45
<i>Loa loa</i> und <i>Plasmodium falciparum</i> Mischinfektion	46
Die Schwangeren Frauen von der CMF-Entbindungsstation	46
3.1.3 Symptome bei den CMF-Patienten	47
3.1.3.1 Fieber	47
Filarien und Fieber	47
3.1.3.2 Cephalgie	48
Filarien und Cephalgie	48
3.1.3.3 Husten	48
Filarien und Husten	49
3.1.3.4 Arthralgie	49
Filarien und Arthralgie	49
3.1.3.5 Juckreiz	49
Filarien und Juckreiz	50
3.1.3.6 Zusammenfassung der Symptome für <i>Loa loa</i> und <i>M. perstans</i> . .	50
3.1.3.7 Zusammenfassung der Symptome für <i>Plasmodium falciparum</i> . .	50
3.1.4 Hämatologische Unterschiede bei Nachweis einer parasitären Infektion der CMF-Population	50
3.1.4.1 Beschreibende Statistik der hämatologischen Veränderungen bei Nachweis einer parasitären Infektion	50
Hämoglobin (HGB) bei Nachweis einer parasitären Infektion	51
Hämoglobin bei Patienten mit Mikrofilarien gegenüber Patienten ohne Parasitennachweis	51
Thrombozyten (PLT) bei Nachweis einer parasitären Infektion	52
Eosinophile Granulozyten (EOS) bei Nachweis einer parasitären In- fektion	53
Lymphozyten (LYM) bei Nachweis einer parasitären Infektion	54
Leukozyten (LEU), Monozyten (MON), und Basophile Granulozyten (BAS) bei Nachweis einer parasitären Infektion	54
Neutrophile Granulozyten (NEU) bei Nachweis einer parasitären In- fektion	55

3.1.4.2	Analytische Auswertung pathologischer Blutbildveränderungen bei Nachweis einer parasitären Infektion	55
	Leukozytose bei Nachweis einer parasitären Infektion	55
	Anämie bei Nachweis einer parasitären Infektion	56
	Thrombopenie bei Nachweis einer parasitären Infektion	56
	Eosinophilie bei Nachweis einer parasitären Infektion	57
	Lymphozytose bei Nachweis einer parasitären Infektion	58
	Monozytose bei Nachweis einer parasitären Infektion	58
	Neutrophilie bei Nachweis einer parasitären Infektion	58
	Basophilie bei Nachweis einer parasitären Infektion	58
3.1.4.3	Parasitämie bei Mischinfektion	58
3.2	4ABC-Studie: Unkomplizierte Malaria bei afrikanischen Kindern	59
3.2.1	Alters und Geschlechtsverteilung bei den 4ABC-Kindern	59
3.2.2	Das Differentialblutbild bei den 4ABC-Kindern	59
3.2.2.1	Hämoglobinkonzentration der 4ABC-Kinder	59
3.2.2.2	Thrombozyten der 4ABC-Kinder	60
3.2.2.3	Eosinophile Granulozyten der 4ABC-Kinder	61
3.2.2.4	Lymphozyten der 4ABC-Kinder	62
3.2.2.5	Neutrophile Granulozyten der 4ABC-Kinder	63
3.2.2.6	Monozyten der 4ABC-Kinder	63
3.2.2.7	Basophile Granulozyten der 4ABC-Kinder	64
4	DISKUSSION	66
4.1	CMF	66
4.1.1	Allgemeine Anmerkungen	66
4.1.1.1	Die kranke Population	66
4.1.1.2	Die Labor-Verhältnisse	66
4.1.1.3	Das junge Durchschnittsalter	67
4.1.2	Prävalenz	67
4.1.2.1	Unterschiede bei der Prävalenz von Mikrofilarien im “Dicken Tropfen”	67
	Die Schwangeren der CMF-Entbindungsstation	67
4.1.3	Die Symptome	69
4.1.3.1	Fieber	69

<i>INHALTSVERZEICHNIS</i>	7
4.1.3.2 Symptome durch Mikrofilarien	69
4.2 Differentialblutbild	70
4.2.1 Zusammenfassung der Unterschiede im Differentialblutbild bei Parasitämie	70
4.2.1.1 Tendenz der Blutbildveränderungen bei Parasitennachweis	70
4.2.1.2 Blutbildveränderungen bei Mischinfektionen	71
4.3 4ABC	72
4.4 Schlussfolgerung und Ansatzpunkte für weitere Studien	73
5 Zusammenfassung	75
Schlussfolgerung	76
6 Erklärung zum Eigenanteil der Dissertationsschrift	86
7 Danksagung	87

Glossar

- ABC** Artemisinin-Based Combinations
- ALY** Atypische Lymphozyten
- aOR** adjustierte Odds Ratio
- BAS** Basophile Granulozyten
- CERMEL** Centre de Recherches Médicales de Lambaréné
- CM** Cerebrale Malaria
- CMF** Centre Médical de Fougamou
- CRMN** Centre de Recherches Médicales de la Ngounié
- DIFF** Differentialblutbild
- DT** Dicker Tropfen
- ECP** Eosinophil Cationic Protein
- EDN** Eosinophil Derived Neutotoxin
- EOP** Eosinophil Peroxidase
- EOS** Eosinophile Granulozyten
- EPX** Eosinophil Protein Xmp *Mansonella perstans*
- ERY** Erythrozyten
- FIL** Filarien

HGB Hämoglobinkonzentration

HCT Hämatokrit

IgE Immunglobulin E

IL Interleukin

KI Konfidenzintervall (bezieht sich immer auf 95 % Konfidenzintervall)

L3 L3 Larve

LEU Leukozyten

LIC Große unreife Zellen

LI *Loa loa*

LYM Lymphozyten

MBP Major Basic Protein

MCH Mittleres Zellhämoglobin

MCHC Mittlere Hämoglobinkonzentration eines Erythrozyten

MCV Mittleres Erythrozyteneinzelvolumen

MF Mikrofilarien

MON Monozyten

Mp *Mansonella perstans*

MPV Mittleres Thrombozytenvolumen

NEU Neutrophile Granulozyten

OR Odds Ratio

PCT Thrombokrit

PDW Thrombozytenverteilungsbreite

Pf *Plasmodium falciparum*

PLT Thrombozyten

RDW Erythrozytenverteilungsbreite

TH1 T-Helferzellen Typ 1

TH2 T-Helferzellen Typ 2

TLR Toll-like Rezeptor

Kapitel 1

EINLEITUNG

1.1 Problemstellung

Der menschliche Organismus beherbergt zeitlebens eine Vielzahl von Mikroorganismen wie Bakterien und Viren, aber auch mehrzellige Parasiten. In ihrer Gesamtheit wurden sie 2001 von Lederberg als das "Mikrobiom" des Menschen bezeichnet [1]. Viele dieser Kleinstlebewesen sind harmlos oder sogar nützlich, andere werden für Krankheit verantwortlich gemacht. Die Funktion dieses Ökosystems innerhalb des Menschen und die Auswirkungen der rasanten, letztlich vor allem auch iatrogen verursachten Veränderungen in diesem Gefüge im Laufe des letzten Jahrhunderts beginnen wir erst langsam zu verstehen [2, 3, 4, 5].

Auch bei den Helminthen gibt es einige Arten, die zu ausgeprägten Pathologien führen können wie zum Beispiel Hunde- und Fuchsbandwurm, Trichinen, Hackenwurm und lymphatische Filariosen, um nur einige zu nennen [6]. Vergleichbar mit den Erkenntnissen aus der Mikrobiom-Forschung der letzten Jahre wird auch für Wurmerkrankungen die Möglichkeit eines günstigen Einflusses auf das Immunsystem, insbesondere bezüglich der Entwicklung von Allergien und Autoimmunerkrankungen, geprüft [7].

Die in dieser Studie behandelten Filarien *Loa loa* und *Mansonella perstans* sind in Gabun weit verbreitet [8] und gehören zu den größtenteils als wenig virulent eingestuften Arten. Insbesondere für *M. perstans* kann man neben Einzelfallberichten in der Literatur häufig die Klassifizierung als apathogen finden [9, 10, 11, 12]. Da kaum charakteristische Krankheitsbilder beschrieben sind und keine gefährlichen oder zu Behinderungen führenden Manifestationen sicher damit in Verbindung gebracht werden können, ist *M. perstans* auch nicht so intensiv erforscht [13] und wird im Gegensatz zu anderen Filarien nicht als gesundheitspolitisches Problem eingeschätzt [11]. *L. loa* ist ebenfalls nur fakultativ pathogen, die Calabar- oder Kamerun-Schwellung oder die sichtbare Passage des adulten Wurms in den Skleren oder der Subkonjunktiva des Auges sind typische Symptome von *L. loa* [14]. Insgesamt scheinen die beschriebenen Krankheitssymptome jedoch weniger gefährlich zu sein als die teilweise durch medikamentöse Behandlung mit Ivermectin hervorgerufenen, oft tödlich endenden Fälle von Enzephalitis [14, 15].

Hierbei scheint nicht der Erreger an sich, sondern vermutlich eine extreme Reaktion des menschlichen Immunsystems für die Entwicklung der Erkrankung verantwortlich zu sein [16]. Da es der

therapeutische Eingriff ist, der diese Pathologie hervorruft, stellt sich die Frage, was hier das richtige Vorgehen ist.

Geprüft werden sollte, ob bereits bei der hämatologischen Untersuchung infizierter Patienten signifikante Unterschiede zu finden sind. Insbesondere sollten die Auswirkungen einer Co-Infektion von Mikrofilarien und *Plasmodium falciparum* analysiert werden: Wie verhalten sich insbesondere Hämoglobin und Thrombozyten, wenn der Organismus nicht nur mit *P. falciparum*, sondern auch mit Filarien infiziert ist? Ist die bei Filariosen beschriebene Eosinophilie [17] weiter messbar, wenn zugleich *P. falciparum* nachgewiesen wird?

Bis heute scheint noch weitestgehend unklar, welche Auswirkungen eine chronische Infektion mit Helminthen auf den Verlauf einer akuten Malariainfektion hat [18] (s. a. Kap. 1.3.2).

Die vorliegende Arbeit soll auf einfache Weise die mögliche Pathogenität von Infektionen mit Filarien und Coinfektionen von Filarien und *P. falciparum* hinsichtlich der subjektiven Beschwerden und der objektiven Veränderungen im Blutbild analysieren und somit Baseline-Daten und Ansatzpunkte für weiterführende interventionelle und molekularbiologische Studien bieten.

1.2 Klassifizierung und Diagnostik der Parasiten

1.2.1 Filarien

Filarien sind durch Vektoren (Dipteren) übertragene Parasiten. Sie gehören zu den Nematoden. Filariosen sind in der Regel chronische Infektionen. Die acht wichtigsten humanpathogenen Arten entstammen alle der Familie der Onchocercidae und haben daher einen ähnlichen Aufbau und Lebenszyklus (s. a. Abb. 1.6).

Mikrofilarien (Abb. 1.1) sind die beweglichen Eier oder Embryonen der Filarien, die in der Lage sind, in das periphere kutane Blut oder die Lymphbahnen zu gelangen, um so für die Anthropoden (Dipteren) erreichbar zu sein [19, 20].

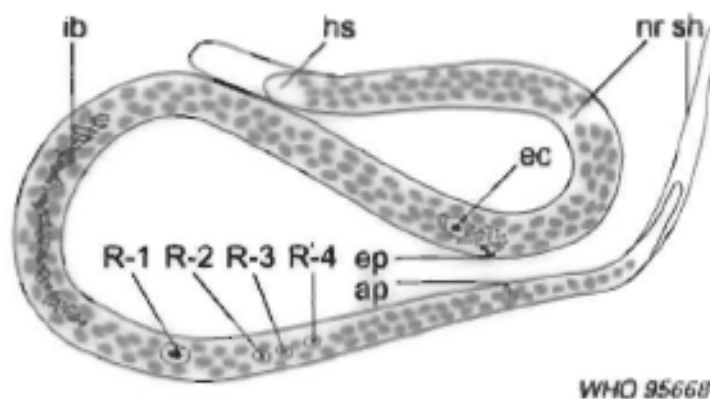


Abbildung 1.1: Typische Mikrofilarie (WHO 1997) (**hs**) head space, (**nr**) nerve ring, (**ep**) excretory pore, (**ec**) excretory cell, (**ap**) anal pore, (**ib**) innerbody, (**R**) rectal cells, (**sh**) sheath.

1.2.1.1 Biologie und Lebenszyklus

Im Menschen Adulte Filarien leben in den Lymphgefäßen (*Wucheria bancrofti*, *Brugia malayi*, *Brugia timori*), im Bindegewebe (*Onchocerca volvulus*, *L. loa*, *M. streptocerca*) oder in serösen Höhlen (*M. perstans*, *M. ozzardi*) [20]. Das Wissen über ausgewachsene Filarien ist noch sehr unvollständig. Ihre Migrationswege beim Befall, die geschlechtliche Paarung, die Eiablage und die Wanderung der Mikrofilarien im menschlichen Wirt sind nur einige der Prozesse, die nur sehr unvollständig erforscht sind. Die meisten der Erkenntnisse wurden bislang in Tiermodellen gewonnen, denn Forschung am Menschen ist aus ethischen Gründen nur begrenzt durchführbar. Die humanpathogenen Filarien gehören alle der gleichen Familie an, sodass es möglich ist, die Forschungsergebnisse von zoonotischen Onchocercidae zumindest teilweise auf den Menschen zu übertragen [19].

Beim Stich einer infizierten Mücke gelangen die infektiösen L3 Stadien der Filarien auf die Haut des Menschen. Sie werden, anders als Plasmodien, nicht direkt von dem Insekt injiziert, sondern wandern selbstständig durch den Stichkanal [21].

Im Wirt angekommen, beginnen die Larven unmittelbar damit, sich weiter zu entwickeln. Bereits wenige Tage nach der Inokulation findet die dritte Häutung statt. Nachdem die Filarien sich für einen unterschiedlich langen Zeitraum im vierten Larven Stadium weiter ausdifferenziert haben und weiter gewachsen sind, kommt es zur vierten und letzten Häutung.

Die geschlechtsreifen Weibchen produzieren, nachdem sie von den männlichen Würmern befruchtet wurden, täglich Zehntausende von Mikrofilarien [19], die nach ihrer Freisetzung in die Haut oder ins Blut wandern, wo sie dann nachweisbar sind. Die Zeitspanne bis zum ersten Auftreten der Mikrofilarien unterscheidet sich von Art zu Art und ist zudem vom Immunsystem des Wirtes abhängig. Es konnte experimentell nachgewiesen werden, dass die Immunantwort auf die Filarieninfektion in der Lage ist, die Überlebensrate der Mikrofilarien zu reduzieren oder sogar alle Mikrofilarien zu eliminieren, auch wenn im Uterus des weiblichen Wurms noch reichlich Larven vorhanden sind [22, 23, 24].

Im Zwischenwirt Sie werden bei der Blutmahlzeit von Moskitos (*Wucheria* und *Brugeria* Arten: *Culidicae spp.*), Bremsen (*L. loa*: *Chrysops spp.*), Kriebelmücken (*Onchocerca volvulus*: *Simulium spp.*) oder Gnitzen (*Mansonella* Arten: *Culicoides spp.*) aufgenommen, die den Larven als Zwischenwirte dienen [25].

In dem Insekt gelangen die Mikrofilarien, sofern sie nicht im oberen Verdauungstrakt mechanisch zerstört wurden, in den Mitteldarm. Hier durchdringen sie die Epithelzellen und die Basalmembran und gelangen auf diesem Weg in das Hämocoel. Als nächstes dringen die Mikrofilarien in eine Zelle ein und verwandeln die angrenzenden Zellen in ein Synzytium - wenn das befallene Gewebe nicht bereits synzytial aufgebaut ist, wie etwa die Muskelzellen. In der Folge entwickeln sich die Larven weiter. Die Mikrofilarien erreichen das L1 Stadium, das sich hauptsächlich durch den Abschluss der Organogenese auszeichnet. Anschließend kommt es dann zur ersten Häutung und damit zur Haupt-Wachstumsphase, dem L2 Stadium [25].

Im weiteren Verlauf kommt es zur zweiten Häutung, und die Larve verwandelt sich in die freibewegliche, widerstandsfähige Form, die als infektiöse Larve oder L3 Stadium bezeichnet wird. Nun

setzt sich die Wanderung durch das Insekt fort und über das Hämocoel begeben sich die infektiösen Larven in den Stechapparat ihres Zwischenwirts [19]. Die Aktivierung der Larven erfolgt in vielen Fällen vermutlich durch die Körpertemperatur des Endwirts [11]. Beim Stich durchdringen sie das Chitin des Stechapparates und gelangen so auf die Haut des Wirtes, in den sie meist durch Nutzung des Stichkanals eindringen [21].

Man geht davon aus, dass weltweit über 200 Millionen Menschen von Filarien infiziert sind [26]. Hierdurch ergibt sich eine große Relevanz für die Gesundheitsversorgung sowie deren gesellschaftspolitische Auswirkungen [9, 27].

1.2.1.2 Diagnostik von Filarieninfektionen

Die Diagnostik von Filarienerkrankungen ergibt sich, neben einer entsprechenden Exposition, aus dem Beschwerdebild, dem klinischen Aspekt der Erkrankung, dem mikroskopischen Nachweis von Mikrofilarien (MF), der makroskopischen Identifizierung adulter Würmer und aus immundiagnostischen Untersuchungen, die jedoch nur in Speziallabors hochspezifisch sind [26].

Da die meisten dieser Methoden im Kontext der vorliegenden Studie nicht anwendbar waren, handelt es sich hier nicht um Filariosen im Allgemeinen, sondern lediglich um Mikrofilariämien im speziellen Sinne, genauer: um Mikrofilariämien mit einer in 10 µl Blut nachweisbaren Parasitämie. Da davon ausgegangen wird, dass die Mikrofilarien in einer Blutprobe gleichmäßig verteilt sind [28], ergibt sich hiermit eine minimal detektierbare Parasitämie von 1 Mikrofilarie pro 10 µl (100 Mikrofilarien pro ml). (Siehe Methoden 2.4.3)

1.2.1.3 *Mansonella perstans*

Die Verbreitung von *M. perstans* (früher *Dipetalonema perstans*) reicht von weiten Teilen Afrikas bis zu Teilen Zentral- und Südamerikas und den Karibischen Inseln (Abb. (1.2)). In Asien kommt *M. perstans* nicht vor [29].

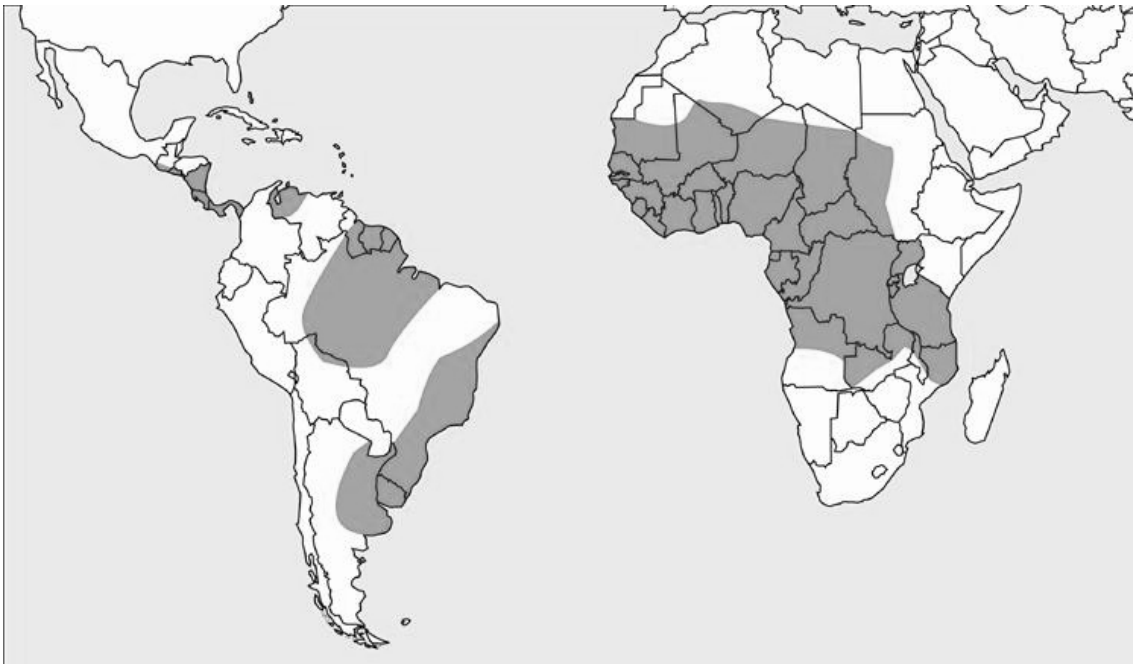


Abbildung 1.2: Verbreitung von *M. perstans*. Quelle: CD-Rom Illustrated Notes On Tropical Medicine. ITM, Antwerp.

Die Übertragung von *M. perstans* erfolgt durch *Culicoides* (Gnitzen)-Arten wie z.B. *Culicoides austeni* oder *C. grahamii*. Die Insekten sind sehr klein (ca. 1,5 mm) und daher nicht leicht zu sehen (Abb. 1.3 & (1.4)). Sie besitzen sehr kurze Mundwerkzeuge und können daher kaum durch Kleidung stechen. Die Mücken haben ein aggressives, sehr unangenehmes Stechverhalten. Sie sind generell tag- und nachtaktiv, je nach Art jedoch vor allem in den Dämmerungstunden aktiv und kommen auch in unmittelbarer Nähe zu menschlichen Siedlungen und im Inneren von Behausungen vor [30].

Culicoides spp. treten meist in großer Zahl auf und können so ein ökonomisches Problem darstellen, da sie Aufenthalte im Freien nahezu unmöglich machen [31]. Imprägnierte oder sehr feinmaschige Moskitonetze und Repellentien wie DEET können einen gewissen Schutz bieten [32].



Abbildung 1.3: *Culicoides* spp. (mit Spitze einer Heftklammer der Größe 24/6) Quelle: Strecker; CRMN 2008.



Abbildung 1.4: *Culicoides* spp. auf Daumen (gleiches Exemplar wie 1.3) Quelle: Strecker; CRMN 2008.

Beim Stechvorgang erfolgt die Übertragung der infektiösen 3. Larve (L3) von *M. perstans* durch die *Culicoides* Mücken auf den Menschen. Nach der Transmission entwickeln sich die L3 auf bislang unbekanntem Weise in einem nicht bekanntem Zeitraum zu adulten Würmern, die eine Größe von 50-80 mm x 80-120 µm (Weibchen) bzw. 35-45 mm x 50-60 µm (Männchen) erreichen (Abb. 1.6) [11]. Die Adulten finden sich in Peritoneal- und Pleurahöhle sowie im perirenenalen Fett und im Pericard [29, 33].

Die voll entwickelten Weibchen beginnen nach einer ebenfalls unbekanntem Präpatenzperiode mit

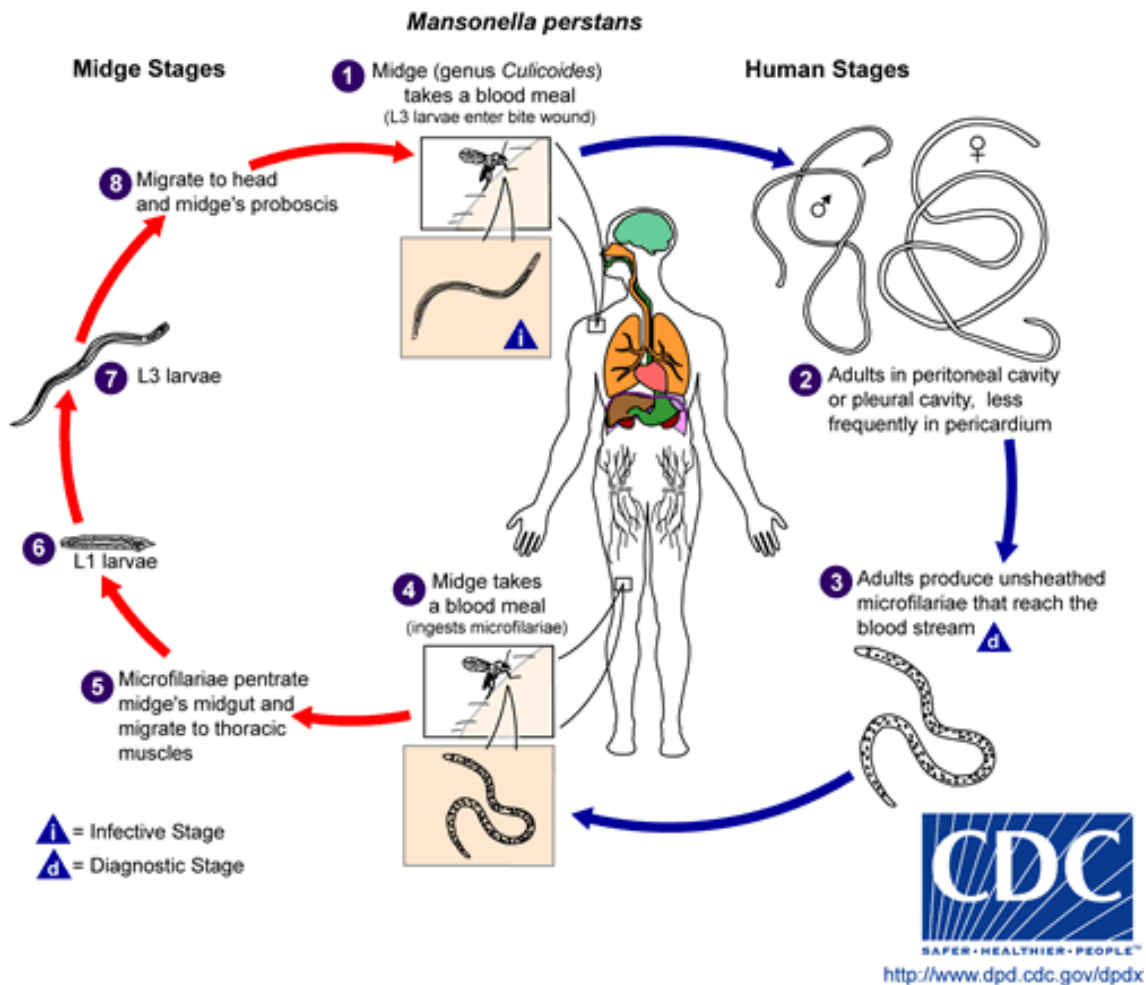
der Freisetzung der Mikrofilarien in oft großer Anzahl. Diese Embryonen wandern in das Blutssystem ein. Sie sind etwa $190-200 \times 4,0-4,5 \mu\text{m}$ groß und zeichnen sich durch ihre bis zum stumpfen Hinterende reichenden Kerne aus (Abb. 1.5). Hinsichtlich des Vorkommens der endosymbiotischen Wolbachiabakterien finden sich in der Literatur widersprüchliche Ergebnisse: Mikrofilarien in Gabun und Uganda waren negativ [34, 35], während Mikrofilarien in Mali positiv getestet wurden [36, 37]. Ob es sich hierbei um methodische Unterschiede oder um das Vorhandensein unterschiedlicher *M. perstans*-Stämme in unterschiedlichen Teilen Afrikas handelt, ist bislang nicht geklärt [11].



Abbildung 1.5: Mikrofilarie von *M. perstans* (und polymorphkerniger Granulozyt) durch 100x Objektiv. Quelle: Strecker; CRMN 2008.

Produktion, Überlebensrate und Nachweisbarkeit von Mikrofilarien im Blut sind auch von der Immunantwort des Wirtes bzw. der Sensitivität des Nachweisverfahrens abhängig. Die Anzahl der *M. perstans* im Blut kann von Tag zu Tag schwanken, ist aber, über einen längeren Zeitraum betrachtet, größtenteils konstant [38].

Die Infektion führt bei *M. perstans* meist zu keiner klinisch relevanten Symptomatik. In seltenen Fällen kommt es durch Induktion einer Immunantwort zu transienten Hautschwellungen, Fieber, Juckreiz, Gelenkschmerzen, Erschöpfung oder psychischen Symptomen [39].

Abbildung 1.6: Lebenszyklus von *M. perstans*

Während eine infizierte Mücke (Gattung *Culicoides*) ihre Blutmahlzeit nimmt, gelangen die infektiösen Stufe-Drei (L3) Larven auf die Haut des menschlichen Wirtes und dringen an der Bissstelle ein (1). Sie entwickeln sich zu adulten Würmern, die Körperhöhlen (meist Peritoneal- oder Pleurahöhle, seltener Pericard) besiedeln (2). Die ausdifferenzierten Würmer produzieren unbeschaidete Mikrofilarien, die den Blutstrom erreichen (3). Bei einer Blutmahlzeit nimmt eine Mücke Mikrofilarien auf (4). Nach der Aufnahme wandern die Mikrofilarien vom Mitteldarm des Arthropoden durch das Hämozoel in die Thoraxmuskulatur (5). Dort entwickeln sie sich zu Stufe-Eins (L1) Larven (6) und danach zu den infektiösen Stufe-Drei Larven (7). Die infektiöse Stufe-Drei Larve wandert zum Stechapparat der Mücke (8) und kann bei einer Blutmahlzeit der Mücke einen weiteren Menschen infizieren (1). Quelle: CDC. <http://www.dpd.cdc.gov/dpdx>

1.2.1.4 *Loa loa*

Die Verbreitung von *L. loa* ist auf den Regenwald und die Sumpfgelände von Zentral- und Westafrika beschränkt (Abb. 1.7). Etwa 14,4 Millionen Menschen in Afrika leben in Gebieten mit hohem Infektionsrisiko [40]. Gelegentlich wird eine Loiasis auch als importierte Infektion beobachtet [41].

In mehreren Affenarten (z.B. *Mandrillus leucophaeus* oder auch bei Gorillas) kommen ähnliche *Loa*-Parasiten vor wie beim Menschen. Die Mikrofilarien der Affen-*Loa* sind deutlich länger und haben im Unterschied zu den humanpathogenen *L. loa* eine zirkadiane Periodizität mit einem vermehrten Auftreten der Mikrofilarien in der Nacht [42]. Die Frage, ob es zu einer Übertragung

zwischen den verschiedenen Spezies kommen kann und inwieweit dies von epidemiologischer Bedeutung ist, scheint noch nicht abschließend geklärt [43, 44, 45].

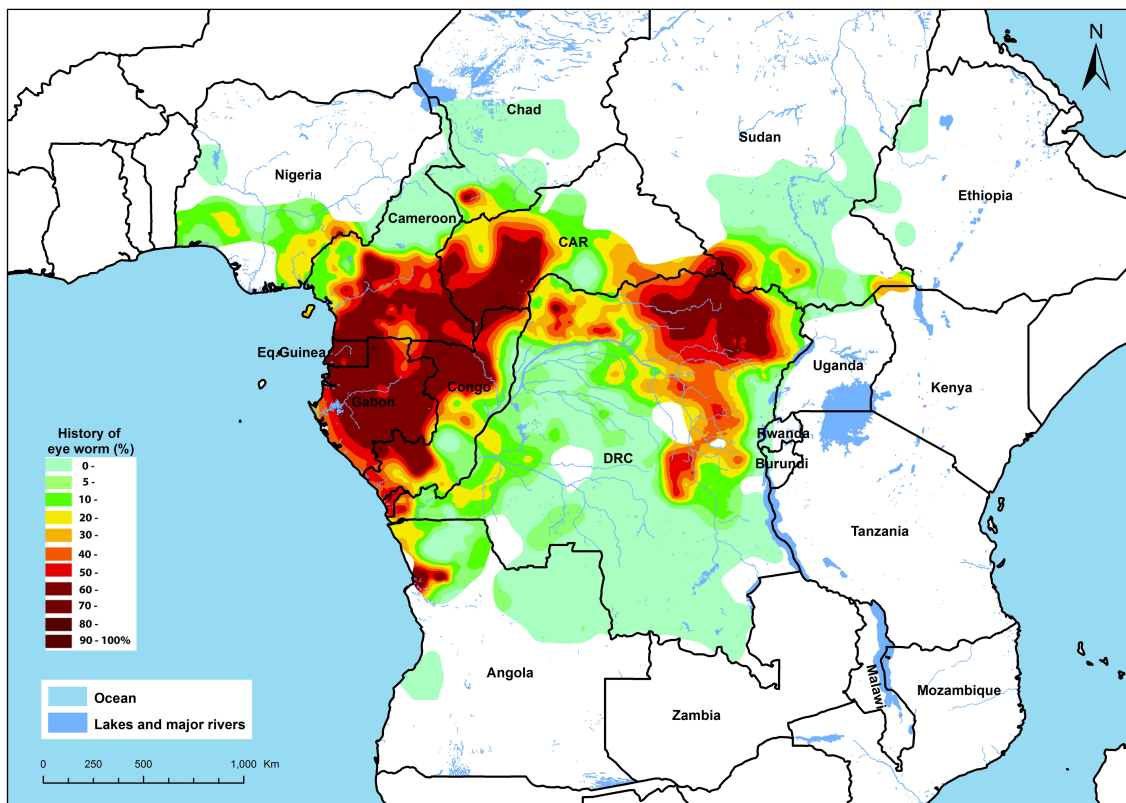


Abbildung 1.7: Karte zur geschätzten Prävalenz von Augenwurm-Anamnese in Afrika. Quelle: The Geographic Distribution of *L. loa* in Africa: Results of Large-Scale Implementation of the Rapid Assessment Procedure for Loiasis (RAPLOA). doi:10.1371/journal.pntd.0001210.g004

Die Übertragung der infektiösen Drittlarve (L3) erfolgt über *Tabaniden* (Bremser) der Gattung *Chrysops* (z.B. *Chrysops dimidiata*, *C. silacea*) [46] (Abb. 1.8). Die Vektoren sind tagaktiv. Im Gegensatz zu *Culicoides* kommen die Vektoren der Loiasis normalerweise nur im Regenwald und nicht - oder nur in geringerer Zahl - in Siedlungen und Häusern vor. Kohlendioxid der ausgeatmeten Luft sowie Rauch von Holzfeuer scheinen die Bremser anzuziehen, was dazu führt, dass im Wald Arbeitende ein deutlich höheres Risiko haben, mit *L. loa* infiziert zu werden [47, 48].



Abbildung 1.8: *Chrysops*, dorsal view. Quelle: CD-Rom Illustrated Notes On Tropical Medicine. ITM, Antwerp.

Der Entwicklungszyklus gleicht dem von *M. perstans* (Abb. 1.6). Unterschiede bestehen lediglich im Habitat der adulten Würmer (Bindegewebe), dem Vektor (*Chrysops spec.*), dem Vorhandensein einer Eihaut bei den *L. loa* Mikrofilarien und der zirkadianen Periodizität der Mikrofilarien mit maximalen Blutkonzentrationen während des Tages [49].

Die adulten Weibchen sind 50-70 x 0,5 mm groß, die Männchen mit 30-35 x 0,4 mm kleiner. Die beschiedenen Mikrofilarien werden ca. 290 x 7,5 µm groß und zeichnen sich durch ihre großen bis zum sich verjüngenden Hinterende reichenden Kerne sowie einen kurzen kernfreien Kopfabschnitt aus [50]. *L. loa* ist somit deutlich größer als *M. perstans* (1.9).

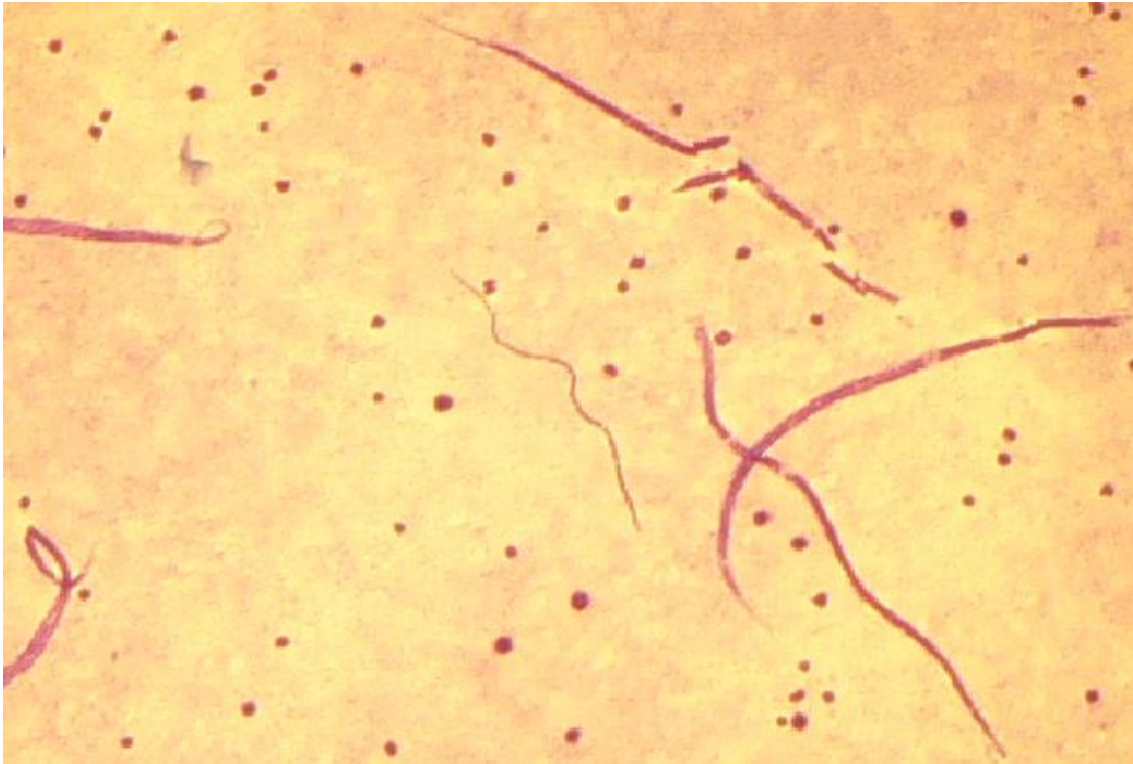


Abbildung 1.9: Mikrofilarien von *L. loa* (und zentral im Bild eine von *M. perstans*), Giemsa-Färbung, 10x Objektiv. Quelle: Strecker; CRMN 2008

Die ersten klinischen Symptome können ab fünf Monaten nach Infektion auftreten [51], jedoch auch erst nach 13 Jahren [52].

Eine Besonderheit der Loiasis ist die Durchwanderung der Konjunktiva durch die adulten Würmer, die dort makroskopisch sichtbar sind, weswegen *L. loa* auch als „Augenwurm“ bezeichnet wird (Abb. 1.12). Ein weiteres Symptom sind die als „Calabar-Schwellung“ bezeichneten allergischen Ödeme, welche an allen Körperstellen, zumeist jedoch im Bereich der Hand- und Fußgelenke auftreten können (Abb. 1.10 & 1.11). Müdigkeit, generalisierter Pruritus und Gelenkbeschwerden können eine Calabar-Schwellung begleiten. Nach Stunden oder Tagen verschwindet die Schwellung, um in Intervallen unterschiedlicher Zeitdauer erneut zu erscheinen [43].

Boussinesq beschreibt in seiner 2006 erschienen Publikation über Loiasis zahlreiche weitere mögliche Organ-Manifestation: Nieren (nephrotisches Syndrom und akutes Nierenversagen), ZNS (Post-Ivermectin-Therapie Enzephalitis, Asthenie, Cephalgie, sensible-/motorische Defizite sowie Kleinhirn-/Gleichgewichts- oder psychische Störungen), Herz (Endomyokardfibrose), Lungen (Infiltration und Pleuraergüsse), Gelenke (Arthralgie, Polyarthrit), Augen (Verblindung), Hoden (Hydrocoele) sowie mögliche hormonelle Störungen bei Männern und Frauen [43].



Abbildung 1.10: Calabar-Schwellung an der linken Hand eines vierjährigen Mädchens. Quelle: Strecker; CRMN 2008



Abbildung 1.11: Lidödem bei einem achtjährigen Jungen. Quelle: Strecker; CRMN 2008.



Abbildung 1.12: Toter subkonjunktivaler *L. loa* Wurm. Quelle: Images in Clinical Tropical Medicine. Am. J. Trop. Med. Hyg., 84(2), 2011, p. 183. doi:10.4269/ajtmh.2011.10-0526

1.2.1.5 Therapie der Filariosen

Ivermectin (Makrolid) ist ein sehr wirksamer Stoff gegen Nematoden aber auch gegen Läuse und Milben. Es ist sehr aktiv gegen Adulte und Larven der meisten gastrointestinalen Nematoden und Lungenwürmer sowie die Mikrofilarien in Blut und Bindehaut jedoch weit weniger gegen adulte Filarien und unwirksam gegen Bandwürmer (Trematoden und Cestoden). Auch bei Rundwürmern vermutet man Resistenzen.

Die größte Bedeutung von Ivermectin liegt in Kampagnen gegen *Onchocerca* und lymphatische Filariosen, wobei es bei Koinfektion mit *L. loa* zu schweren, oft tödlich verlaufenden Nebenwirkungen (Enzephalitis) kommen kann.

DEC (Diethylcarbamazin) wird vor allem gegen lymphatische Filariosen eingesetzt. Aufgrund der schweren Nebenwirkungen bei der Therapie von *Onchocerca* (Verblindung) wurde die Anwendung entsprechend eingeschränkt.

Albendazol als Mittel gegen "soil-transmitted" Helminthen hat eine gewisse Bedeutung im Rahmen von Kombinationstherapien zusammen mit DEC oder Ivermectin, wobei auch eine direkte Wirkung gegen Filarien diskutiert wird.

Tetrazykline und Rifampicin haben einen gewissen Stellenwert als Chemotherapie gegen die bei einigen Filarien vorkommenden Endosymbionten (Wolbachia-Bakterien) .

Trotz langjähriger Forschung ist derzeit noch kein Makrofilarizid zur Therapie zugelassen. In Tierversuchen konnte jedoch bereits die Wirksamkeit von Moxidetin, Emodepsid und Flubendazol gegen *Onchocerca* und *Brugia* gezeigt werden [53].

1.2.2 Plasmodien

Parasiten der Spezies *Plasmodium* (Apicomplexa), sind die Erreger der Malaria. Man kennt heute etwa 200 Arten, die Reptilien, Vögel und Säugetiere befallen können [54]. Die human pathogenen Plasmodium-Arten sind vor allem *P. falciparum* (Malaria tropicana), *P. vivax* (Malaria tertiana), *P. ovale* (Malaria tertiana), *P. malariae* (Malaria quartana) und *P. knowlesi*, ein Erreger, als dessen natürlicher Wirt bislang Makaken (*Macaca fascicularis* und *Macaca nemestrina*) in Südost-Asien galten, dem jedoch zunehmend humanpathogene Bedeutung zukommt [55, 56]. Die Übertragung der Parasiten auf den Menschen erfolgt durch den Stich einer infizierten, weiblichen Mücke der Gattung *Anopheles* (*A. gambiae* und andere Arten) [57].

Die WHO gibt für das Jahr 2013 die Zahl von 198 Millionen Malaria-Fällen an, die zu etwa 584000 Todesfällen - vor allem unter afrikanischen Kindern - geführt haben. Seit dem Jahr 2000 ist somit die Mortalitätsrate weltweit um 47% gesunken; unter afrikanischen Kindern sind es sogar 58%.

Etwa die Hälfte der Weltbevölkerung lebt mit dem Risiko einer Malariainfektion, insbesondere die Menschen in Ländern der dritten Welt. Die meisten Fälle und tödlichen Verläufe finden sich in Afrika südlich der Sahara . 2014 trat Malaria in 97 Ländern und Gebieten auf [58] (Abb. 1.13).

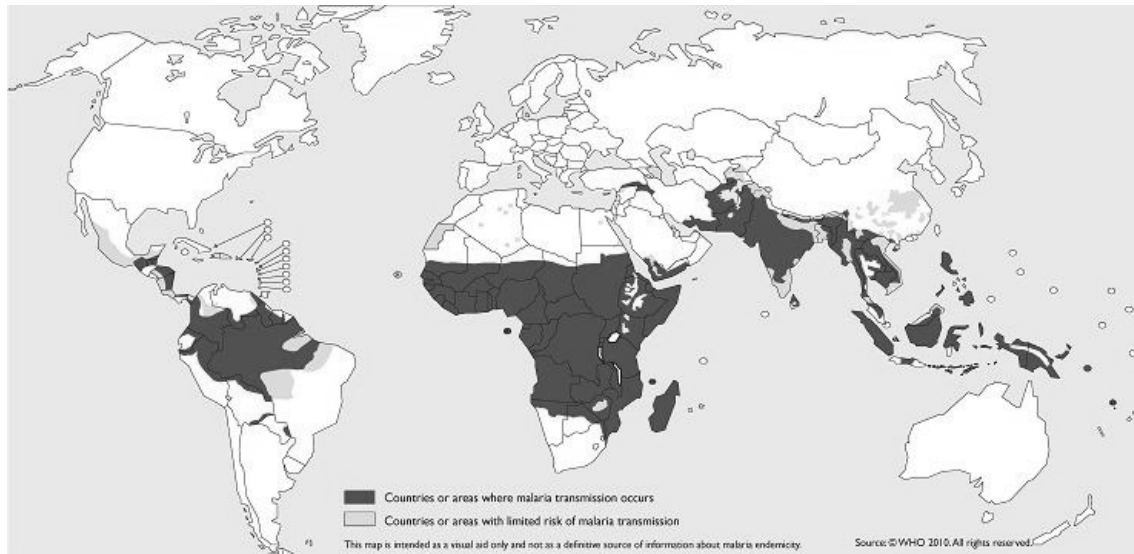


Abbildung 1.13: Malaria, Länder und Gebiete mit Gefahr einer Transmission, 2009 (Quelle: WHO 2010).

Dunkelgraue Bereiche zeigen Gebiete mit hohem, hellgraue Bereiche Gebiete mit eingeschränktem Übertragungsrisiko. Die weiß dargestellten Länder gelten als frei von Malaria.

so Zygoten (9). Die Zygoten wiederum werden mobil und verlängern sich (Ookineten) (10). Diese dringen in die Wand des Mitteldarms des Moskitos ein und entwickeln sich dort zu Oozysten (10). Die Oozysten wachsen, platzen und setzen Sporozoiten frei (12), welche in die Speicheldrüsen des Moskitos wandern. Mit dem Eindringen der Sporozoiten in einen neuen menschlichen Wirt (1) startet ein neuer Malarialebenszyklus. [59]

1.2.2.2 Diagnostik von Plasmodiuminfektionen

Der Goldstandard in der Malariadiagnostik ist der lichtmikroskopische Plasmodiennachweis im "Dicken Tropfen" bzw. im dünnen Blutausschlag nach Giemsa-Färbung [60].

Im "Dicken Tropfen" werden die Erreger im Vergleich zum Blutausschlag um das Sechs- bis Zehnfache angereichert. Zur Abschätzung der Parasitämie stehen die Lambaréné-Methode [61] (s. a. Kap. 2.4.3) oder die Berechnung über die Zählung der Parasiten und der Leukozyten in den untersuchten Gesichtsfeldern im Verhältnis zur Gesamtleukozytenzahl im Blutbild des Patienten [62] zur Verfügung. Werden bei einem "Dicken Tropfen" 200 Blickfelder (Ölimmersionsobjektiv 100x) durchgemustert, so entspricht das in etwa 0,5 µl Blut. Eine Parasitendichte von 2 bis 4 pro µl wäre somit eben noch erfassbar [63].

Eine Differenzierung der vier Spezies ist aufgrund morphologischer Kriterien möglich und sollte in jedem Fall aus therapeutischen Gründen durchgeführt werden [63].

Der Nachweis von Plasmodien beweist bei entsprechender Klinik das Vorliegen einer Malaria, dagegen schließt ein negatives Untersuchungsergebnis eine Infektion nicht sicher aus. Zu Beginn der klinischen Erscheinungen kann die Parasitendichte im peripheren Blut noch sehr gering sein. Bei klinischem Verdacht und negativen Befunden muss die Untersuchung daher mehrmals wiederholt werden [64].

Weitere Methoden zur Malariadiagnostik sind Schnelltests (Antigennachweis), PCR (Malaria-DNA-Nachweis) und serologische Untersuchungsmethoden [63].

1.2.2.3 Therapie der Malaria

Neben allgemeinen, symptomorientierten Maßnahmen richtet sich die Therapie unter anderem auch nach der Plasmodium Spezies. An dieser Stelle soll lediglich ein kurzer Überblick der aktuellen Empfehlungen zur Therapie bei *P. falciparum* Infektionen gegeben werden.

Für die schwere Malaria, konnte in klinischen Studien die Überlegenheit von Artesunat i.v. gegenüber Chinin i.v. gezeigt werden [65, 66, 67].

Bei unkomplizierter Malaria, bzw. wenn eine orale Therapie durchführbar ist, empfiehlt die WHO als erste Wahl Kombinationen aus einem Artemisinin-Derivat zusammen mit Mefloquin, Amodiaquin, Lumefantrin, Piperaquin oder Sul-fadoxin-Pyrimethamin (ACTs) [68].

Mefloquin, Atovaquon-Proguanil, Halofantrine, Doxycyclin und Clindamycin [69] sind weitere Alternativen, die jedoch zum Teil in Deutschland nicht zugelassen sind [70].

Resistenzen gegen Antimalaria-Medikamente (Amodiaquin, Chloroquin, Mefloquin, Quinine, Sulfadoxinpyrimethamin und Artemisinin-Monopräparate) wurden bereits beobachtet, wobei sich ausgeprägte geographische Unterschiede hinsichtlich der Häufigkeit und der Ausbreitung zeigen [71].

1.3 Blutzellen

Das Blut besteht aus verschiedenen zellulären Anteilen, welche mit vollautomatisierten Hämatologie-Analysegeräten quantifiziert werden können. Man unterscheidet Erythrozyten, Thrombozyten, Lymphozyten, Monozyten, Neutrophile, Eosinophile und Basophile.

1.3.1 Eosinophile Granulozyten

Vor über 120 Jahren entdeckte Paul Ehrlich eine Population granulierter Leukozyten mit einer besonderen Affinität zum Farbstoff Eosin, welche er als "Eosinophile Granulozyten" bezeichnete [72]. In Blut machen die Eosinophilen normalerweise etwa 1-4 % der Leukozyten aus. Ihre Lebensdauer beträgt mehrere Tage, wobei ihre Verweildauer im Blut nur etwa 4-10 Stunden beträgt [73]. Eosinophile Granulozyten haben einen Durchmesser von etwa 12-17 μm , und ihr Zellkern ist in der Regel doppelt gelappt [74].

Die besonderen Färbeeigenschaften der Eosinophilen werden durch azidophile (eosinophile) Granula hervorgerufen, welche modifizierten Lysosomen entsprechen, die von einer Membran umschlossen sind. Sie enthalten unter anderem Peroxidase (EPO), Arylsulfatase, β -Glucuronidase, Kathepsin, Ribonuclease sowie basische arginin- bzw. lysinreiche Proteine (major basic protein = MBP, eosinophil cationic protein = ECP, eosinophil derived neurotoxin = EDN, eosinophil protein X = EPX)[73]. Diese Stoffe haben unter anderem zytotoxische Wirkung und können Dysfunktion und Zerstörung von Geweben bewirken. Sie werden von den Eosinophilen vorwiegend kontrolliert exozytiert [75] und können als „piecemeal“ selektiv freigesetzt werden [76].

Die eosinophilen Granulozyten sind auch zur Phagozytose und Antigenpräsentation befähigt [77] und können zudem eine Vielzahl von Mediatoren, Cytokinen und Chemokinen sezernieren (Abb. 1.15) (Review in [78]).

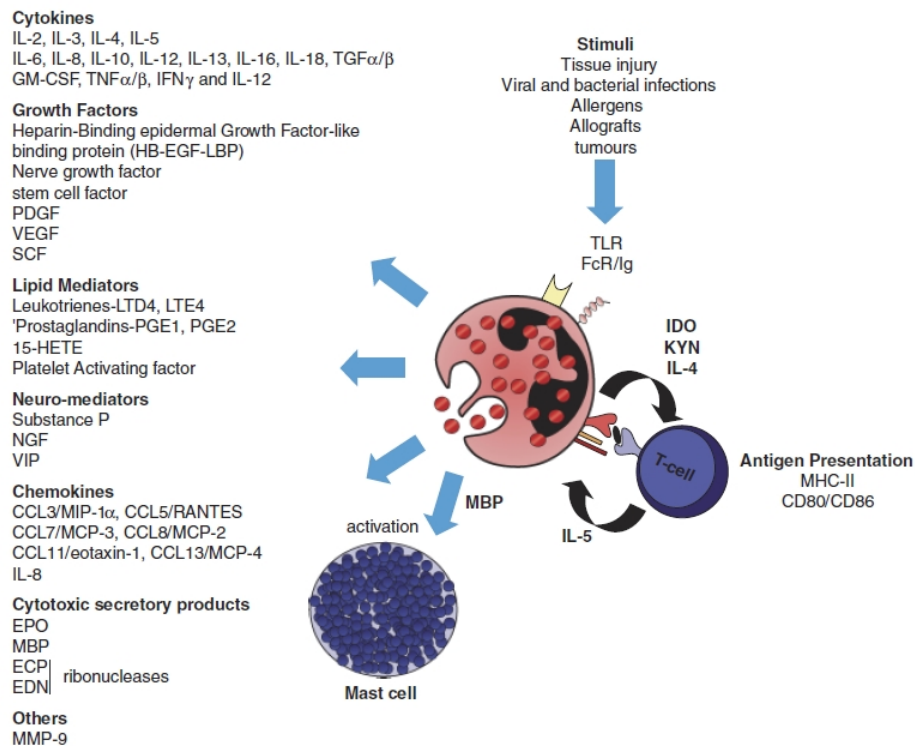


Abbildung 1.15: Schematische Darstellung der möglichen Interaktionen eines Eosinophilen. (Aus: Simon PH et al. Eosinophils: Biological Properties and Role in Health and Disease. Clinical and Experimental Allergy 38, 709-750.)

1.3.1.1 Die Rolle der Eosinophilen bei Mikrofilarien

Auch wenn die Zytokinanantwort auf Helminthinfektionen um einiges komplexer ausfällt, als initial angenommen wurde, so bleiben doch die Eosinophilie und erhöhte Serum IgE-Spiegel charakteristisch für die Infektion und werden begleitet von IL-4 und IL-5 Produktion [79]. Die Produktion von Th2 Zytokinen (speziell IL-5) durch Zellen im infizierten Gewebe fördert die Expansion der Stammzellen im Knochenmark, was zur Ausbildung einer Blut- und Gewebseosinophilie führt [80, 81, 82].

Wenngleich *in vitro* Studien darauf hinweisen, dass Eosinophile die Parasiten durch Sekretion von zytotoxischen Proteinen und reaktiven Sauerstoffspezies zerstören können, bleiben die Resultate der *in vivo* durchgeführten Studien kontrovers [79, 83, 84, 85].

Auch wenn in den letzten Jahren viel über die Biologie der Eosinophilen bekannt wurde [86] und ihre Rolle in der Pathogenese von allergischen [87], gastrointestinalen [88] und hypereosinophilen Erkrankungen beschrieben wurde, so bleibt trotz der Fülle von an Mensch und Tier durchgeführter Studien doch weiterhin unklar, welche Bedeutung ihnen bei parasitären Infektionen zukommt [79, 89].

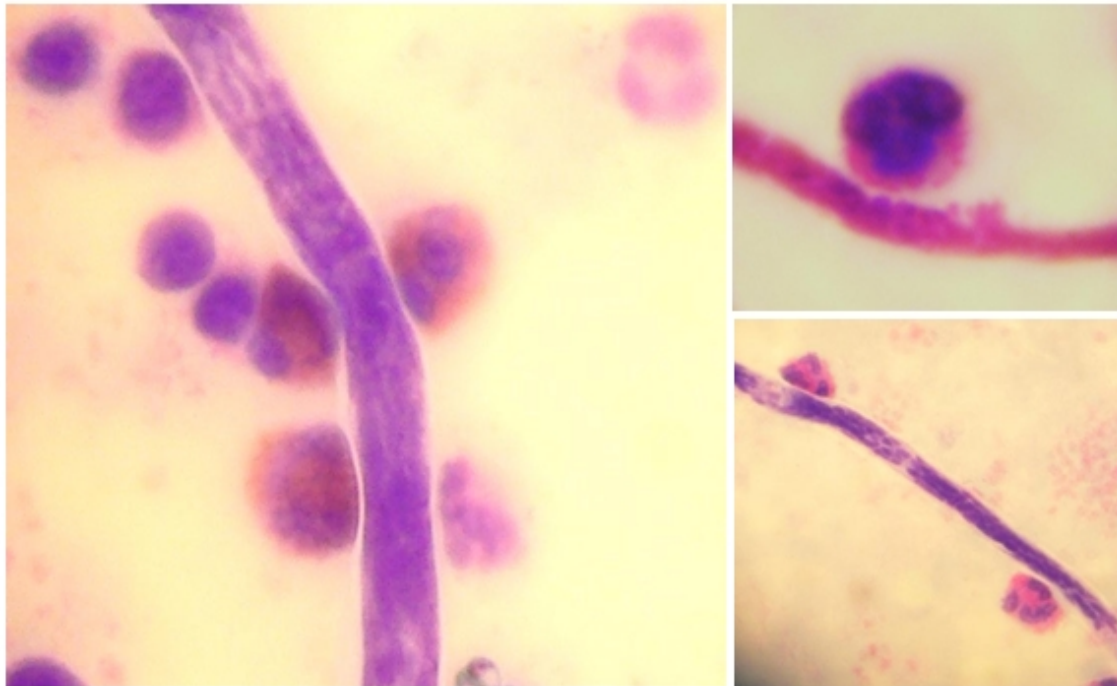


Abbildung 1.16: Eosinophile und Mikrofilarien im Lichtmikroskop (Giemsafärbung). links: *L. loa* mit Eosinophilen und Lymphozyten. rechts oben: *M. perstans* mit Eosinophilen (100 fache Vergrößerung); rechts unten: *L. loa* mit zwei Eosinophilen. Quelle: Strecker; CRMN 2008.

1.3.1.2 Die Rolle der Eosinophilen bei *Plasmodium falciparum*

Die Rolle der eosinophilen Granulozyten bei der Infektion mit *P. falciparum* ist ebenfalls unklar. In mehreren Studien wird im Zusammenhang mit symptomatischer Malaria eine Eosinopenie mit Ausprägung einer Eosinophilie nach Malariatherapie beschrieben [90, 91, 92, 93]. Welcher Mechanismus hierfür verantwortlich ist und ob es sich um eine absolute Eosinopenie oder lediglich um eine Verlagerung vom Blut in Gewebe oder Organe handelt, ist nicht eindeutig geklärt [94]. Bei Versuchen mit durch *P. berghei* infizierten Ratten wurde eine Ansammlung von Eosinophilen in Geweben wie Milz und Knochenmark bei gleichzeitiger Verminderung der eosinophilen Granulozyten im peripheren Blut nachgewiesen [95].

Kurtzhals *et al.* zeigten eine Zunahme von ECP und EPX während symptomatischer Plasmodium-Infektion (trotz verminderter EOS-Konzentrationen im peripheren Blut). Beide Stoffe sind potente Neurotoxine und in Fällen cerebraler Malaria (CM) fand sich eine signifikant höhere Konzentration beider Stoffe [93]. Verglichen damit sind bei Helminthinfektionen jedoch in der Regel noch höhere Konzentrationen von ECP und EPX nachweisbar [96].

Es konnte gezeigt werden, dass der Toll-like Rezeptor 9 (TLR9) an der Ausbildung der Immunität gegen Malaria beteiligt sein könnte [97]. Der TLR9 findet sich interessanter Weise auch auf Eosinophilen [98], und es konnte bei Mäusen *in vitro* eine Phagozytose von mit *P. yoelii* infizierten Erythrozyten durch eosinophile Granulozyten nachgewiesen werden [99].

1.3.2 Mischinfektionen

Roussillon *et al.* konnten in einer Studie bei senegalesischen Kindern einen ungünstigen Effekt einer Infektion mit intestinalen Würmern bezüglich der Häufigkeit von Malaria-Episoden nachweisen. Begründet wurde dies mit einer Verschiebung der Immunantwort in Richtung TH2 bzw. der damit verbundenen geringeren Produktion von zytophilen Antikörpern (IgG1 und IgG3), die als protektiv und somit für die Immunität essentiell betrachtet werden [100].

Ein Problem besteht sicher darin, dass man Helminthinfektionen nicht verallgemeinern kann sondern jede Spezies (sofern möglich) einzeln betrachten sollte [101]. Da zudem auch soziale und genetische Faktoren (der Menschen wie der verschiedenen Parasiten) sowie nahezu unendlich viele Kombinationen möglicher Begleitinfektionen durch Parasiten, Viren oder Bakterien zu berücksichtigen sind, ergibt sich hieraus eine schwer zu analysierende, multifaktorielle Gleichung, die vermutlich eine der Hauptursachen für die schwierige Identifizierung der "Wurm-Effekte" bei Malaria ist [100]. Dies hat zudem zur Folge, dass auf die auch sozioökonomisch relevante Frage, ob sich eine Koinfektion günstig auf den Krankheitsverlauf der Malaria auswirkt oder nicht, bislang noch keine abschließende Antwort gefunden werden konnte [18].

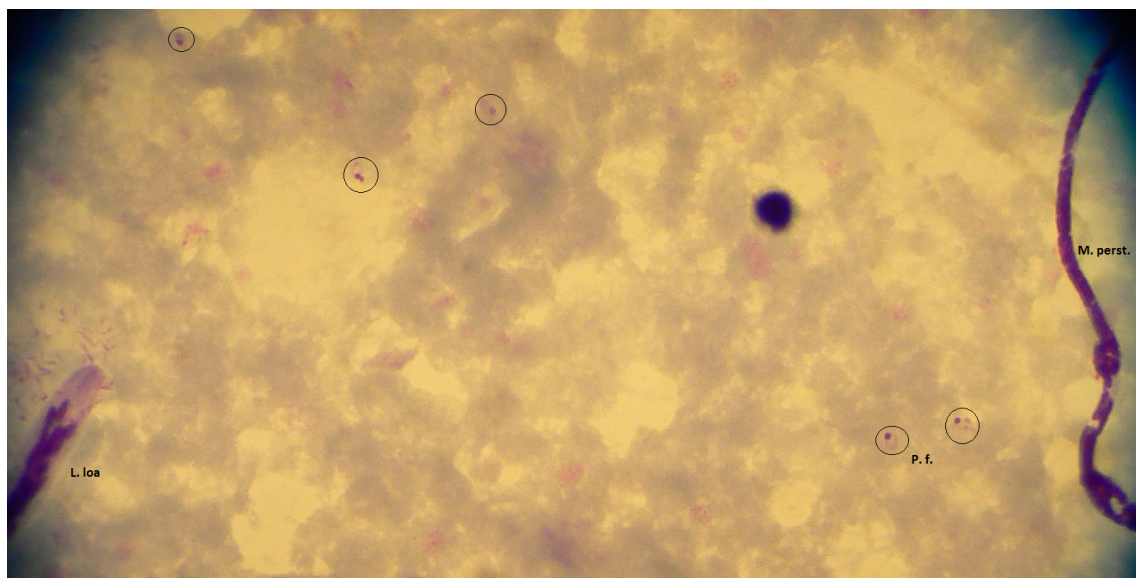


Abbildung 1.17: Mischinfektion. Dicker Tropfen (Giemsa, 100 x Objektiv) mit *P. falciparum* sowie Mikrofilarien von *L. loa* und *M. perstans* (angeschnitten). Quelle: Strecker; CRMN 2008.

1.4 Zielsetzung

Die in Zentralafrika weit verbreiteten Infektionen mit *L. loa* und *M. perstans* sind bislang im Vergleich zu anderen Infektionskrankheiten nur wenig erforscht. Sowohl die mögliche Beeinträchtigung der Gesundheit des Einzelnen, als auch mögliche sozioökonomische Auswirkungen erfordern weitere Untersuchungen, um besser abschätzen zu können, ob und - wenn ja - welche Maßnahmen erforderlich sind [12].

Neben den Aussagen zur Prävalenz soll die Studie auch dazu dienen einen Eindruck dafür zu bekommen, ob die von Krankenhauspatienten angegebenen Symptome mit deren Infektionsstatus

bezüglich *L. loa* und *M. perstans*, in Verbindung gebracht werden können.

Mit Hilfe der Studienpopulation soll zudem untersucht werden, ob bereits im Differentialblutbild Veränderungen durch die Filariosen nachweisbar sind, und wie sich etwaige Auffälligkeiten bei einer zusätzlichen Infektion mit *P. falciparum* verhalten.

Hierdurch können sich Ansatzpunkte für epidemiologische Studien sowie weitere, genauere Analysen mit Hilfe molekularbiologischer Methoden ergeben.

Kapitel 2

PATIENTEN UND METHODEN

2.1 Studienort



Abbildung 2.1: Übersichtskarte Gabun, Fougamou: 1°13'S 10°36'E, Höhe über Meeresspiegel: 111 m

Die Studie wurde am Centre de Recherches Médicales de la Ngounié (CRMN) in Fougamou, Gabun durchgeführt.

Gelegen in der Provinz Ngounié, zählt Fougamou 7720 Einwohner (Quelle: Ministère des Affaires Internes du Gabon 2005) und ist Hauptstadt des Bezirks Tsamba Magotsie (Abb. 2.1). Erbaut am Westufer des Flusses Ngounié erstreckt sich die Kleinstadt über mehrere Kilometer zu Füßen der im Osten angrenzenden Hügelkette des Koumounabouali-Massivs.

Entlang der Nationalstraße Nr. 3 (RN3) liegen zudem mehrere Dörfer, die gleichfalls zum Einzugsgebiet des CRMN zählen. Alles in allem wohnen hier nochmals ca. 2750 Menschen (Ministère des Affaires Internes du Gabon 2005).

2.1.1 Klima

Die jahreszeitlichen Unterschiede beziehen sich hauptsächlich auf die unterschiedlichen Niederschlagsmengen. Es gibt eine lange Regenzeit (Februar-März), eine lange Trockenzeit (Mai-September), eine kurze Regenzeit (Oktober-November) und eine kurze Trockenzeit (Dezember-Januar).

Die mittlere Luftfeuchtigkeit beträgt das ganze Jahr über nahezu gleich bleibend etwa 80%, die durchschnittliche Temperatur schwankt zwischen ca. 28 °C während der Regenzeiten und 24 °C während der Trockenzeiten (Durchschnitt 26,9 °C) (Quelle: Direction de la Météorologie Nationale du Gabon 2006 und 2007).

2.1.2 Population

Die Bevölkerung setzt sich aus mehreren Bantu-Stämmen zusammen, wobei die Eshira die vorherrschende Gruppe bilden. Desweiteren leben in Fougamou und Umgebung vor allem Mitsogo, Massango und Apindji.

Die meisten Wohnhäuser sind auf einem Beton-Fundament erbaut, haben Wände aus Holzplanen und ein Wellblechdach. Gemauerte Wände und Glas-Fenster sind die Ausnahme und finden sich vor allem in den Gebäuden der Administration und den Häusern, die von Funktionären oder Ausländern bewohnt werden. Die Behausungen haben in der Regel wohl einen Strom- doch keinen eigenen Wasseranschluss. Die Toilette und die Waschstelle befinden sich überwiegend außerhalb der Hütten und verfügen nicht über fließendes Wasser. Der Großteil der Bevölkerung ist deshalb zur Trinkwasserversorgung auf die öffentlichen Wasserstellen angewiesen. Ausfälle von Strom und Wasser sind häufig. Zum Waschen von Kleidung, Geschirr und Körper wird daher regelhaft das Wasser des Flusses Ngounié oder seiner Zuflüsse verwendet.

Eine Müllabfuhr existiert nicht. Jeder Haushalt hat seine eigene Müllhalde hinter dem Haus, die in unregelmäßigen Abständen in Brand gesteckt wird.



Abbildung 2.2: Fougamou. Quelle: Strecker; CRMN 2008

Es handelt sich insgesamt nicht um eine Stadt nach westlichen Maßstäben, sondern eher um eine lockere Ansammlung mehrerer Siedlungen, die von größeren verwilderten, baumbestandenen „urwaldähnlichen“ Flächen durchzogen wird und sich um das zentrale Viertel mit den administrativen Gebäuden gruppiert. In unmittelbarer Nachbarschaft zu den Wohnhäusern finden sich häufig kleine Anbauflächen für Gemüse und Obst. Angebaut werden vor allem Manioc (*Manihot esculenta*), Bananen, „Taro“ (*Colocasia esculenta*), „Yam“ (*Dioscorea spec.*), Erdnüsse, Ananas, „Oseille“ (*Hibiscus sabdariffa*), „Folong“ (*Amaranthus dubius*), „Epinard“ (*Basella alba*), Auberginen (*Solanum aethiopicum*), Ölpalmen, Papaya, Piment (*Capsicum spp.*) und Zuckerrohr.

Viele der Familien bewirtschaften Pflanzungen auf gerodeten Flächen im Urwald. Die Arbeit wird überwiegend von den Frauen geleistet. Die Männer helfen meist nur bei der initialen Rodung. Je nach Familie werden auch die Kinder mit in den Urwald genommen. Ab einem Alter von ca. 6-7 Jahren müssen die Kinder oft mitarbeiten, die kleineren werden häufig mit einem Tuch auf den Rücken gebunden und mitgenommen.

Der Ertrag dient vor allem der Selbstversorgung und dem Verkauf auf dem kleinen Markt in der Stadtmitte. Ein kommerzieller Anbau existiert nicht. Neben den Produkten der kleinen „Supermärkte“ ernährt sich die Bevölkerung zudem häufig von „Bush-Meat“ und Fischen aus dem Fluss. Die Jagd mit Hunden, Gewehr oder Machete sowie das Fallenstellen werden ausschließlich von den Männern ausgeübt. Das Fischen hingegen wird von Frauen wie Männern betrieben.

2.1.2.1 Die Dörfer

Ungefähr ein Drittel der Studienpopulation kommt nicht direkt aus Fougamou, sondern aus einem der umliegenden Dörfer (Sindara, Oyenano, Yombi) oder „Weiler“ (Kessi, Mandilou, Mourimatsegi, Kouagna, Petit und Grand Odavo, Nzemba, Waka, Ekanga, Douagni und Moulandoufouala). Die Weiler bestehen in der Regel aus circa zehn bis zwanzig in unmittelbarer Nähe zu einer nicht asphaltierten Piste (Nationalstraße RN3) angesiedelten Häusern (Abb. 2.3) und verfügen meist weder über Strom noch eine öffentliche Grundwasserpumpe, sodass die Bevölkerung auf private Stromgeneratoren und das Wasser aus Bächen und Tümpeln angewiesen ist. Die Bauart der Häuser unterscheidet sich nicht wesentlich von jener in Fougamou. Überall gibt es mindestens eine „Bar“ und einen, teils sehr kärglich ausgestatteten, „Tante Emma“ Laden.

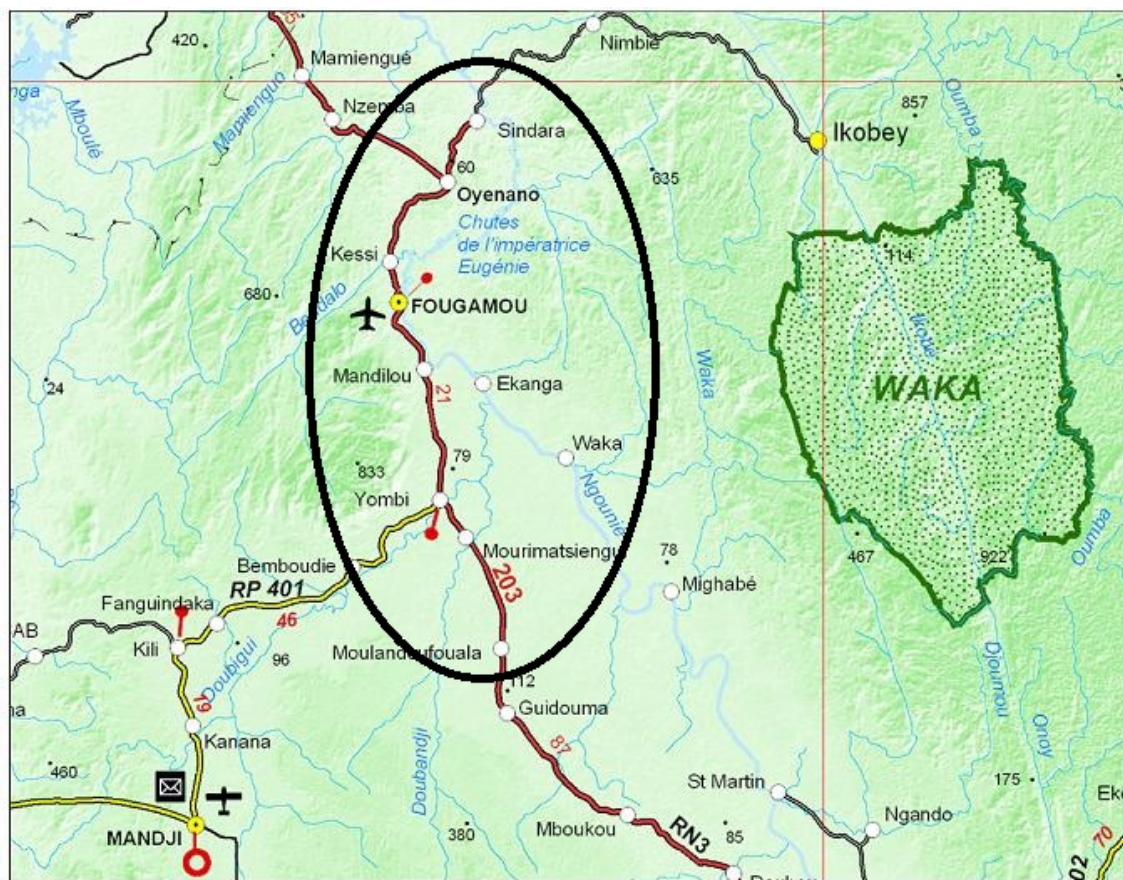


Abbildung 2.3: Einzugsgebiet der Studie. (Quelle: Institut National de Cartographie, Gabon)

2.1.3 Die Medizinische Versorgung

Das Centre Medical de Fougamou (CMF) ist das einzige Krankenhaus im Umkreis von 80 km. Es verfügt über 24 Betten, einen stillgelegten Operationssaal und ein nicht funktionsfähiges Röntgengerät. Geleitet wird es von einem Arzt, der während seiner - oft wochenlangen - Abwesenheit von zwei Oberpflegern und den 10 Krankenschwestern/-pflegern vertreten wird.

Die Versorgung mit Medikamenten erfolgt durch den gabunesischen Staat per LKW aus der 360 km entfernten Hauptstadt Libreville. Das Sortiment ist sehr begrenzt, und der Nachschub kommt

teils mit einigen Monaten Verspätung an. Malaria etwa wird regelhaft mit Quinin (z. B. Quinimax® oder Paluject®) i. v. oder i. m. und zusätzlich Gentamycin oder Amoxicillin i. v. behandelt. Da die Blutentnahme bei den Patienten der Studie vor Therapiebeginn stattfand, soll hier jedoch nicht weiter auf die dortigen Therapieansätze eingegangen werden.

An das CMF angegliedert gibt es auch eine Entbindungsstation mit sechs Betten, die von Hebammen geleitet wird. Schwangere Frauen haben die Möglichkeit zu Voruntersuchung und Hilfe bei der Entbindung. Die Hebammen geben zudem die Malaria-Prophylaxe (Sulfadoxin/Pyrimethamin nach dem 3. und 6. Monat) und führen Impfungen für Mütter und Neugeborene durch. Einen Operationssaal, Inkubatoren oder ein Ultraschallgerät gibt es nicht.

Für die medizinische Grundversorgung vor Ort gibt es zudem die Dispensaires (Ambulanzen) in den Dörfern (Mandilou, Sindara, Oyenano), die von Krankenschwestern/ -pflegern betrieben werden. Die Belieferung mit Medikamenten erfolgt ebenfalls durch den gabunesischen Staat und ist noch unzureichender als die des CMF.

Die traditionelle Medizin ist in Gabun weit verbreitet. Die Herstellung erfolgt meist durch die heil- und „zauberkundigen“ Männer und Frauen, die „Nganga“ genannt werden und eine Vielzahl von pflanzlichen und tierischen Substanzen benutzen. Da es sich um „Eingeweihte“ handelt und zudem die botanischen Namen der verwendeten Heilpflanzen nicht bekannt sind, können hierzu leider keine detaillierteren Angaben gemacht werden. Im Rahmen von ethnopharmakologischen Studien konnten jedoch *in vitro* die Wirksamkeit bzw. die Toxizität einiger der Substanzen gezeigt werden [102, 103].

Das Centre de Recherches Médicales de la Ngounié (CRMN) ist eine Zweigstelle des Centre de Recherches Médicales de Lambaréné (CERMEL) und seit Dezember 2007 ständig besetzt. Neben der Arbeit für klinische Studien bietet das CRMN einen kostenlosen Hämatologieanalyse-, Biochemie- und Malariadiagnostik-Service für das CMF und die Entbindungsstation an. Die Patienten erhalten nach der Konsultation von dem Arzt bzw. den Hebammen einen *bon d'examen*, auf dem der Name des Patienten und die gewünschten Untersuchungen verzeichnet sind. In den meisten Fällen handelt es sich um ein Differentialblutbild und einen „Dicken Tropfen“.

2.1.4 Parasiten

2.1.4.1 Malaria

Die Region ist hyperendemisch für *P. falciparum*. Im Jahr 2008 sahen die monatlichen Infektionsraten der 2622 im CRMN untersuchten Patienten folgendermaßen aus (Abb.2.4):

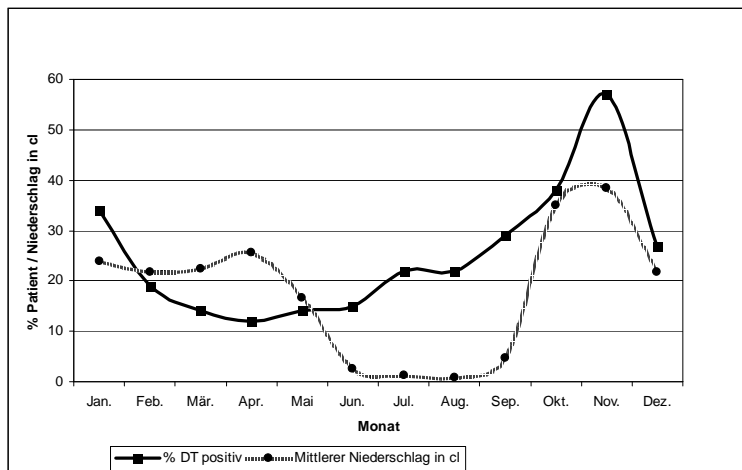


Abbildung 2.4: CRMN 2008: für *P. falciparum* positive/negative "Dicke Tropfen" und Niederschläge (Quellen CRMN 2008 und Direction de la Météorologie Nationale, Services Provinciales de la Ngounié)

Es zeigen sich zwei Perioden: Prävalenz von über 25 % von September bis Januar und geringere Prävalenz (12 – 22 %) von Februar bis August. Betrachtet man dazu die Kurve mit den mittleren Niederschlägen, so zeigt sich eine deutliche Zunahme von *P. falciparum* während der Regenzeit von Oktober und November.

2.1.4.2 Filarien

Epidemiologische Daten für die Region von Fougamou liegen nur sehr unvollständig vor. In Stichproben einer von D. Richard-Lenoble und M. Kombila durchgeführten Studie konnte das Vorhandensein von *M. perstans*, *L. loa*, *Onchocerca volvulus*, *M. streptocerca* sowie *M. rodhaini* in der Region nachgewiesen werden. Die Untersuchungen ergaben, dass 87 % der Probanden mit zwei oder mehr Filarienarten infiziert waren [104, 105].

Für die *L. loa* Mikrofilariämie ergab eine Auswertung mehrerer Studien für die Region von Fougamou eine Prävalenz zwischen 10 % und 20% bei einer Population im Alter von > 5 Jahren [106].

2.1.4.3 Mischinfektionen

Da in der Studie nur Blutmikrofilariämien und Plasmodien nachgewiesen wurden, bezieht sich der Begriff der Misch- oder Koinfektion in der vorliegenden Arbeit lediglich auf eine Infektion mit mindestens zwei der drei untersuchten Parasiten *M. perstans*, *L. loa* und *P. falciparum*.

2.1.4.4 Weitere endemische Parasiten

Neben den oben beschriebenen Parasiten sind in Gabun noch eine Vielzahl weiterer parasitärer Erkrankungen endemisch. So findet man zum Beispiel häufig: *Schistosoma haematobium*, *Ascaris lumbricoides*, *Trichuris trichiura* und *Necator americanus* [107].

2.2 Studienpopulation(en)

2.2.1 Centre Médical de Fougamou (CMF)

2.2.1.1 CMF-Patienten mit Überweisung aus der Notaufnahme

Die größte Gruppe in der Studie bildeten Patienten, die sich krankheitsbedingt im „Centre Médical de Fougamou“ (CMF) vorgestellt hatten, von dort mit einer Laboranforderung ins „Centre de Recherches Médicales de la Ngounié“ (CRMN) kamen und bei denen mindestens ein Dicker Tropfen und ein großes Blutbild angefordert wurde.

Für die Aufteilung in Altersgruppen wurde ein Mindestalter von 2 Jahren festgelegt, da dies gemäß den erhobenen Daten (der jüngste Patient mit *M. perstans* war 21 Monate alt) sowie nach Noireau *et al.*, die einen Fall von *L. loa* bei einem Zweijährigen beschreiben [108], der unteren Grenze für die Möglichkeit einer Infektion mit Filarien entspricht. Die jüngste Gruppe („Kleinkind“) bestand somit aus Patienten ab 2 bis einschließlich 5 Jahren.

In der mittleren Altersgruppe („Kind“) befanden sich die Patienten mit einem Alter von 6 bis einschließlich 16 Jahren, da davon ausgegangen wird, dass bis Ende des 16. Lebensjahres die meisten Kinder geschlechtsreif sind [109, 110].

Alle älteren Patienten, d. h. ab einem Alter von 17 Jahren, wurden in die Gruppe „Erwachsen“ zusammengefasst, was zudem in etwa dem Durchschnittsalter der gabunischen Bevölkerung von 18,6 Jahren entspricht [111].

Die CMF-Population umfasste insgesamt $n = 877$ Patienten.

2.2.1.2 Schwangere der CMF-Entbindungsstation

Die von den Hebammen überwiesenen schwangeren Frauen ($n=111$) waren beschwerdefrei und kamen zur standardmäßigen Voruntersuchung („Dicker Tropfen“, Differentialblutbild und Blut-Glukose). Sie unterscheiden sich daher von den CMF-Patienten, die alle wegen klinischer Beschwerden zur Untersuchung geschickt wurden. Für die Auswertung der Prävalenz wurden die schwangeren Frauen jedoch mit einer Teilmenge von nicht schwangeren Frauen entsprechenden Alters aus der CMF-Population verglichen. In der zuvor beschriebenen Population der CMF-Patienten sind die schwangeren Frauen nicht enthalten.

2.2.2 4ABC Studie

Im Rahmen der von EDCTP geförderten Studie „Evaluation of four artemisinin based combinations for treating uncomplicated malaria in African children“ (4ABC) wurden in Fougamou über 200 Kinder mit unkomplizierter Malaria mit einem ABC-Präparat (Artesunat-Amodiaquin; Artemeter-Lumefantrin oder Dihydroartemisinin-Piperaquinin) behandelt. Da sowohl die Parasitämie als auch der Hämoglobin-Wert Teil der Einschlusskriterien waren, erfolgte vor Aufnahme in die Studie (D0) sowie an den Tagen 3 (D3), 7 (D7), 14 (D14) und 28 (D28) nach erstmaliger Gabe der Studienmedikation die Anfertigung von zwei „Dicken Tropfen“ und einem Differentialblutbild [112].

Im Originalstudienprotokoll war die Filarien-Diagnostik nicht vorgesehen. Ab September 2008 wurden jedoch systematisch alle für die Studie angefertigten "Dicken Tropfen" auf Mikrofilarien untersucht. Bei 14 Kindern fanden sich Mikrofilarien (*L. loa* oder *M. perstans*) in mindestens einem der angefertigten "Dicken Tropfen". Sie werden in der vorliegenden Arbeit mit 20 Kindern der 4ABC-Studie ohne Nachweis von Mikrofilarien in allen der für sie angefertigten "Dicken Tropfen" (insgesamt mindestens 16 "Dicke Tropfen" à 10 µl) verglichen.

2.3 Studienaufbau

Die Analyse der CMF Patienten entspricht einer Querschnittsstudie. Im Fall der 4ABC-Kinder handelt es sich um eine prospektive Beobachtungsstudie.

Einschlusskriterium war, dass mindestens Alter, Geschlecht, "Dicker Tropfen" sowie ein Differentialblutbild eines Patienten erfasst sein mussten. Der "Dicke Tropfen" musste zudem sowohl auf Plasmodien als auch auf Mikrofilarien untersucht worden sein. Patienten mit unvollständigen Daten wurden nicht in die Analyse aufgenommen. Das Studienziel war die Analyse des Infektionsstatus der Patienten mit *P. falciparum* und/oder Mikrofilarien als möglichem Einflussfaktor auf das Differentialblutbild der Patienten, wobei insbesondere auch Mischinfektionen auf Anzeichen für mögliche Wechselwirkungen analysiert werden sollten.

2.4 Diagnostik

2.4.1 Blutentnahme

Bei allen Patienten der Studie wurde eine venöse Blutentnahme mit S-Monovette® K3EDTA 1,2 ml für Kinder und S-Monovette® K3EDTA 2,7 ml für Jugendliche und Erwachsene durchgeführt.

Nach dem Erreichen der erforderlichen Blutmenge erfolgte eine sofortige Entnahme von 10 µl Vollblut aus dem Rückstand im Verbindungsstück des Butterfly (ohne EDTA) zur Anfertigung des "Dicken Tropfens" nach Lambaréné-Methode [61].

Die Analyse der Blutprobe mit der ABX Pentra 60 erfolgte innerhalb von 20 Minuten nach der Entnahme. In Ausnahmefällen wurden Blutproben für max. 24 Stunden im Kühlschrank bei 5-8 °C aufbewahrt. Vor der Analyse wurden diese Proben für 20 Minuten bei Raumtemperatur akklimatisiert und durch mehrfaches Wenden des Entnahmeröhrchens gemischt.

Der Zeitpunkt der Blutentnahme war abhängig von den Sprechstundezeiten der überweisenden Einrichtungen. 948 (80%) der Entnahmen wurden zwischen 10.00 Uhr und 15.00 Uhr durchgeführt. Dies entspricht dem Zeitraum mit der maximalen Präsenz von *L. loa* Mikrofilarien im Blut. 97 (8%) wurden früher (ab 8.20 Uhr) und 141 (12%) später abgenommen (bis 20.50 Uhr).

2.4.2 Differentialblutbild und Leukozytendifferenzierung

Alle Proben wurden mit der ABX PENTRA 60, einem vollautomatisierten Hämatologie-Analysegerät für die *In-vitro*-Analyse von Vollblutproben im CBC-+5DIFF Modus (53 µl) analysiert.

In diesem Modus werden folgende 26 Parameter analysiert:

Leukozyten (LEU), Lymphozyten (LYM), Monozyten (MON), neutrophile Granulozyten (NEU), eosinophile Granulozyten (EOS), basophile Granulozyten (BAS), große unreife Zellen (LIC), atypische Lymphozyten (ALY), Erythrozyten (RBC), Hämoglobinkonzentration (HGB), Hämatokrit (HCT), Mittleres Erythrozyteneinzelvolumen (MCV), Mittleres Zellhämoglobin (MCH), Mittlere Hämoglobinkonzentration der Einzelerythrozyten (MCHC), Erythrozytenverteilungsbreite (RDW), Thrombozyten (PLT), Thrombozytenverteilungsbreite (PDW), mittleres Thrombozytenvolumen (MPV) und Thrombokrit (PCT).

Messmethoden und Berechnung der verschiedenen Parameter:

- Impedanzmessung für LEU, PLT, ERY und BAS.
- Spektrophotometrie für HGB.
- Impedanzmessung und Lichtstreuung für LYM, MON, NEU, EOS, ALY und LIC.
- Berechnung auf Grundlage gespeicherter Daten, die direkt für HCT, MCV, MCHC, RDW, MPV, PCT und PDW gemessen wurden.

Das System ist voll automatisiert und verfügt über ein internes Verdünnungssystem sowie einen Drucker zur Aufzeichnung der hämatologischen Werte und der LMNE-Matrix (LMNE = LymphozytMonozytNeutrophilEosinophil).

Das Messsystem ist ein Multi-Dosier-System. 53 µl Blut werden in der Probennadel angesaugt. Dann werden Teilmengen dieser Probe auf die Kammern mit den verschiedenen Reagenzien verteilt. 10 µl für die ERY/THR/HGB-Bestimmung, 10 µl für die WBC/BAS-Zählung und Differenzierung und 25 µl für die LMNE-Matrix. Die ersten 3 µl und die letzten 5 µl werden verworfen.

2.4.3 Grenzwerte für pathologische Blutbildveränderungen

Pathologie	Parameter	Kleinkind	Kind	Erwachsen m / w
Leukozytose	LEU ($10^3/\mu\text{l}$)	> 14,8	> 13,2	> 9,1
Anämie	HGB (g/dl)	< 8,5	< 10	< 12 / 10,5
Thrombopenie	PLT ($10^3/\mu\text{l}$)	< 192	< 130	< 126
Lymphozytose	LYM ($10^3/\mu\text{l}$)	> 7,11	> 3,2	> 3,7
Monozytose	MON ($10^3/\mu\text{l}$)	> 1,62	> 0,75	> 0,78
Neutrophilie	NEU ($10^3/\mu\text{l}$)	> 6,85	> 7,3	> 5,3
Eosinophilie	EOS ($10^3/\mu\text{l}$)	> 1	> 1	> 1,5
Basophilie	BAS ($10^3/\mu\text{l}$)	> 0,22	> 0,12	> 0,1

Tabelle 2.1: Grenzwerte für pathologische Veränderungen im Blutbild der CMF Population nach Altersgruppen.

Zur Bestimmung der Häufigkeit pathologischer Blutbildveränderungen wurden die in Tabelle 2.1 angegebenen altersspezifischen Grenzwerte verwendet. Zur Ermittlung wurden verschiedene Studien aus Afrika (Ruanda, Uganda, Kenia, Sambia und Nigeria) ausgewertet [113, 114, 116], insbesondere auch die Doktorarbeit von Alexander Humberg [115], welche sich mit der Bestimmung von Referenzwerten für Kinder in Gabun beschäftigt.

2.4.4 Diagnostik der Parasiten und Bestimmung der Parasitämie

Der Nachweis von Plasmodien und Microfilarien im venösen Blut der Studienpopulation wurde durch die lichtmikroskopische Untersuchung des "Dicken Tropfens" (DT) erbracht.

Dieser wurde nach der Lambaréné-Methode [61] angefertigt: 10 µl Blut wurden auf einem Objektträger auf einer Fläche von 10 x 18 mm verteilt, getrocknet und in Giemsa gefärbt. Zur Quantifizierung der Parasitämie bei für Plasmodien positiven "Dicken Tropfen" wurde die mittlere Zahl Parasiten pro Gesichtsfeld (bei Betrachtung mit 100x Objektiv mit Immersionsöl) bestimmt und mit dem mikroskopischen Faktor (Anzahl der Gesichtsfelder pro µl Blut) multipliziert, um die Zahl der Parasiten pro µl Blut zu erhalten. Zur Diagnose eines negativen "Dicken Tropfens" wurden mindestens 100 Gesichtsfelder untersucht. Alle "Dicken Tropfen" wurden von einem zweiten Untersucher kontrollgelesen.

Zur Diagnose des Vorhandenseins von Mikrofilarien wurde der "Dicke Tropfen" mit dem 10 x Objektiv des Mikroskops auf der gesamten Fläche von 1,8 cm² abgesucht. Der hierbei ermittelte Wert ergibt somit die Anzahl Mikrofilarien/10 µl. Mit dem Faktor 100 multipliziert erhält man dementsprechend die Zahl der Parasiten pro ml.

Bei Unklarheiten bezüglich der Spezies wurde die entsprechende Microfilarie mit dem 100 x Objektiv betrachtet und gemäß der typischen Merkmale beurteilt (Größe, Verteilung der Zellkerne, Form nach: [49])

2.4.5 Patientendaten

Vor der Blutentnahme wurde jeder Patient in ein Aufnahmeregister eingetragen. Es wurden folgende Daten erhoben:

- Datum/ Uhrzeit
- Name
- Alter
- Geschlecht
- Ergebnis der Malaria- & Mikrofilarien-Diagnostik
- Durchgeführte Untersuchungen
- Beschwerden
- Wohnort

Die Befragung der Patienten erfolgte lediglich mittels offener Fragen. Es wurde keine Anamnese im klassischen Sinne erhoben, sondern lediglich die vom Patienten selbst genannten Beschwerden im Register notiert.

2.5 Statistische Auswertung

Zur Erfassung der Daten wurden die Angaben der Patienten (Name, Geburtsdatum, Wohnort, Geschlecht, Beschwerden) handschriftlich in einem Register notiert. Nach Auswertung des "Dicken Tropfens" erfolgte die Eintragung des Ergebnisses für *P. falciparum*/µl und Anzahl der *M. perstans* bzw. *L. loa* pro "Dicker Tropfen" in das Register. Die personalisierten Ausdrücke mit den Resultaten des Differentialblutbildes wurden chronologisch abgeheftet.

Zur Datenanalyse wurden die Daten anonymisiert und in einer Microsoft Excel-Tabelle zusammengefügt.

Die statistische Auswertung wurde mit JMP 11.0 (SAS Institute Inc.) durchgeführt. Da die einzelnen Subpopulationen des DIFF nicht normalverteilt waren, erfolgte die Logarithmierung. Zum Vergleich zweier Gruppen wurde der T-Test verwendet. Die Varianzanalyse wurde mit ANOVA und Tukey-Kramer-Test durchgeführt.

Bei der Kontingenz-Analyse wurde der exakte Fisher-Test angewandt.

Zur Auswertung des Verlaufs in der Gruppe der 4ABC-Kinder erfolgte eine Varianzanalyse mit Messwertwiederholung.

Graphen wurden mit Microsoft Excel erstellt.

Die Berechnung der geschätzten 95 % Konfidenzintervalle für die binominalen Daten erfolgte mit der Formel: $\left[\frac{h}{n} + 1,96\sqrt{\frac{\frac{h}{n}*(1-\frac{h}{n})}{n}}; \frac{h}{n} - 1,96\sqrt{\frac{\frac{h}{n}*(1-\frac{h}{n})}{n}} \right]$ wobei h für die Anzahl der Merkmalsträger und n für die Gesamtheit der entsprechenden Population steht.

Zur Untersuchung der Auswirkungen des Nachweises von *P. falciparum*, *M. perstans* oder *L. loa* auf das Blutbild der Patienten wurde eine logistische Regression mit den zusätzlichen Parametern Geschlecht und Alter durchgeführt.

Um nähere Aussagen über das Chancenverhältnis bezüglich der Ausprägung als pathologisch einzustufender hämatologischer Veränderungen wie z. B. Anämie machen zu können, erfolgte eine unbereinigte (Fishers exakter Test) und eine bereinigte Analyse (Nominal-logistische Anpassung) der möglichen Einflussfaktoren (Geschlecht, Alter, *P. falciparum*, *M. perstans* und *L. loa*).

2.6 Ethik

Es wurden ausschließlich anonymisierte Daten von Patienten verwendet, welche anderweitig in die Durchführung der Untersuchungen eingewilligt hatten. Bei den CMF-Patienten handelte es sich um medizinisch indizierte Analysen, welche bei den Patienten auf Anforderung des behandelnden Arztes kostenlos durchgeführt wurden.

Die 4ABC-Studie wurde vom Institutional Review Board des Instituts für Tropenmedizin, Antwerpen, dem Ethikkomitee der Uniklinik Antwerpen, dem lokalen Ethikkomitee „Comité d’Ethique Regional Independant de Lambaréné“ (CERIL) in Lambaréné (Gabun) und dem gabunischen Gesundheitsministerium genehmigt. Im Protokoll und in der von den Erziehungsberechtigten unterschriebenen Einverständniserklärung wurde auf die Möglichkeit der anonymisierten Verwendung der für die Studie erhobenen Daten für weitere Analysen explizit hingewiesen.

Kapitel 3

ERGEBNISSE

3.1 CMF

3.1.1 Demographische Daten

3.1.1.1 Alters- und Geschlechtsverteilung der CMF-Patienten

In der Studie werden die Daten von insgesamt 877 Patienten ausgewertet.

Das Durchschnittsalter der CMF Population liegt bei 20 Jahren (Median = 14 Jahre). Die Verteilung männlich/ weiblich ist mit 432 zu 445 Patienten über alle Altersgruppen hinweg relativ ausgewogen.

3.1.2 Charakteristika der Parasitämien

3.1.2.1 Allgemeine Betrachtung bezüglich *Loa loa*, *Mansonella perstans* und *Plasmodium falciparum*

Prävalenz In der CMF-Population gibt es mit 299 (34%) der Patienten am häufigsten *P. falciparum*, gefolgt von 117 (13%) mit Nachweis von *M. perstans* und 81 (9%) mit *L. loa*.

Eine parasitäre Mischinfektion kann bei 69 (8%) der CMF-Patienten nachgewiesen werden. Am häufigsten findet sich *M. perstans* + *P. falciparum* (31 Patienten, 4% der Gesamtpopulation) gefolgt von 24 Patienten mit *M. perstans* + *L. loa* (3%) und 13 mit *L. loa* + *P. falciparum* (1%) (Abb. 3.3).

Eine Infektion mit *M. perstans* + *L. loa* + *P. falciparum* kann nur bei einem einzigen erwachsenen Mann nachgewiesen werden (siehe Foto des "Dicken Tropfens" in Abb. 1.17).

Konzentrationen der Parasitämien Es fällt auf, dass *L. loa* in deutlich höherer Konzentration im Blut nachzuweisen ist als *M. perstans*. Der geometrische Mittelwert ergibt für *M. perstans* eine mittlere Parasitämie von 166/ml (KI 163-203/ml) und für *L. loa* 1390/ml (KI 955-2024/ml). Dies entspricht einem Faktor von 8,4 mal mehr *L. loa* Mikrofilarien im Blut als *M. perstans*.

Mansonella perstans Mit zunehmendem Alter der Patienten zeigt sich eine deutliche Zunahme der Prävalenz von *M. perstans*. Der höchste Prozentsatz an Infizierten findet sich mit 42 % bei den über 40 Jahre alten Männern. Der jüngste *M. perstans* positive Patient ist ein 21 Monate alter Junge.

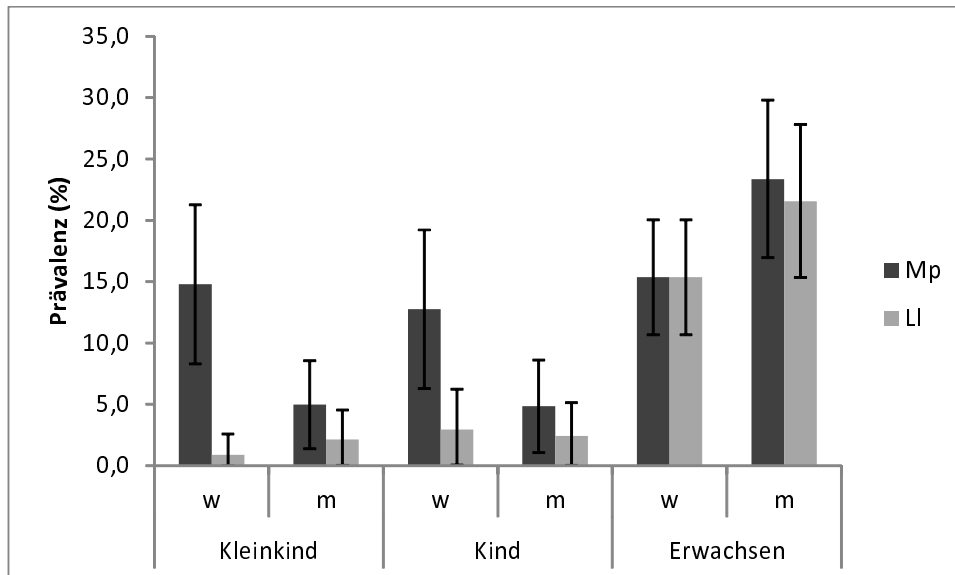


Abbildung 3.1: Prävalenz von *M. perstans* und *L. loa* im "Dicken Tropfen" der CMF-Studienpopulation mit 95 % Konfidenzintervallen.

Bei den Kleinkindern und Kindern ist ein deutlicher Unterschied in der Prävalenz von *M. perstans* zwischen Jungen und Mädchen zu erkennen (Abb. 3.1). So haben Mädchen signifikant mehr *M. perstans* als Jungen. Es gibt bei Kleinkindern und Kindern zusammen insgesamt 43 *M. perstans* Nachweise, 30 (6%) bei Mädchen und nur 13 (3%) bei Jungen. Für Kleinkinder ergibt sich diesbezüglich ein Chancenverhältnis (Odds Ratio) von 3,3 (KI 1,3-8,3; $p=0,007$), bei Kindern beträgt die OR 2,9 (KI 1,1-7,9; $p=0,029$).

Im Erwachsenenalter zeigt sich tendenziell ein umgekehrtes Verhältnis.

Bezüglich der Ausprägung der Parasitämie ergeben sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den Altersgruppen, obgleich die Erwachsenen mit 407/ml (KI 243-570/ml) tendenziell etwas höhere *M. perstans* Mikrofilariämien aufweisen als die Kinder (178/ml; KI 111-247/ml) und Kleinkinder (161/ml; KI 111-211/ml). Interessanterweise ergibt sich jedoch bei den Erwachsenen ein signifikanter Unterschied ($p=0,018$) zwischen den Männern, die mit 605/ml (KI 306 - 904/ml) im Mittel deutlich höhere Parasitämien haben als die Frauen mit 186/ml (KI 133-239/ml).

Loa loa Bei den Erwachsenen ist mit 71 (18%) der Patienten insgesamt deutlich häufiger *L. loa* nachweisbar als bei den Kindern, von denen nur 6 (3 %) *L. loa* Mikrofilarien im Blut haben, sowie bei den Kleinkindern, bei denen *L. loa* Mikrofilarien nur in 4 Fällen (2 %) im Blut nachweisbar sind. Männer sind tendenziell mehr mit *L. loa* infiziert als Frauen (Abb. 3.1).

Die jüngsten Patienten mit *L. loa* sind ein dreijähriger Junge und ein drei Jahre altes Mädchen, welches zusätzlich auch *M. perstans* hat. Die Prävalenz von *L. loa* ist bei Kindern und bei Kleinkindern für beide Geschlechter nahezu gleich.

Auch bei *L. loa* haben die Erwachsenen mit 1 540/ml (KI 1030-2305/ml) im geometrischen Mittel etwas höhere Parasitämien im "Dicken Tropfen" als die Kinder mit 1022/ml (152-6819) und die Kleinkinder mit 360/ml (78-1654/ml). Im Unterschied zu *M. perstans* haben die Männer bei *L. loa* nur geringfügig höhere Parasitämien als die Frauen.

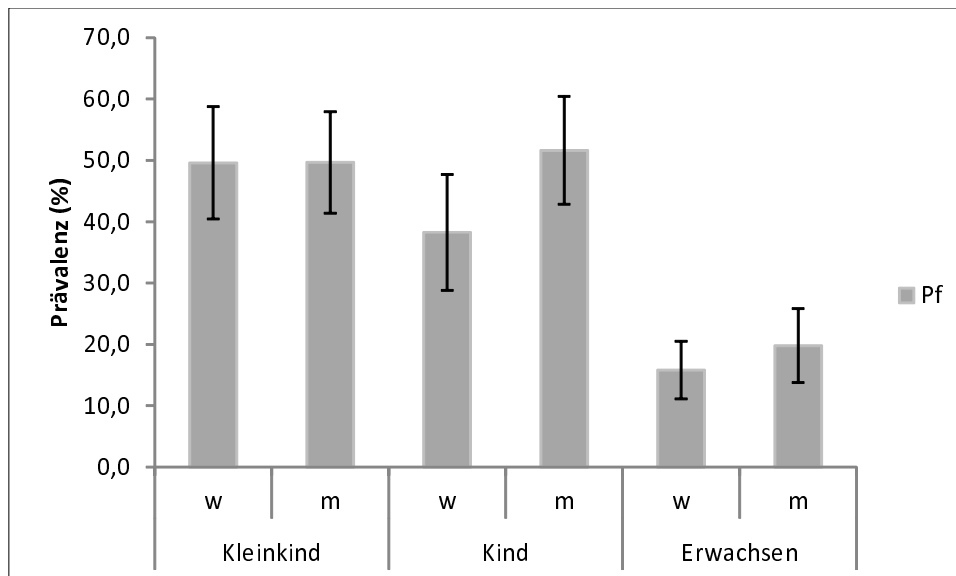


Abbildung 3.2: Prävalenz von *P. falciparum* im "Dicken Tropfen" der CMF-Studienpopulation in Prozent mit 95 % Konfidenzintervallen.

Plasmodium falciparum Es zeigt sich insgesamt eine deutliche Häufung der Fälle mit *P. falciparum* bei Kleinkindern und Kindern (Abb. 3.2).

Betrachtet man die mittlere Parasitämie der unterschiedlichen Altersgruppen, so fällt ein signifikanter Rückgang mit zunehmendem Alter auf. Die höchsten Werte mit einem geometrischen Mittel von 15176/μl (KI 10243-22483/μl) finden sich bei den Kleinkindern, gefolgt von den Kindern mit 11868/μl (KI 7670-18362/μl) und den Erwachsenen mit 2608/μl (KI 1530-4445/μl). Die Erwachsenen unterscheiden sich diesbezüglich hochsignifikant sowohl von den Kindern als auch von den Kleinkindern.

***Loa loa* und *Mansonella perstans* Mischinfektion** Eine Mischinfektion mit *L. loa* und *M. perstans* kommt insgesamt 28 mal vor und betrifft somit insgesamt 3% aller CMF-Patienten.

Der Nachweis von beiden Mikrofilarienarten gelingt bei den Erwachsenen deutlich öfter als bei Kindern oder Kleinkindern. Bei den Männern sind 17 Patienten für beide Arten positiv (30% der Männer mit MF-Nachweis), bei den Frauen sind es nur 7 Patientinnen (11% der Frauen mit MF-Nachweis). Bei Kleinkindern und Kindern zusammen gibt es insgesamt nur 4 Patienten mit Nachweis beider Mikrofilarien im "Dicken Tropfen".

***Mansonella perstans* und *Plasmodium falciparum* Mischinfektion** Eine Mischinfektion mit *M. perstans* und *P. falciparum* kommt insgesamt 31 mal vor und betrifft somit insgesamt 4% aller CMF-Patienten.

Auffallend ist, dass die Anzahl der Infektionen mit *M. perstans* und *P. falciparum* bei den Mädchen der Gruppe Kleinkinder und Kinder etwas größer ist als bei den Jungen. Bei acht der "Kleinkind-Mädchen" kann *M. perstans* + *P. falciparum* nachgewiesen werden. Dies ist sowohl absolut als auch prozentual mit 7% der höchste Wert für diese Kombination der Mischinfektion innerhalb einer Altersgruppe der Studienpopulation (Bei den "Kleinkind-Jungen" sind 4 betroffen). Bei den Erwachsenen sind die Männer mit 6 Patienten (4%) etwa genau so häufig mit *M. perstans* und *P. falciparum* infiziert wie die Frauen (6 Patientinnen bzw. 3%).

***Loa loa* und *Plasmodium falciparum* Mischinfektion** Eine Mischinfektion mit *L. loa* und *P. falciparum* kommt insgesamt 14 mal vor und betrifft somit insgesamt 2% aller CMF-Patienten.

Mit einer Prävalenz von 1-2% ist die Kombination *L. loa* und *P. falciparum* über alle Alters- und Geschlechtsgruppen sehr ähnlich verteilt.

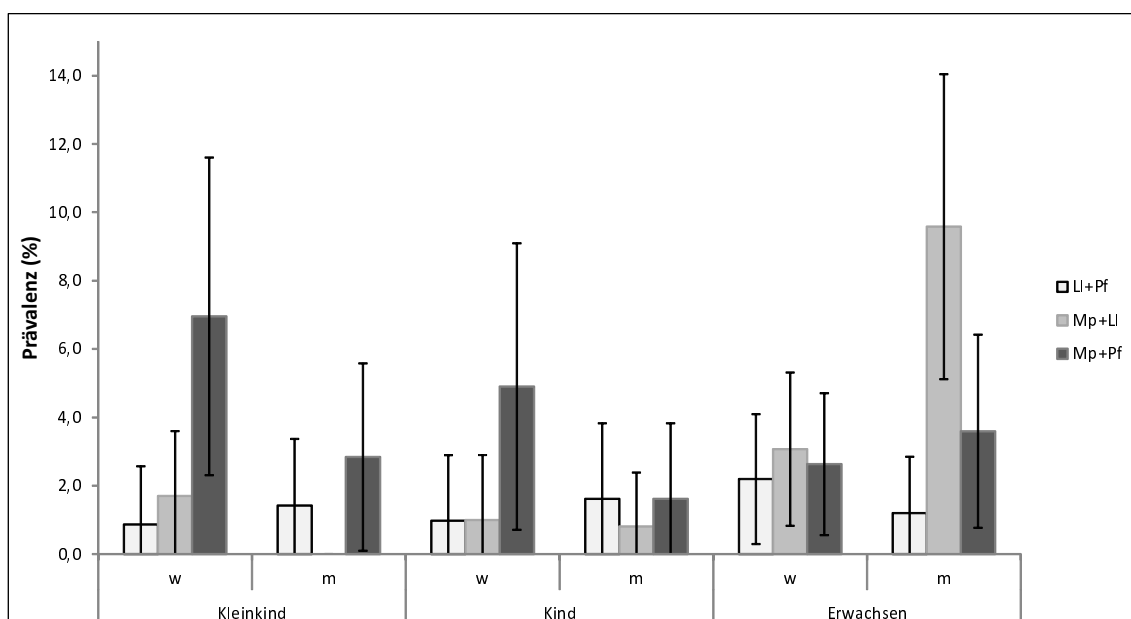


Abbildung 3.3: Prävalenz mit 95% Konfidenzintervall von Mischinfektionen in der CMF-Studienpopulation unter Berücksichtigung des Geschlechtes.

Die Schwangeren Frauen von der CMF-Entbindungsstation Bei dem Vergleich der Schwangeren mit den nicht schwangeren Frauen der gleichen Altersspanne (15-39 Jahre) aus der CMF-Population ergibt sich bezüglich des Nachweis von Mikrofilarien im "Dicken Tropfen" eine signifikant höhere Prävalenz mit 47 der 107 Schwangeren (44 %) gegenüber 36 von 157 nicht schwangeren Frauen (23%). Der zugehörige p-Wert beträgt 0,0001 (siehe Abb 3.4). Die diesbezügliche Odds Ratio ist 2,83 für das Risiko, dass eine schwangere Frau im "Dicken Tropfen" Mikrofilarien positiv ist im Vergleich zu einer nicht schwangeren.

Betrachtet man *Mansonella perstans* und *Loa loa* getrennt, so ergeben sich mit Chancenverhältnissen von 2,3 (95% KI 1,2-4,2) beziehungsweise 2,8 (95% KI 1,4-5,7) sehr ähnliche Verhältnisse. Auch bezüglich der Parasitämie der einzelnen Mikrofilarien finden sich signifikant höhere Konzentrationen beider Parasiten im Blut der Schwangeren als bei den "kranken" CMF-Frauen und auch höhere Parasitämien als bei den CMF-Männern der gleichen Altersspanne.

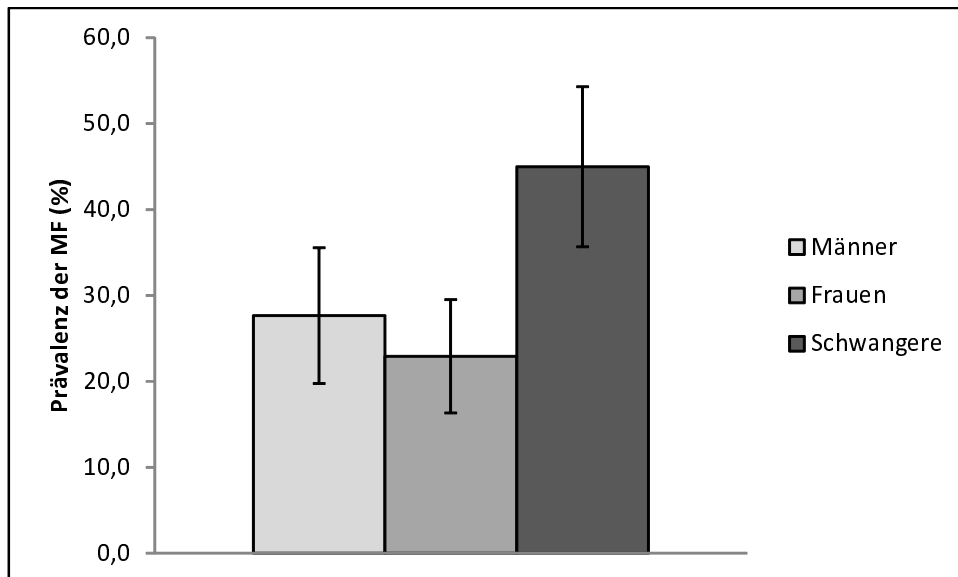


Abbildung 3.4: Prävalenz von MF im DT bei Schwangeren, Männern und Frauen im Alter von 15-39 Jahren.

3.1.3 Symptome bei den CMF-Patienten

3.1.3.1 Fieber

Das mit Abstand am häufigsten genannte Krankheitszeichen ist Fieber. So geben 601 (69 %) der Patienten bei Registrierung an, aktuell an Fieber zu leiden oder das Krankenhaus wegen Fieber innerhalb der letzten Tage aufzusuchen.

Filarien und Fieber Der Nachweis von *M. perstans* im "Dicken Tropfen" zeigt sich als signifikanter Einflussfaktor hinsichtlich der Angabe von Fieber (Tab. 3.1). Es ergibt sich eine signifikant geringere Wahrscheinlichkeit für Fieber bei Patienten mit Nachweis von *M. perstans* im Vergleich zu Patienten ohne *M. perstans*.

Für *L. loa* zeigt sich keine signifikante Assoziation.

Es zeigt sich ebenfalls kein signifikanter Zusammenhang bezüglich der Häufigkeit von Fieber bei Patienten mit *P. falciparum* und zusätzlichem Nachweis von *M. perstans* oder *L. loa* im "Dicken Tropfen".

Fieber	n/N	Unadjustiert		Adjustiert	
		OR (95%KI)	p-Wert	aOR (95%KI)	p-Wert
Kleinkind	222/256 (87%)	6,3 (4,2-9,5)	<0,0001	4,4 (2,9-6,9)	<0,0001
Kind	178/226 (79%)	3,6 (2,5-5,2)	<0,0001	2,6 (1,7-3,9)	<0,0001
Erwachsen	201/395 (51%)	Ref		Ref	
männlich	314/432 (73%)	1,5 (1,1-2,0)	0,011	1,2 (0,9-1,6)	0,3
weiblich	287/445 (65%)	Ref		Ref	
Stadt	390/585 (67%)	0,77 (0,6-1,0)	0,11	1,0 (0,7-1,4)	0,84
Dorf	211/292 (72%)	Ref		Ref	
<i>LI</i>	42/81 (52%)	0,5 (0,3-0,7)	0,001	1,0 (0,6-1,7)	0,98
kein <i>LI</i>	559/796 (70%)	Ref		Ref	
<i>Mp</i>	63/117 (54%)	0,5 (0,3-0,7)	0,0004	0,6 (0,4-0,9)	0,023
kein <i>Mp</i>	538/760 (71%)	Ref		Ref	
<i>Pf</i>	264/299 (88%)	5,4 (3,7-8,0)	<0,0001	3,8 (2,5-5,8)	<0,0001
kein <i>Pf</i>	337/578 (58%)	Ref		Ref	

Tabelle 3.1: Einflussfaktoren für Fieber bei der CMF-Studienpopulation.

3.1.3.2 Cephalgie

Von insgesamt 143 (16%) der CMF-Patienten werden Kopfschmerzen als Beschwerde angegeben.

Filarien und Cephalgie Für *L. loa* oder *M. perstans* ergibt sich in der Krankenhauspopulation kein signifikanter Einfluss bezüglich der Angabe von Kopfschmerz (Tab. 3.2).

Cephalgie	n/N	Unadjustiert		Adjustiert	
		OR (95%KI)	p-Wert	aOR (95%KI)	p-Wert
Kleinkind	4/256 (2%)	0,05 (0,02-0,14)	<0,0001	0,05 (0,01-0,1)	<0,0001
Kind	47/226 (21%)	0,9 (0,6-1,3)	0,79	0,8 (0,5-1,2)	0,22
Erwachsen	92/395 (23%)	Ref		Ref	
männlich	56/432 (13%)	0,6 (0,4-0,9)	0,005	0,7 (0,4-0,9)	0,03
weiblich	87/445 (20%)	Ref		Ref	
Stadt	109/585 (19%)	1,7 (1,1-2,6)	0,005	1,3 (0,9-2,1)	0,19
Dorf	34/292 (12%)	Ref		Ref	
<i>LI</i>	15/81 (19%)	1,2 (0,7-2,1)	0,33	0,8 (0,4-1,5)	0,58
kein <i>LI</i>	128/796 (16%)	Ref		Ref	
<i>Mp</i>	21/117 (18%)	1,1 (0,7-1,9)	0,3	1,1 (0,6-1,8)	0,85
kein <i>Mp</i>	122/760 (16%)	Ref		Ref	
<i>Pf</i>	49/299 (16%)	1 (0,7-1,5)	0,5	1,7 (1,1-2,5)	0,02
kein <i>Pf</i>	94/578 (16%)	Ref		Ref	

Tabelle 3.2: Einflussfaktoren für Cephalgie bei der CMF-Studienpopulation.

3.1.3.3 Husten

In der gesamten CMF-Population steht Husten mit 102 (12%) der Patienten an dritter Stelle der subjektiven Beschwerden. Vor allem bei Kleinkindern ist Husten mit 62 (24%) der Fälle ein häufiges Symptom.

Filarien und Husten Der Nachweis von *L. loa* oder *M. perstans* scheint keinen signifikanten Einfluss auf die Angabe von Husten zu haben (Tab.3.3).

Husten	n/N	Unadjustiert		Adjustiert	
		OR (95%KI)	p-Wert	aOR (95%KI)	p-Wert
Kleinkind	62/256 (24%)	7,1 (4,0-12,5)	<0,0001	10,4 (5,7-20,1)	<0,0001
Kind	23/226 (10%)	2,5 (1,3-4,8)	0,004	3,4 (1,7-6,8)	0,0005
Erwachsen	17/395 (4%)	Ref		Ref	
männlich	57/432 (13%)	1,4 (0,9-2,0)	0,17	1,2 (0,8-1,9)	0,35
weiblich	45/445 (10%)	Ref		Ref	
Stadt	65/585 (11%)	0,9 (0,6-1,3)	0,5	1,1 (0,7-1,7)	0,84
Dorf	37/292 (13%)	Ref		Ref	
<i>Ll</i>	5/81 (6%)	0,5 (0,2-1,2)	0,14	1,1 (0,3-2,7)	0,91
kein <i>Ll</i>	97/796 (12%)	Ref		Ref	
<i>Mp</i>	13/117 (11%)	0,9 (0,5-1,7)	0,62	1,3 (0,6-2,5)	0,45
kein <i>Mp</i>	89/760 (12%)	Ref		Ref	
<i>Pf</i>	24/299 (8%)	0,6 (0,3-0,9)	0,019	0,3 (0,2-0,5)	<0,0001
kein <i>Pf</i>	78/578 (13%)	Ref		Ref	

Tabelle 3.3: Einflussfaktoren für Husten bei der CMF-Studienpopulation.

3.1.3.4 Arthralgie

Die Krankenhauspatienten schildern in 68 (8%) der Fälle Gelenkschmerzen als Symptom.

Filarien und Arthralgie Der Nachweis von *L. loa* oder *M. perstans* scheint keinen signifikanten Einfluss auf die Angabe von Arthralgien zu haben (Tab. 3.4).

Arthralgie	n/N	Unadjustiert		Adjustiert	
		OR (95%KI)	p-Wert	aOR (95%KI)	p-Wert
Kleinkind	1/256 (0,4%)	0,02 (0,003-0,2)	<0,0001	0,02 (0,001-0,08)	<0,0001
Kind	6/226 (3%)	0,1 (0,06-0,4)	<0,0001	0,1 (0,04-0,2)	<0,0001
Erwachsen	61/395 (15%)	Ref		Ref	
männlich	37/432 (9%)	1,3 (0,8-2,1)	0,38	1,6 (0,9-2,8)	0,07
weiblich	31/445 (7%)	Ref		Ref	
Stadt	51/585 (9%)	1,5 (0,9-2,7)	0,14	1,4 (0,7-2,5)	0,32
Dorf	17/292 (6%)	Ref		Ref	
<i>Ll</i>	12/81 (15%)	2,3 (1,2-4,5)	0,026	1,2 (0,6-2,4)	0,62
kein <i>Ll</i>	56/796 (7%)	Ref		Ref	
<i>Mp</i>	12/117 (10%)	1,4 (0,7-2,8)	0,27	1,0 (0,5-1,9)	0,95
kein <i>Mp</i>	56/760 (7%)	Ref		Ref	
<i>Pf</i>	22/299 (7%)	0,9 (0,5-1,6)	0,79	2,2 (1,2-4,0)	0,011
kein <i>Pf</i>	46/578 (8%)	Ref		Ref	

Tabelle 3.4: Einflussfaktoren für Arthralgie bei der CMF-Studienpopulation.

3.1.3.5 Juckreiz

Bei der Befragung geben 64 (7%) der Erkrankten Juckreiz als Beschwerde an.

Filarien und Juckreiz Für *L. loa* oder *Mansonella perstans* sind in der CMF-Population keine signifikanten Unterschiede bezüglich der Angabe von Juckreiz zu erkennen (Tab. 3.5).

Juckreiz	n/N	Unadjustiert		Adjustiert	
		OR (95%KI)	p-Wert	aOR (95%KI)	p-Wert
Kleinkind	1/256 (0,4%)	0,02 (0,003-0,2)	<0,0001	0,04 (0,002-0,2)	<0,0001
Kind	6/226 (3%)	0,16 (0,07-0,4)	<0,0001	0,2 (0,08-0,5)	0,0001
Erwachsen	57/395 (14%)	Ref		Ref	
männlich	28/432 (6%)	0,8 (0,5-1,3)	0,85	0,9 (0,5-1,6)	0,74
weiblich	36/445 (8%)	Ref		Ref	
Stadt	51/585 (9%)	2,0 (1,1-3,8)	0,013	1,7 (0,9-3,4)	0,11
Dorf	13/292 (4%)	Ref		Ref	
<i>Ll</i>	11/81 (14%)	2,2 (1,1-4,4)	0,039	0,9 (0,4-1,9)	0,89
Kein <i>Ll</i>	53/796 (7%)	Ref		Ref	
<i>Mp</i>	13/117 (11%)	1,7 (0,9-3,3)	0,12	1,4 (0,6-2,7)	0,41
Kein <i>Mp</i>	51/760 (7%)	Ref		Ref	
<i>Pf</i>	2/299 (1%)	0,06 (0,01-0,23)	<0,0001	0,1 (0,02-0,3)	<0,0001
kein <i>Pf</i>	62/578 (11%)	Ref		Ref	

Tabelle 3.5: Einflussfaktoren für Juckreiz bei der CMF-Studienpopulation.

3.1.3.6 Zusammenfassung der Symptome für *Loa loa* und *M. perstans*

In der vorliegenden Studie lassen sich dem Nachweis von *L. loa* oder *M. perstans* keine Symptome zuordnen. Der einzige nachweisbare, signifikante Einfluss ist eine etwas geringere Häufigkeit bezüglich der Angabe von Fieber bei den Patienten mit *M. perstans*.

3.1.3.7 Zusammenfassung der Symptome für *Plasmodium falciparum*

Im Gegensatz zu den Mikrofilarien hat der Nachweis von *P. falciparum* auf alle analysierten Symptome einen signifikanten Einfluss. Es ergibt sich ein signifikanter positiver Zusammenhang bezüglich Fieber, Cephalgie und Arthralgie sowie ein signifikant geringeres Risiko, dass die Patienten mit *P. falciparum* über Symptome wie Husten oder Juckreiz klagen.

3.1.4 Hämatologische Unterschiede bei Nachweis einer parasitären Infektion der CMF-Population

Es werden die möglichen Einflüsse eines Parasitennachweises auf die Ausprägung einer als pathologisch einzustufenden Veränderung im Blutbild analysiert. Aufgrund der geringen Fallzahlen werden bei Betrachtung der Mischinfektionen mit Filarien und *P. falciparum* die beiden Spezies *L. loa* und *M. perstans* unter dem Überbegriff "Mikrofilarien" ("MF") zusammengefasst.

3.1.4.1 Beschreibende Statistik der hämatologischen Veränderungen bei Nachweis einer parasitären Infektion

Eine Auflistung der geometrischen Mittelwerte der Konzentrationen einiger Blutbildparameter findet sich in der Tabelle (3.6).

		n (%)	HGB [g/dl] (95% KI)	PLT [$10^3/\mu\text{l}$] (95% KI)	EOS [$10^3/\mu\text{l}$] (95% KI)
Kleinkinder (N=256)	Negativ	116 (45%)	9,6 (9,3-10,0)	273 (243-306)	0,24 (0,19-0,30)
	MF	13 (5%)	9,4 (8,3-10,6)	234 (166-331)	1,37 (0,65-2,91)
	MF+Pf	15 (6%)	8,4 (7,5-9,4)	138 (96-200)	0,37 (0,18-0,74)
	Pf	112 (44%)	8,6 (8,3-9,0)	127 (114-141)	0,15 (0,12-0,18)
Kinder (N=226)	Negativ	109 (48%)	10,8 (10,5-11,1)	103 (184-225)	0,31 (0,24-0,40)
	MF	14 (6%)	12,1 (10,8-13,5)	164 (122-219)	0,60 (0,36-0,99)
	MF+Pf	10 (4%)	11,7 (10,2-13,4)	129 (95-178)	0,45 (0,21-0,94)
	Pf	93 (42%)	10,6 (10,2-11,1)	121 (107-138)	0,18 (0,14-0,23)
Erwachsene (N=395)	Negativ	225 (57%)	12,1 (11,8-12,4)	189 (180-199)	0,34 (0,28-0,40)
	MF	101 (26%)	11,7 (11,2-12,2)	186 (170-203)	0,80 (0,63-1,01)
	MF+Pf	20 (5%)	11,5 (10,5-12,7)	129 (100-167)	0,48 (0,31-0,73)
	Pf	49 (12%)	11,9 (11,3-12,7)	104 (90-119)	0,18 (0,12-0,26)

Tabelle 3.6: Geometrische Mittelwerte mit 95 % Konfidenzintervallen ausgewählter Blutbildparameter der CMF-Studienpopulation unter Berücksichtigung des Infektionsstatus.

Hämoglobin (HGB) bei Nachweis einer parasitären Infektion

Hämoglobin bei Patienten mit Mikrofilarien gegenüber Patienten ohne Parasitennachweis

In der Studienpopulation ist kein signifikanter Unterschied in der mittleren Hämoglobinkonzentration zwischen Patienten mit Mikrofilarien und denen ohne Parasitennachweis festzustellen (Abb. 3.5).

In den Vergleichen der Gruppen mit Mikrofilarien plus *P. falciparum* gegenüber *P. falciparum* allein ergibt sich in keiner der Altersgruppen ein signifikanter Unterschied bei der mittleren Hämoglobinkonzentration (Abb. 3.5).

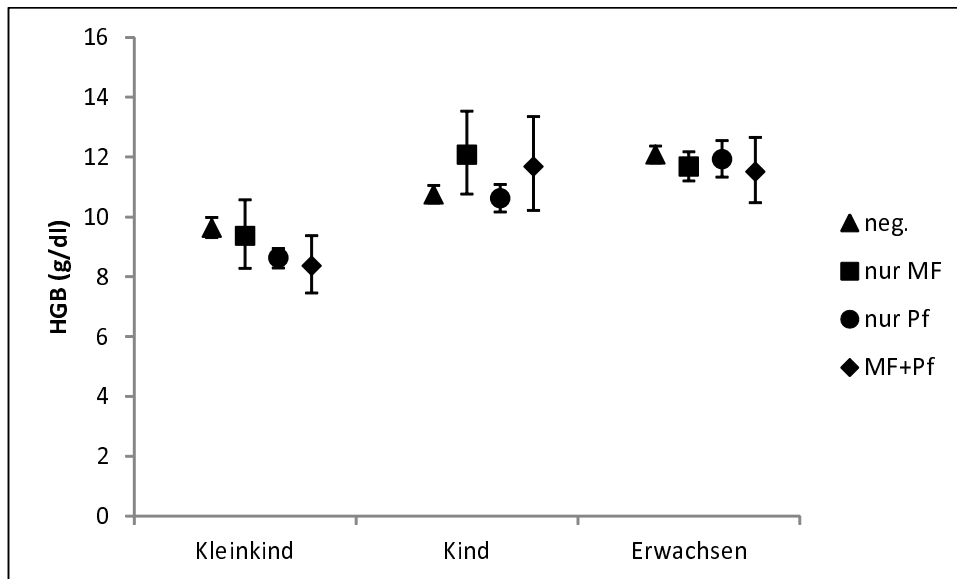


Abbildung 3.5: HGB (Geometrisches Mittel mit 95 % KI) bei Parasitosen in der CMF-Studienpopulation.

Thrombozyten (PLT) bei Nachweis einer parasitären Infektion Der Einfluss einer Infektion mit *P. falciparum* auf die Konzentration der Thrombozyten ist in allen Altersgruppen deutlich nachweisbar (Abb. 3.6).

In der Studienpopulation ist kein signifikanter Unterschied in der mittleren Thrombozytenkonzentration zwischen Patienten mit Mikrofilarien und denen ohne Parasitennachweis festzustellen (Abb. 3.6).

In den Vergleichen der Gruppen mit Mikrofilarien plus *P. falciparum* gegenüber *P. falciparum* allein ergibt sich in keiner der Altersgruppen ein signifikanter Unterschied bei der mittleren Thrombozytenkonzentration (Abb. 3.6).

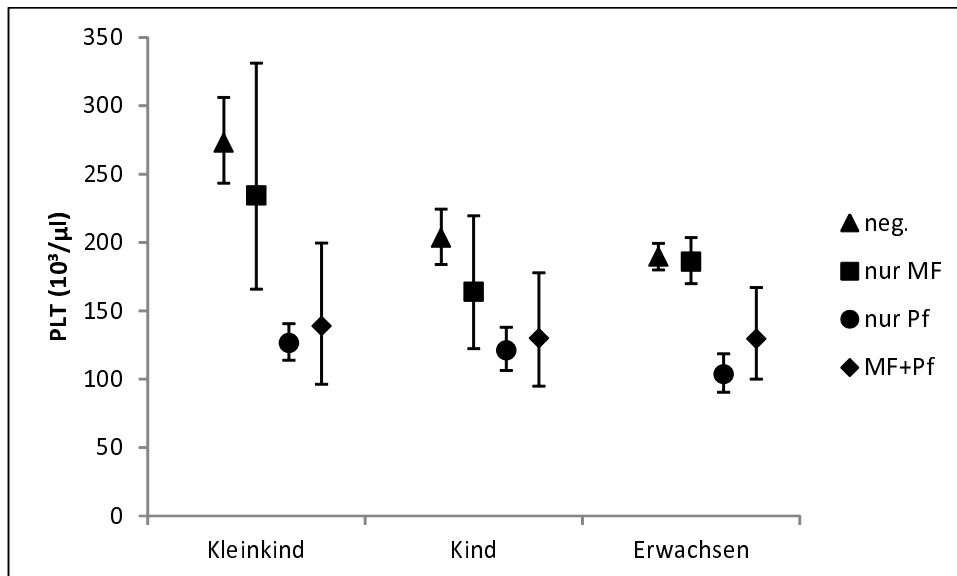


Abbildung 3.6: PLT (Geometrisches Mittel mit 95 % KI) bei Parasitosen in der CMF-Studienpopulation.

Eosinophile Granulozyten (EOS) bei Nachweis einer parasitären Infektion Die eosinophilen Granulozyten sind wohl die Blutzellen mit den größten Unterschieden zwischen den verschiedenen Infektionskonstellationen. Es zeigt sich ein entgegengesetzter Effekt mit erhöhten Konzentrationen der eosinophilen Granulozyten bei Mikrofilarien und erniedrigten Konzentrationen bei *P. falciparum* (Abb. 3.7).

In der Studienpopulation zeigt sich in allen Altersgruppen eine erhöhte Konzentration der eosinophilen Granulozyten bei Mikrofilarien im Vergleich zu Patienten ohne Parasitennachweis. Für Erwachsene und Kleinkinder ist dieser Unterschied auch hochsignifikant.

Für Patienten mit Mikrofilarien plus *P. falciparum* ergibt sich in den Gruppen der Kleinkinder und der Erwachsenen eine im geometrischen Mittel signifikant höhere Konzentration der eosinophilen Granulozyten gegenüber den Patienten mit *P. falciparum* allein.

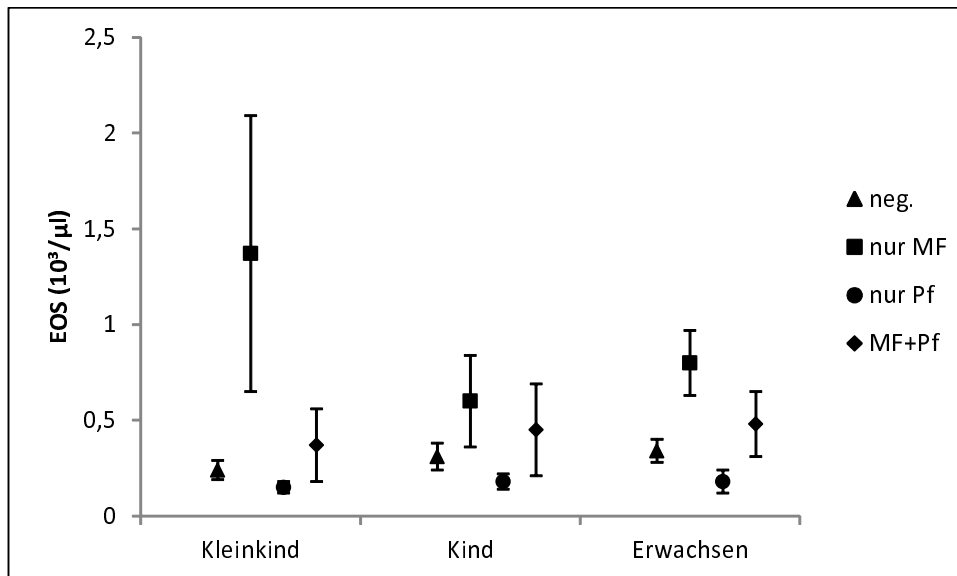


Abbildung 3.7: EOS (Geometrisches Mittel mit 95 % KI) bei Parasitosen in der CMF-Studienpopulation.

Lymphozyten (LYM) bei Nachweis einer parasitären Infektion In allen Altersgruppen haben die Patienten mit *P. falciparum* signifikant niedrigere Lymphozyten-Konzentrationen als die Patienten ohne Parasitennachweis.

Bei Mikrofilarien ergibt sich nur in der Gruppe der Erwachsenen eine signifikant erhöhte Konzentration der Lymphozyten gegenüber den Patienten ohne Parasitose.

In den Vergleichen der Gruppen mit Mikrofilarien plus *P. falciparum* gegenüber *P. falciparum* allein ergibt sich in keiner der Altersgruppen ein signifikanter Unterschied bei der mittleren Lymphozytenkonzentration.

Leukozyten (LEU), Monozyten (MON), und Basophile Granulozyten (BAS) bei Nachweis einer parasitären Infektion Bei Leukozyten, Monozyten, und basophilen Granulozyten ergibt sich nur in der Gruppe der Erwachsenen ein signifikanter Unterschied bei Infektion mit Mikrofilarien.

Die Erwachsenen mit Mikrofilarien haben im geometrischen Mittel höhere Leukozytenkonzentrationen als die Patienten ohne Parasitennachweis.

Auch für die Monozyten haben die Erwachsenen mit Mikrofilarien im geometrischen Mittel höhere Konzentrationen.

Bei den basophilen Granulozyten haben die Erwachsenen mit Mikrofilarien im geometrischen Mittel ebenfalls höhere Werte als die Patienten ohne Parasitennachweis.

In den Vergleichen der Gruppen mit Mikrofilarien plus *P. falciparum* gegenüber *P. falciparum* allein ergibt sich in keiner der Altersgruppen ein signifikanter Unterschied bei der mittleren Konzentration der LEU, MON oder BAS.

Neutrophile Granulozyten (NEU) bei Nachweis einer parasitären Infektion In der Studienpopulation ist kein signifikanter Unterschied in der mittleren Konzentration der neutrophilen Granulozyten zwischen Patienten mit Mikrofilarien und denen ohne Parasitennachweis festzustellen.

In den Vergleichen der Gruppen mit Mikrofilarien plus *P. falciparum* gegenüber *P. falciparum* allein ergibt sich in keiner der Altersgruppen ein signifikanter Unterschied bei der mittleren Konzentration der neutrophilen Granulozyten.

3.1.4.2 Analytische Auswertung pathologischer Blutbildveränderungen bei Nachweis einer parasitären Infektion

Leukozytose bei Nachweis einer parasitären Infektion Als Leukozytose werden alle Leukozytenkonzentrationen gewertet, welche die Grenzwerte von 14000/ μ l für Kleinkinder, 13200/ μ l für Kinder und 9100/ μ l für Erwachsene übersteigen (Siehe auch Tab. 2.1). In der gesamten CMF-Population trifft dies für 121 (14%) der Patienten zu.

Bei der Analyse eines möglichen Zusammenhangs zwischen einer Leukozytose mit dem Nachweis eines der Parasiten ergeben sich bei *L. loa* sowohl in der unadjustierten als auch in der adjustierten Auswertung deutliche Unterschiede bezüglich der Häufigkeit einer Leukozytose. So liegt das Risiko bei den Patienten mit *L. loa* in der adjustierten Analyse um den Faktor 2,5 höher als bei der Gruppe ohne *L. loa*. Auch bei *M. perstans* zeigt sich eine ähnliche Tendenz, wobei nur bei der unadjustierten Berechnung eine Signifikanz nachweisbar ist.

Der Nachweis von *P. falciparum* ergibt in der unadjustierten Auswertung einen signifikanten Zusammenhang mit einer selteneren Ausprägung einer Leukozytose. Nach Adjustierung der Werte ist der Zusammenhang jedoch nicht mehr signifikant.

Liegt eine Mischinfektion mit Mikrofilarien und *P. falciparum* vor, so zeigt sich kein relevanter Unterschied gegenüber Patienten ohne Parasitennachweis (Tab. 3.7).

Leukozytose	n/N (%)	Unadjustiert		Adjustiert	
		OR (95%KI)	p-Wert	aOR (95%KI)	p-Wert
Kleinkind	32/255 (13%)	0,6 (0,4-0,9)	0,023	0,9 (0,5-1,4)	0,63
Kind	13/226 (6%)	0,3 (0,1-0,5)	<0,0001	0,4 (0,2-0,7)	0,0008
Erwachsen	76/395 (19%)	Ref		Ref	
männlich	52/431 (12%)	0,7 (0,5-1,1)	0,14	0,8 (0,5-1,1)	0,24
weiblich	69/445 (16%)	Ref		Ref	
<i>Li</i>	26/81 (32%)	3,5 (2,1-5,8)	<0,0001	2,5 (1,4-4,4)	0,0014
kein <i>Li</i>	95/700 (12%)	Ref		Ref	
<i>Mp</i>	26/117 (22%)	2,0 (1,2-3,2)	0,0089	1,5 (0,9-2,5)	0,12
kein <i>Mp</i>	95/759 (13%)	Ref		Ref	
<i>Pf</i>	27/298 (9%)	0,5 (0,3-0,8)	0,0037	0,7 (0,4-1,1)	0,090
kein <i>Pf</i>	94/578 (16%)	Ref		Ref	
MF + <i>Pf</i>	7/45 (16%)	1,2 (0,5-3,0)	0,64	1,3 (0,5-2,9)	0,56
nur MF	37/128 (29%)	2,8 (1,7-4,5)	<0,0001	2,5 (1,5-4,0)	0,0004
nur <i>Pf</i>	20/253 (8%)	0,6 (0,3-1,0)	0,059	0,7 (0,4-1,1)	0,13
negativ	57/431 (13%)	Ref		Ref	

Tabelle 3.7: Einflussfaktoren für eine Leukozytose bei der CMF-Studienpopulation.

Anämie bei Nachweis einer parasitären Infektion Bei einer Hämoglobinkonzentration von weniger als 8,5 g/dl für Kleinkinder, 10 g/dl für Kinder, 12 g/dl für Männer und 10,5 g/dl für Frauen werden die Patienten als anämisch eingestuft (Siehe auch Tab. 2.1). In der Gesamtpopulation betrifft dies 210 (24%) der Patienten.

Es zeigt sich ein signifikanter Zusammenhang zwischen einer Anämie und dem Nachweis von *P. falciparum* aber auch bei *M. perstans*, der jedoch deutlich schwächer ausgeprägt ist. Der Nachweis von *L. loa* hat in keiner der Auswertungen einen relevanten Einfluss auf die Hämoglobinkonzentration.

Bei Nachweis von Mikrofilarien und *P. falciparum* findet sich in 38% der Fälle eine Anämie. Dies ist sogar noch etwas häufiger (nicht signifikant) als bei *P. falciparum* alleine (Tab. 3.8).

Anämie	n/N (%)	Unadjustiert		Adjustiert	
		OR (95%KI)	p-Wert	aOR (95%KI)	p-Wert
Kleinkind	67/255 (26%)	1,3 (0,9-1,8)	0,19	1,1 (0,8-1,7)	0,54
Kind	57/226 (25%)	1,2 (0,8-1,8)	0,33	1,1 (0,7-1,7)	0,62
Erwachsen	86/395 (22%)	Ref		Ref	
männlich	94/431 (22%)	0,8 (0,6-1,1)	0,15	0,7 (0,5-1,0)	0,055
weiblich	116/445 (26%)	Ref		Ref	
<i>Lf</i>	21/81 (26%)	1,1 (0,7-1,9)	0,68	1,3 (0,7-2,2)	0,40
kein <i>Lf</i>	189/795 (24%)	Ref		Ref	
<i>Mp</i>	37/117 (32%)	1,6 (1,0-2,4)	0,047	1,6 (1,1-2,5)	0,030
kein <i>Mp</i>	173/759 (23%)	Ref		Ref	
<i>Pf</i>	98/298 (33%)	2,0 (1,5-2,8)	<0,0001	2,1 (1,5-3,0)	<0,0001
kein <i>Pf</i>	112/578 (19%)	Ref		Ref	
MF + <i>Pf</i>	17/45 (38%)	2,9 (1,5-5,6)	0,0021	2,9 (1,5-5,5)	0,0024
nur MF	35/128 (27%)	1,8 (1,2-2,9)	0,011	2,0 (1,2-3,2)	0,0024
nur <i>Pf</i>	81/253 (32%)	2,3 (1,6-3,3)	<0,0001	2,2 (1,5-3,3)	<0,0001
negativ	77/450 (17%)	Ref		Ref	

Tabelle 3.8: Einflussfaktoren für eine Anämie bei der CMF-Studienpopulation.

Thrombopenie bei Nachweis einer parasitären Infektion Als eine Thrombopenie wird eine Thrombozytenkonzentration von unter 192000/ μ l für Kleinkinder, 130000/ μ l für Kinder und 126000/ μ l für Erwachsene definiert (Siehe auch Tab. 2.1).

Dies trifft für 274 (31%) der CMF-Patienten zu.

In der unadjustierten Auswertung ergibt sich ein signifikanter Unterschied bei Nachweis von *L. loa*, der jedoch nach Adjustierung nicht mehr nachweisbar ist. *M. perstans* scheint keinen Einfluss auf das Auftreten einer Thrombopenie zu haben.

P. falciparum hingegen ist mit einem um den Faktor 10 erhöhten Risiko für eine Thrombopenie verbunden.

Bei Nachweis von Mikrofilarien und *P. falciparum* tritt ebenfalls gehäuft eine Thrombopenie auf. Mit einem 7,4 mal so großen Risiko im Vergleich zu den nicht infizierten Patienten ist dies etwas geringer als bei Nachweis von *P. falciparum* alleine (Tab. 3.9).

Thrombopenie	n/N (%)	Unadjustiert		Adjustiert	
		OR (95%KI)	p-Wert	aOR (95%KI)	p-Wert
Kleinkind	114/255 (45%)	3,2 (2,3-4,6)	<0,0001	1,7 (1,1-2,6)	0,011
Kind	81/226 (36%)	2,2 (1,5-3,2)	<0,0001	1,2 (0,7-1,8)	0,49
Erwachsen	79/395 (20%)	Ref		Ref	
männlich	151/431 (35%)	1,4 (1,1-1,9)	0,02	1,2 (0,8-1,7)	0,32
weiblich	123/445 (27%)	Ref		Ref	
<i>LI</i>	15/81 (19%)	0,5 (0,3-0,8)	0,0083	0,8 (0,4-1,5)	0,47
kein <i>LI</i>	259/795 (33%)	Ref		Ref	
<i>Mp</i>	35/117 (30%)	0,9 (0,6-1,4)	0,83	1,3 (0,8-2,1)	0,33
kein <i>Mp</i>	239/759 (31%)	Ref		Ref	
<i>Pf</i>	192/298 (64%)	11 (7,8-15)	<0,0001	9,7 (6,9-14)	<0,0001
kein <i>Pf</i>	82/578 (14%)	Ref		Ref	
MF + <i>Pf</i>	24/45 (53%)	7,4 (3,9-14,2)	<0,0001	7,4 (3,9-14,3)	<0,0001
nur MF	22/128 (17%)	1,3 (0,8-2,3)	0,31	1,6 (0,9-2,8)	0,085
nur <i>Pf</i>	168/253 (66%)	12,8 (8,8-18,7)	<0,0001	11,5 (7,9-16,9)	<0,0001
negativ	60/450 (13%)	Ref		Ref	

Tabelle 3.9: Einflussfaktoren für eine Thrombopenie bei der CMF-Studienpopulation.

Eosinophilie bei Nachweis einer parasitären Infektion Ein Überschreiten der Eosinophilenkonzentration von 1000/ μ l bei Kleinkindern und Kindern beziehungsweise von 1500/ μ l bei Erwachsenen bedeutet eine Eosinophilie (Siehe auch Tab. 2.1). In der CMF-Population sind 133 (17%) der Patienten davon betroffen.

L. loa, *M. perstans* und *P. falciparum* haben allesamt einen hochsignifikanten Einfluss auf die Ausprägung einer Eosinophilie. Sowohl bei *L. loa* als auch bei *M. perstans*-Nachweis haben die Patienten ein etwa drei Mal so hohes Risiko, eine Eosinophilie zu haben.

Im Gegensatz dazu ist bei *P. falciparum* das Risiko für eine Eosinophilie nur 0,4 mal so groß wie bei Patienten ohne *P. falciparum*.

Für die Patienten, bei denen sowohl Mikrofilarien als auch *P. falciparum* nachweisbar ist, kann kein relevanter Unterschied zu den Patienten ohne Parasitennachweis gezeigt werden (Tab. 3.10).

Eosinophilie	n/N (%)	Unadjustiert		Adjustiert	
		OR (95%KI)	p-Wert	aOR (95%KI)	p-Wert
Kleinkind	32/228 (14%)	0,7 (0,4-1,1)	0,15	1,3 (0,7-2,1)	0,38
Kind	36/209 (17%)	0,9 (0,6-1,4)	0,69	1,6 (1-2,6)	0,072
Erwachsen	65/350 (19%)	Ref		Ref	
männlich	73/384 (19%)	1,3 (0,9-2)	0,074	1,5 (1,0-2,2)	0,058
weiblich	60/403 (15%)	Ref		Ref	
<i>LI</i>	26/71 (37%)	3,3 (1,9-5,6)	<0,0001	2,6 (1,4-4,7)	0,0022
Kein <i>LI</i>	107/716 (15%)	Ref		Ref	
<i>Mp</i>	37/104 (36%)	3,4 (2,1-5,3)	<0,0001	3,2 (1,9-5,1)	<0,0001
Kein <i>Mp</i>	96/683 (14%)	Ref		Ref	
<i>Pf</i>	24/271 (9%)	0,4 (0,2-0,6)	<0,0001	0,4 (0,2-0,6)	<0,0001
kein <i>Pf</i>	109/516 (21%)	Ref		Ref	
MF + <i>Pf</i>	7/40 (18%)	1,1 (0,5-2,5)	0,83	1,1 (0,4-2,5)	0,81
nur MF	42/113 (37%)	3,0 (1,9-4,7)	<0,0001	3,0 (1,8-4,9)	<0,0001
nur <i>Pf</i>	17/231 (7%)	0,4 (0,2-0,7)	0,0009	0,4 (0,2-0,7)	0,0004
negativ	67/403 (17%)	Ref		Ref	

Tabelle 3.10: Einflussfaktoren für eine Eosinophilie bei der CMF-Studienpopulation.

Lymphozytose bei Nachweis einer parasitären Infektion Eine Lymphozytose mit einer Lymphozytenkonzentration von über 7110/ μ l bei Kleinkindern, 3200/ μ l bei Kindern und 3700/ μ l bei Erwachsenen kann bei 57 (7%) der CMF-Patienten nachgewiesen werden (Siehe auch Tab. 2.1).

Für *M. perstans* und *L. loa* lassen ergebnen sich keine signifikanten Unterschiede für den Nachweis einer Lymphozytose. Bei *P. falciparum* kann eine negativ ausgeprägte, signifikante Korrelation mit einem Risiko von 0,4 im Vergleich zur nicht infizierten CMF-Population nachgewiesen werden.

Monozytose bei Nachweis einer parasitären Infektion Eine Monozytose mit einer Lymphozytenkonzentration von über 1620/ μ l bei Kleinkindern, 750/ μ l bei Kindern und 780/ μ l bei Erwachsenen betrifft insgesamt 213 (24%) der CMF-Patienten (Siehe auch Tab. 2.1).

Für keine der nachgewiesenen parasitären Infektionen ergibt sich ein Zusammenhang mit der Ausprägung einer Monozytose.

Neutrophilie bei Nachweis einer parasitären Infektion Eine Neutrophilie wird durch das Überschreiten der Konzentration der neutrophilen Granulozyten von 6850/ μ l bei Kleinkindern, 7300/ μ l bei Kindern und 5300/ μ l bei Erwachsenen definiert. In der CMF-Population kommt dies bei 108 (14%) der Patienten vor (Siehe auch Tab. 2.1).

Für keine der nachgewiesenen parasitären Infektionen ergibt sich ein relevanter Zusammenhang mit der Ausprägung einer Neutrophilie.

Basophilie bei Nachweis einer parasitären Infektion Bei 97 (11%) der CMF-Patienten kann eine Basophilie nachgewiesen werden, das heißt eine Erhöhung der Konzentration der basophilen Granulozyten auf Werte über 220/ μ l bei Kleinkindern, 120/ μ l bei Kindern und 100/ μ l bei Erwachsenen (Siehe auch Tab. 2.1).

In der Gruppe der Patienten mit Nachweis von *M. perstans* kann sowohl in der adjustierten als auch in der unadjustierten Analyse ein signifikanter Einfluß mit einem um den Faktor 1,8 erhöhten Risiko bezüglich der Ausprägung einer Basophilie gezeigt werden. Für *L. loa* und *P. falciparum* ergibt sich kein signifikanter Zusammenhang.

3.1.4.3 Parasitämie bei Mischinfektion

Bezüglich einer quantitativen Auswertung der Parasitämie von *L. loa*, *M. perstans* und *P. falciparum* ergibt sich bei keiner der Spezies ein signifikanter Unterschied der geometrischen Mittelwerte der jeweiligen Parasitenkonzentration im "Dicken Tropfen" zwischen Einfach- oder Mischinfektionen.

3.2 4ABC-Studie: Unkomplizierte Malaria bei afrikanischen Kindern

3.2.1 Alters und Geschlechtsverteilung bei den 4ABC-Kindern

Da nicht alle der für die Studie angefertigten "Dicken Tropfen" auch auf Mikrofilarien geprüft wurden, erfolgt hier nur die Auswertung einer kleinen Sub-Population von 14 Kindern, die in mindestens einem der "Dicken Tropfen" Mikrofilarien positiv waren (*M. perstans* oder *L. loa*) gegenüber einer Kontrollgruppe von 20 Kindern, ohne Mikrofilarien-Nachweis in allen der von ihnen angefertigten "Dicken Tropfen" (Tab. 3.11).

	Alle Kinder	MF	Keine MF
Alter in Jahren [Mittelwert (SD)]	3,3 (0,9)	3,5 (0,8)	3,2 (1)
Geschlecht [weiblich/ männlich]	1,4	1,8	1,2
<i>Pf</i> pro μl [Geom. Mittelwert (Spanne)]	12033 (2440-183400)	24876 (2440-183400)	12143 (2550-163100)

Tabelle 3.11: Subpopulation der 4ABC-Kinder

3.2.2 Das Differentialblutbild bei den 4ABC-Kindern

Die Auswertung des Differentialblutbildes ergibt bei der Analyse des Unterschieds zwischen den 4ABC-Kindern mit und ohne Mikrofilarien teilweise hoch signifikante Unterschiede bei den eosinophilen und basophilen Granulozyten sowie den Lymphozyten. Die geometrischen Mittelwerte der neutrophilen Granulozyten, die Thrombozyten und die Hämoglobin-Konzentration sind in beiden Gruppen hingegen nahezu identisch und verlaufen auch bei den Messungen nach Therapie der *Malaria tropica* fast genau gleich.

3.2.2.1 Hämoglobinkonzentration der 4ABC-Kinder

Die mittleren Hämoglobinkonzentrationen der zwei Gruppen verlaufen nahezu identisch (Abb. 3.8). Vom Tag der Aufnahme in die Studie (D0) bis zum dritten Tag (D3) kommt es zunächst zu einem Abfall der Konzentration, gefolgt von einem kontinuierlichen Anstieg des Hämoglobin von D3 bis D28.

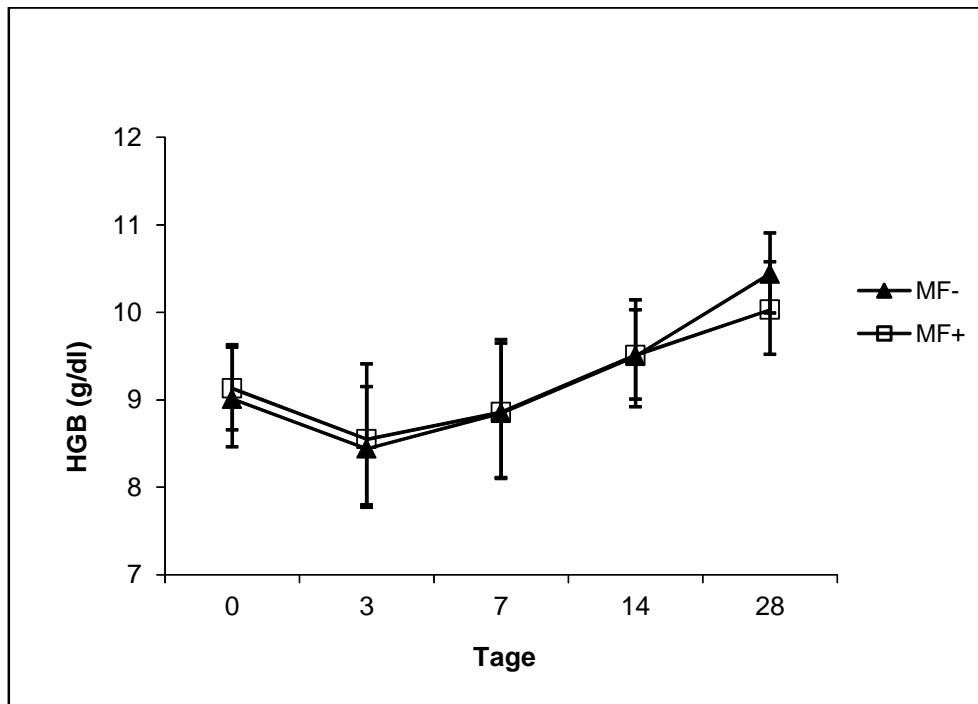


Abbildung 3.8: Hämoglobinkonzentration (Geometrisches Mittel mit 95 % KI) zu den verschiedenen Entnahmezeitpunkten unter Beachtung des Nachweises von Mikrofilarien im "Dicken Tropfen" der Kinder.

Im paarweisen Vergleich zeigt sich in beiden Gruppen ein Abfall des Hämoglobin von D0 bis D3. In der Gruppe ohne Mikrofilarien ist die Differenz D3-D0 signifikant, bei den Kindern mit Mikrofilarien jedoch nicht. Nach erfolgreicher Therapie der Malaria kommt es in beiden Gruppen zu einem kontinuierlichen Anstieg der mittleren Hämoglobinkonzentration, die sich am D28 in beiden Gruppen signifikant von den Werten an D0 und D3 unterscheidet.

3.2.2.2 Thrombozyten der 4ABC-Kinder

Für die Thrombozyten finden sich die niedrigsten mittleren Konzentrationen am D0. Es folgt ein Anstieg bis D7, gefolgt von einem leichten Rückgang der Konzentration bis D28. Die Kurven der beiden Gruppen verlaufen auch hier sehr ähnlich.

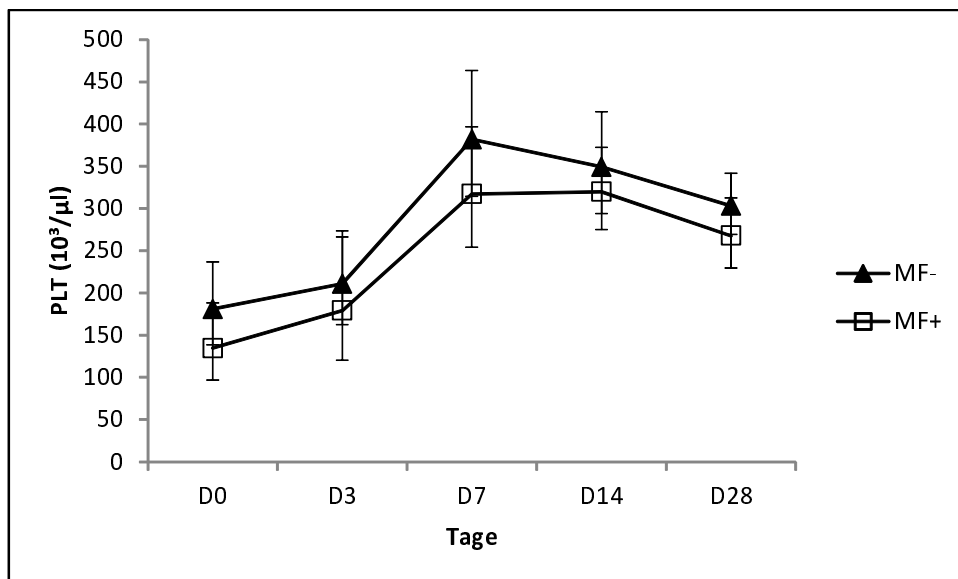


Abbildung 3.9: Thrombozyten (Geometrisches Mittel mit 95 % KI) zu den verschiedenen Entnahmezeitpunkten unter Beachtung des Nachweises von Mikrofilarien im "Dicken Tropfen" der Kinder.

Im paarweisen Vergleich ergeben sich für beide Gruppen insbesondere für den Anstieg der Konzentration von D3 nach D7 deutlich signifikante Unterschiede. Bei beiden Gruppen ist zudem der Abfall der Konzentration von D14 nach D28 signifikant.

3.2.2.3 Eosinophile Granulozyten der 4ABC-Kinder

Am ersten Tag der Studie (D0), an dem bei allen Kindern zudem *P. falciparum* nachweisbar ist, fällt der Unterschied des geometrischen Mittelwertes der Eosinophilen deutlich geringer aus als an den anderen Tagen mit Blutentnahme. Trotzdem haben die Kinder mit Nachweis von Mikrofilarien signifikant mehr eosinophile Granulozyten als die Kontrollgruppe ohne Mikrofilarien. Am D0 beginnt zudem bei allen Kindern die Therapie mit einem der drei Antimalaria-Medikamente (Artesunat-Amodiaquin; Artemeter-Lumefantrin oder Dihydroartemisinin-Piperaquinin). Beim nächsten Entnahmezeitpunkt drei Tage später und nach Ende der Antimalaria-Therapie (D3) ist bei keinem der Kinder mehr *P. falciparum* im "Dicken Tropfen" nachweisbar.

Bei beiden Gruppen findet sich nun im zeitlichen Verlauf eine ähnliche "Kinetik" bezüglich der Zunahme der EOS-Konzentrationen:

Am D0 ist die Anzahl der eosinophilen Granulozyten im Vergleich zu den anderen Entnahmen am niedrigsten. Danach kommt es zunächst zu einem deutlichen Anstieg von D0 nach D3 und von D3 nach D7. Simultan fällt dann am D14 die mittlere EOS-Konzentration wieder ab, um dann am D28 in beiden Gruppen die im geometrischen Mittel höchsten Werte zu erreichen.

Im paarweisen Vergleich innerhalb der Gruppen erweisen sich bei den 4ABC-Kindern ohne Mikrofilarien fast alle Unterschiede zwischen den konsekutiven Messungen als signifikant unterschiedlich, wohingegen bei der Gruppe mit Mikrofilarien nur die Konzentrationen zwischen D3 und D0 signifikant unterschiedlich sind (Abb. 3.10).

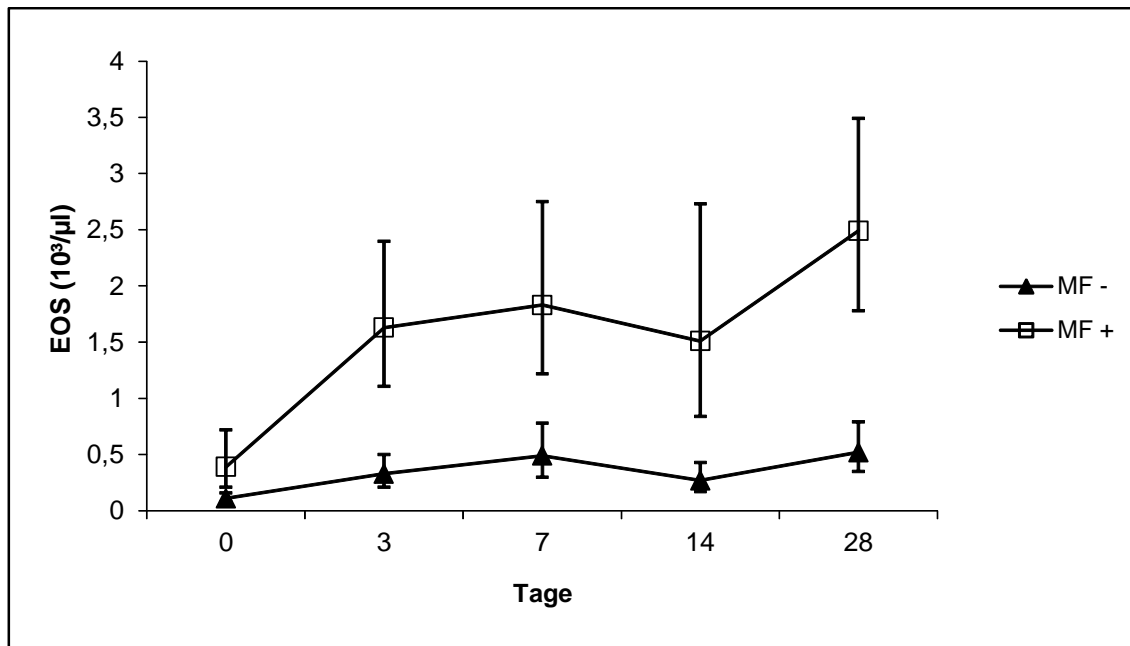


Abbildung 3.10: Eosinophile Granulozyten (Geometrisches Mittel mit 95 % KI) zu den verschiedenen Entnahmezeitpunkten unter Beachtung des Nachweises von Mikrofilarien im "Dicken Tropfen" der 4ABC-Kinder.

3.2.2.4 Lymphozyten der 4ABC-Kinder

Die Lymphozyten zeigen eine ähnliche "Kinetik" wie die eosinophilen Granulozyten (Abb. 3.11). Am ersten Tag mit Malaria sind die Konzentrationen im Vergleich zu den Folgemessungen am niedrigsten und zudem der Unterschied zwischen den zwei Gruppen mit und ohne Mikrofilarien am geringsten. Die 4ABC-Kinder mit Mikrofilarien haben durchweg die im geometrischen Mittel höheren Lymphozyten-Konzentrationen, wobei der Unterschied erst für die letzten beiden Messungen an D14 und D28 signifikant ist.

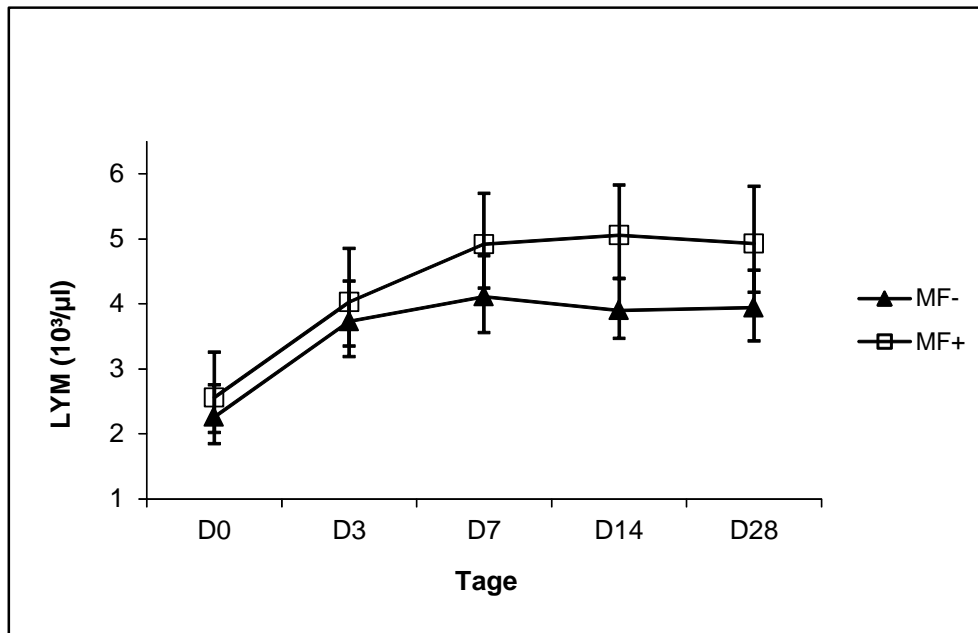


Abbildung 3.11: Lymphozytenkonzentration (Geometrisches Mittel mit 95 % KI) zu den verschiedenen Entnahmezeitpunkten unter Beachtung des Nachweises von Mikrofilarien im "Dicken Tropfen" der 4ABC-Kinder.

Die paarweisen Vergleiche ergeben in der Gruppe mit Mikrofilarien lediglich zwischen den Konzentration von D0 und D3 einen signifikanten Anstieg. In der Gruppe ohne Mikrofilarien ist ebenfalls nur die Differenz zwischen D0 und D3 signifikant unterschiedlich.

3.2.2.5 Neutrophile Granulozyten der 4ABC-Kinder

Im Gegensatz zu den eosinophilen Granulozyten und den Lymphozyten gibt es bei den neutrophilen Granulozyten keinen signifikanten Unterschied zwischen Kindern mit und ohne Mikrofilarien. Beide Kurven verlaufen nahezu identisch. Die Neutrophilen sind die einzige Subpopulation des Differentialblutbilds, die am Tag 0, das heißt, bei symptomatischer Infektion mit *P. falciparum* eine im geometrischen Mittel höhere Konzentration im peripher venösen Blut aufweisen als bei allen Folgemessungen. Im paarweisen Vergleich der geometrischen Mittelwerte ist der Konzentrationsabfall in beiden Gruppen signifikant.

3.2.2.6 Monozyten der 4ABC-Kinder

Die Monozyten unterscheiden sich in der Betrachtung der Konzentration über die Entnahmezeitpunkte von allen anderen Blutzellen. Die Kinder mit Mikrofilarien haben in allen Messungen sehr konstante Werte, wohingegen die Werte bei der Kontrollgruppe, nachdem sie bei den Messungen D0 und D3 noch etwas niedrigere Konzentrationen haben, am D7 über die Werte der MF-Kinder ansteigen, um dann bei den Messungen D14 und D28 deutlich abzufallen. An den letzten beiden Messungen ergibt sich hierfür auch eine signifikante Differenz (Abb. 3.12).

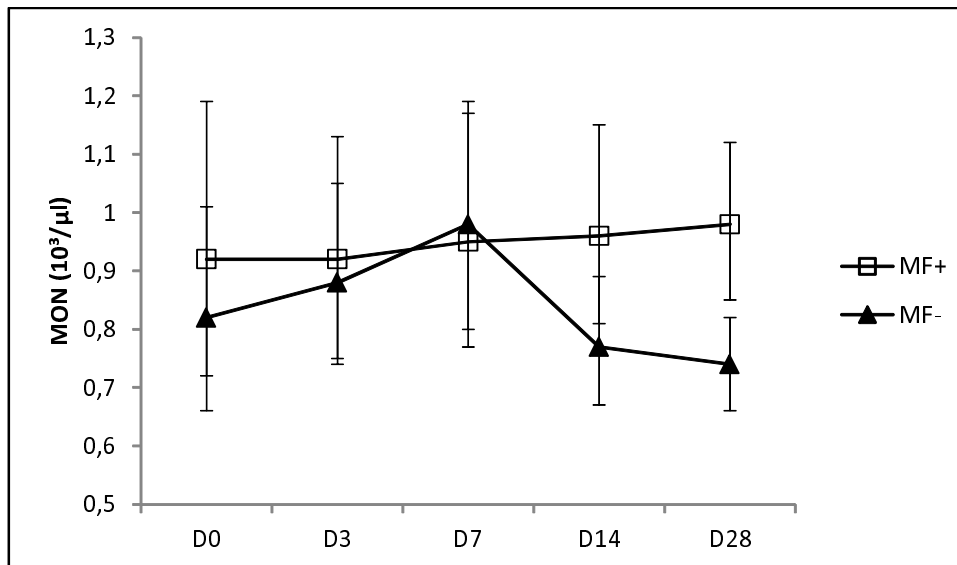


Abbildung 3.12: Monozytenkonzentration (Geometrisches Mittel mit 95 % KI) zu den verschiedenen Entnahmezeitpunkten unter Beachtung des Nachweises von Mikrofilarien im "Dicken Tropfen" der 4ABC-Kinder.

3.2.2.7 Basophile Granulozyten der 4ABC-Kinder

Bei Betrachtung der basophilen Granulozyten fällt eine ähnliche "Kinetik" auf wie bei den Lymphozyten. Die niedrigsten und zudem am wenigsten unterschiedlichen mittleren Konzentrationen findet man am D0, gefolgt von einem Anstieg nach Therapie der Malaria. Im Unterschied zu den Lymphozyten zeigt sich, dass die Konzentration in der Gruppe der 4ABC-Kinder ohne Mikrofilarien ab D7 wieder abfällt, während es in der Gruppe mit Mikrofilarien zu einem kontinuierlichen Anstieg kommt, der am D14 sein Plateau zu erreichen scheint. Durch den Rückgang der Konzentration bei den 4ABC-Kindern ohne Mikrofilarien ab D14 ergibt sich für D14 und D28 ein signifikanter Unterschied zwischen den zwei Gruppen, wobei die signifikant höheren Werte bei den 4ABC-Kindern mit Mikrofilarien auftreten.

Der paarweise Vergleich ergibt beim Anstieg der mittleren Konzentration der Basophilen bei den 4ABC-Kindern mit Mikrofilarien von D0 nach D3 einen signifikanten Unterschied. In der Gruppe ohne Mikrofilarien-Nachweis ist der Rückgang der mittleren Konzentration zwischen D7 und D14 signifikant unterschiedlich (Abb.3.13).

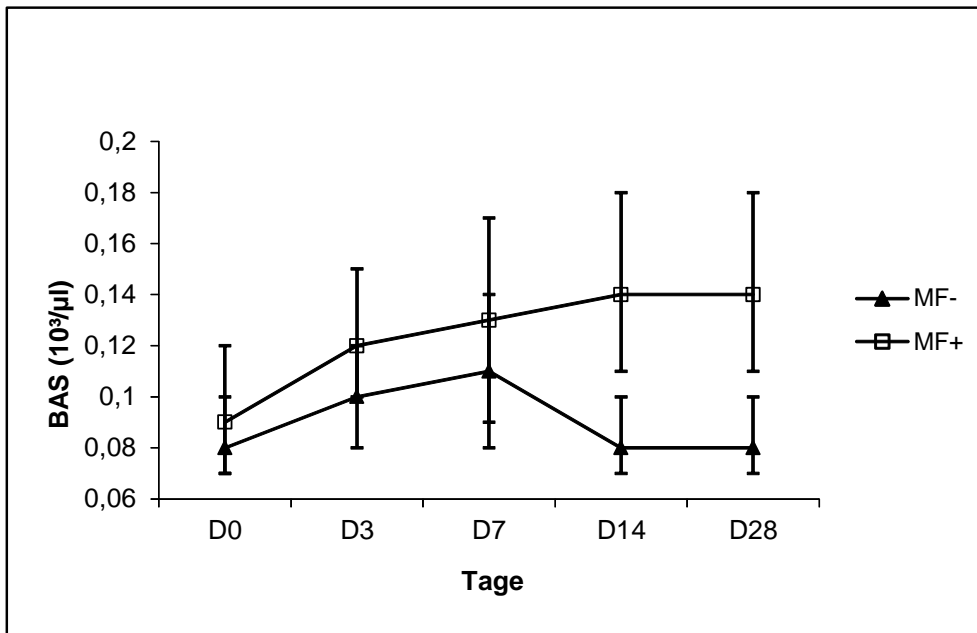


Abbildung 3.13: Basophile Granulozyten (Geometrisches Mittel mit 95 % KI) zu den verschiedenen Entnahmezeitpunkten unter Beachtung des Nachweises von Mikrofilarien im "Dicken Tropfen" der 4ABC-Kinder.

Kapitel 4

DISKUSSION

4.1 CMF

4.1.1 Allgemeine Anmerkungen

4.1.1.1 Die kranke Population

Bei der Auswertung und Beurteilung der Daten muss berücksichtigt werden, dass es sich größten Teils um Untersuchungen an Kranken handelt, von denen man jedoch außer den auf Nachfrage genannten Symptomen keine weiteren Anhaltspunkte für die Diagnose der zugrundeliegenden Erkrankung hat. Einzig bei den Patienten mit *P. falciparum* ist es wahrscheinlich, dass die Infektion der Grund für die Konsultation war, insbesondere dann, wenn die Patienten zusätzlich Fieber angaben [117, 118].

Diese Ungewissheit bezüglich der zugrundeliegenden Erkrankung bedeutet natürlich einen wichtigen Störfaktor für die Auswertung der hämatologischen Ergebnisse. Man muss davon ausgehen, dass ein unbekannt großer Anteil der Patienten mit Mikrofilarien eigentlich wegen einer anderen Erkrankung ins Krankenhaus kommt. Bakterielle oder virale Infektionen an sich können bekanntermaßen bereits zu deutlichen Veränderungen im Differentialblutbild führen [119]. Da auch die Patienten ohne Mikrofilarien (oder *P. falciparum*) im "Dicken Tropfen" ebenfalls an viralen oder bakteriellen Infektionen erkrankt sind, kann angenommen werden, dass über die gesamte Population eine ähnliche Verteilung vorliegt und sich somit die Auswirkungen auf das Blutbild durch virale oder bakterielle Infektionen relativieren.

4.1.1.2 Die Labor-Verhältnisse

Das Labor des CRMN in Fougamou war als Ableger des CERMEL des Albert-Schweitzer-Krankenhauses in Lambaréné erst wenige Wochen vor Beginn der Studie in Betrieb genommen worden. Für die direkt durchführbaren Untersuchungen wie "Dicker Tropfen" und DIFF stellte dies kein Problem dar, aber leider ermöglichte die Ausstattung weder die Durchführung molekularbiologischer Methoden noch eine zuverlässige Konservierung von Proben für spätere Analysen. Dies bedingt die in Zeiten von ELISA und FACS simplen Analysen der vorhandenen Blutproben. Ziel

ist es hierbei nicht, vorhandene Erkenntnisse zu vertiefen, sondern vielmehr die Population unter Berücksichtigung der noch wenig erforschten Filariosen mit *M. perstans* und *L. loa* bezüglich Auffälligkeiten im Blutbild zu screenen. Die in der Studie aufgezeigten Unterschiede können nun im weiteren als Ansatzpunkte für technisch aufwendigere molekularbiologische Untersuchungen dienen.

4.1.1.3 Das junge Durchschnittsalter

Mit einem Median von 14 Jahren handelt es sich um eine relativ junge Studienpopulation. Dies liegt sicher zum einen daran, dass in Gabun das Durchschnittsalter mit 18,6 Jahren [111] auch verglichen mit europäischen Verhältnissen sehr niedrig ist, zum anderen aber auch daran, dass die Bevölkerung wusste, dass im Rahmen der im CRMN durchgeführten 4ABC Studie mit an Malaria erkrankten Kindern eventuell eine kostenlose Behandlung für Kinder möglich war, und daher viele Eltern ihre Kinder zu uns brachten.

4.1.2 Prävalenz

4.1.2.1 Unterschiede bei der Prävalenz von Mikrofilarien im “Dicken Tropfen”

In der Studie zeigen sich signifikante geschlechtsspezifische Prävalenzunterschiede für *M. perstans* bei Kleinkindern und Kindern. Von den insgesamt 43 *M. perstans* Infizierten sind 30 (6%) Mädchen und nur 13 (3%) Jungen, obgleich in der Studie mehr Jungen als Mädchen untersucht wurden (Jungen: 265, Mädchen: 217). Warum Mädchen dieser Altersgruppen in der CMF-Population ein mehr als doppelt so hohes Risiko für eine Infektion mit *M. perstans* zu haben scheinen, bleibt unklar (siehe Abb 3.1). Eine mögliche Erklärung könnten geschlechtsbedingte Unterschiede des Immunsystems sein. Im Rahmen von Studien im Gebiet der Allergologie finden sich Hinweise auf diesbezügliche Variationen. Johnson *et al.* zeigten etwa signifikant niedrigere IgE-Serum Konzentrationen bei 2- und 4-jährigen Mädchen im Vergleich zu den gleichaltrigen Jungen [120]. Ob derartige Unterschiede tatsächlich für die in der Studie gefundene höhere Prävalenz bei den Mädchen verantwortlich sind und ob es sich überhaupt um einen echten Effekt bei Infektionen mit *M. perstans* handelt, kann mit den vorliegenden Daten leider nicht beantwortet werden.

Für *L. loa* finden sich keine derartigen Unterschiede. In mehreren anderen Studien scheinen Männer häufiger infiziert zu sein als Frauen, wobei es sich hierbei vor allem um Erwachsene handelt [9, 10, 11, 121]. Auch in der CMF-Population findet sich für beide untersuchten Mikrofilarien eine - jedoch nicht signifikant erhöhte - Prävalenz bei den erwachsenen Männern im Vergleich zu den Frauen. Es gibt allerdings eine bislang nicht erwähnte Ausnahme:

Die Schwangeren der CMF-Entbindungsstation In unserem Labor wurden neben den bereits erwähnten Studienpopulationen auch Blutuntersuchungen für die Entbindungsstation des CMF gemacht. Da es sich hierbei um von den Hebammen angeordnete Routineuntersuchungen an gesunden Schwangeren handelte, wurden die erhobenen Daten nicht in die CMF-Analyse aufgenommen.

Auffällig war die signifikant höhere Prävalenz von Mikrofilarien bei den schwangeren Frauen (44% Schwangere gegenüber 23% nicht Schwangere).

Im Rahmen der MiP-PAD-Studie [122], bei der in Fougamou und Lambaréné über 1000 Schwangere auch auf Mikrofilarien untersucht wurden, ergab sich eine Prävalenz von 18 % für *L. loa* im Blut der Schwangeren. Die deutlich niedrige Prävalenz ist jedoch dadurch bedingt, dass *M. perstans* nicht berücksichtigt wurde [123]. Ansonsten konnten in der Literatur keine entsprechenden Daten gefunden werden, die Unterschiede in der Prävalenz bei Schwangeren gegenüber nicht schwangeren Frauen vergleichen. Für *Wucheria bancrofti* fanden Alexander und Grenfell einen ähnlichen Effekt, wobei es bei der Studie insgesamt darum ging, ein Erklärungsmodell für die insgesamt geringere Prävalenz der Mikrofilarien bei Frauen im gebärfähigen Alter gegenüber der bei gleichaltrigen Männern zu finden [124].

Aufgrund des Studiendesigns kann leider auch nicht unterschieden werden, ob es sich um einen echten Effekt der Schwangerschaft oder vielleicht doch etwa um einen Effekt der nicht weiter diagnostizierten Erkrankungen bei der CMF-Population handelt, da beides einen Einfluss auf das Immunsystem haben kann und eigentlich eine "gesunde" Population für den Vergleich erforderlich wäre. Analog zu den Überlegungen bezüglich der Unterschiede bei den Kindern könnte jedoch auch hier eine Immunmodulation bei den Schwangeren für den beobachteten Effekt verantwortlich sein. Die Tatsache, dass in der Schwangerschaft ein "Fremdorganismus" toleriert werden muss, könnte sich dementsprechend auch günstig auf das Überleben der Mikrofilarien im Blut auswirken. Wegmann und Kollegen postulierten 1993 eine Immunmodulation im Sinne einer Unterdrückung der TH1 Cytokine durch TH2 Cytokine als wichtige Voraussetzung für eine erfolgreiche Schwangerschaft [125]. Auch in einer Review von Sykes *et al.* wird diese These vertreten [126]. In den letzten Jahren finden sich zudem zunehmend Publikationen, die auf eine wichtige Rolle regulatorischer T-Zell Populationen für eine erfolgreiche Befruchtung und Schwangerschaft hinweisen [127, 128]. Die regulatorischen T-Zellen scheinen jedoch auch bezüglich der Immunmodulation, die chronische Infektionen mit Helminthen ermöglicht, eine wichtige Rolle zu spielen [129, 130, 131, 132]. Vor diesem Hintergrund wäre es durchaus möglich, dass es sich um einen echten Effekt handeln könnte. Die Immunmodulation mit gesteigerter Toleranz durch die Schwangerschaft könnte als Nebeneffekt eine höhere Mikrofilariämie ermöglichen. Es könnte aber auch so sein, dass die Immunmodulation durch die Filarieninfektion die Befruchtung, Einnistung und die Entwicklung einer Schwangerschaft günstig beeinflusst und so Frauen mit Filarien (insbesondere unter den Bedingungen im tropischen Afrika) leichter bzw. häufiger schwanger werden. Einen ähnlichen Zusammenhang postulierten Blackwell und Kollegen bei Frauen mit *Ascaris lumbricoides* Infektion in Bolivien. In einer longitudinalen Studie in der 986 Frauen über 9 Jahre begleitet wurden fanden sie einen positiven Zusammenhang zwischen *Ascaris*-Infektionen und jüngerem Alter der erstgebärenden Mütter sowie kürzeren Intervallen zwischen den Geburten. Infektion mit Hackenwürmern scheinen in der Studie einen negativen Einfluss zu haben. Eine mögliche Erklärung sehen Blackwell und Kollegen in den unterschiedlich gearteten immunmodulatorischen Auswirkungen der Helminth-Infektionen [133]. Auch bei Filarien wäre ein derartiger Zusammenhang möglich. Um diese Thesen weiter zu prüfen, sind jedoch weitere, gezielte Untersuchungen erforderlich.

4.1.3 Die Symptome

4.1.3.1 Fieber

Das mit Abstand am häufigsten angegebene Symptom ist Fieber, gefolgt von Husten bei den Kleinkindern und Kopfschmerz bei den Kindern und Erwachsenen. Bei Patienten mit *P. falciparum*-Nachweis wird Fieber sogar in 80% der Fälle als Symptom genannt. Wie bereits von Rogier und Kollegen beschrieben gibt es diesbezüglich eine signifikante Abnahme mit dem Alter [134]. Bei den Kleinkindern mit *P. falciparum* sind es 95%, bei den Kindern 90% und bei den Erwachsenen nur noch 72% der Patienten mit *P. falciparum*-Nachweis, die bei der Aufnahme Fieber als Symptom angeben.

Auch wenn in der Studie nicht gezielt zwischen symptomatischer und asymptomatischer *P. falciparum* Infektion unterschieden wurde, so stimmen die beschriebenen Unterschiede zwischen den Altersgruppen mit den mehrfach beschriebenen Erkenntnissen bezüglich der Ausbildung einer erworbenen protektiven Immunität gegenüber *P. falciparum* überein [135, 136].

Für *M. perstans* zeigte sich im Gegensatz zu *P. falciparum* eine im Vergleich zur sonstigen Studienpopulation geringere Wahrscheinlichkeit für die Angabe von Fieber. Da der Effekt nicht sehr stark zu sein scheint, ist unklar, ob es sich um einen echten Zusammenhang handelt oder ob andere Faktoren dafür verantwortlich sind. So wurde zum Beispiel nicht genauer überprüft, wie die Patienten zu der Aussage kamen, dass sie Fieber haben, und ob die Körpertemperatur tatsächlich mit einem Thermometer gemessen wurde.

Da es sich sowohl aus physiologischer als auch aus immunologischer Sichtweise um einen interessanten Zusammenhang handeln könnte, wäre eine weitere Überprüfung der These, dass *M. perstans* die Entstehung von Fieber beeinträchtigt zu erwägen.

Im Gegensatz dazu findet sich in einigen Publikationen die Aussage, dass eine Mansonellosis selbst zu Fieber führen kann [9, 137]. Demgegenüber stehen die Hypothesen, dass Filarieninfektionen zu einer Modulation des Immunsystems führen können, welche zum Beispiel für den in der Studie beobachteten Effekt verantwortlich sein könnte [11].

4.1.3.2 Symptome durch Mikrofilarien

Bei den Patienten mit Mikrofilarien ist kein erkennbares Beschwerdebild zu ermitteln. Dies mag zum einen daran liegen, dass die diagnostische Genauigkeit unzureichend ist, oder daran, dass die Infektionen mit *L. loa* und *M. perstans* oft tatsächlich nicht zu relevanten Beschwerden führen [9, 10, 11] beziehungsweise zu derart vielfältigen Beschwerden führen können, dass kein einheitliches Bild entsteht beziehungsweise weitere Untersuchungen erforderlich wären, um eine Erkrankung wie zum Beispiel Endomyokardfibrose, Nierenversagen, Glomerulonephritis, Infiltrationen der Lunge oder neurologische Symptome [11, 43, 138] überhaupt zu diagnostizieren. Ein weiterer Faktor ist auch, dass die durch virale oder bakterielle Infektionen verursachten Beschwerden der Krankenhauspatienten im Vergleich eventuell gravierender sind. Insgesamt ist das Studiendesign nicht dazu geeignet, eine Aussage über mögliche von Filarien verursachte Symptome zu machen. Es zeigt sich lediglich, dass der im "Dicken Tropfen" diagnostizierte Mikrofilarienstatus bei Patienten, die das Krankenhaus aufsuchen, nicht mit den subjektiv geschilderten Beschwerden der Patienten in Zusammenhang gebracht werden kann. Ob der Nachweis von Mikrofilarien

etwas mit dem Grund für die Vorstellung im Krankenhaus zu tun hat, bleibt dabei leider unklar, wie auch die Anzahl der okkulten Filarieninfektionen bei den CMF-Patienten. Zudem ist bekannt, dass oft selbst bei den klassischen Filarien-Symptomen wie den Calabar-Schwellungen an den Unterarmen oder bei Nachweis eines Wurms in der Konjunktiva keine Mikrofilarien im peripheren venösen Blut nachgewiesen werden können [50, 121]

Auffallend ist auch, dass keiner der Patienten von sich aus angab, das Krankenhaus wegen einem Wurm im Auge aufzusuchen.

4.2 Differentialblutbild

4.2.1 Zusammenfassung der Unterschiede im Differentialblutbild bei Parasitämie

Auch wenn letztlich statistische Gründe bei der Zusammenfassung von *M. perstans* und *L. loa* ausschlaggebend waren, so ist doch unter Berücksichtigung der Studien von Kombila und Richard-Lenoble, die zeigen, dass 87% der Probanden mit zwei oder mehr Filarien-Arten infiziert sind [104, 105], eine Zusammenfassung auch aus epidemiologischer Sicht durchaus vertretbar. Eine Infektion mit einer einzelnen Spezies scheint im Vergleich zu Mehrfachinfektionen eher selten zu sein, und somit sind vermutlich fast 90 % der mikrofilariämischen Patienten noch mit weiteren Filarien-Arten infiziert. Dies bezieht sich nicht nur auf *M. perstans* und *L. loa* sondern auch auf *Onchocerca volvulus*, *M. streptocerca* und *M. rodhaini*, die ebenfalls in der Region endemisch sind [139].

4.2.1.1 Tendenz der Blutbildveränderungen bei Parasitennachweis

In der Studie zeigen sich die Veränderungen im Blut der Patienten mit Mikrofilarien vor allem als eine Zunahme der Eosinophilen und Lymphozyten, bei *P. falciparum* hingegen findet sich eine verminderte Konzentration dieser Blutkörperchen im peripher-venösen Blut.

Bei den Erwachsenen mit Mikrofilarien fallen zudem signifikant erhöhte Konzentrationen der Monozyten und der basophilen Granulozyten auf.

Insbesondere den Eosinophilen und auch den Basophilen wurde in den letzten Jahren zunehmend Aufmerksamkeit im Zusammenhang mit Wurminfektionen geschenkt. Dachte man früher, es handele sich vor allem um Effektorzellen, so zeigt sich immer deutlicher, dass beide Populationen eine wichtige Rolle bei der Steuerung der Immunantwort spielen [140, 141, 142, 143].

Bei den Basophilen wurde jedoch, im Gegensatz zu den Studien an Tieren, bislang ein vermehrtes Auftreten im Blut von infizierten Menschen jedoch bislang noch nicht eindeutig gezeigt [144]. In der vorliegenden Arbeit zeigen sich in der Gruppe der Erwachsenen signifikant erhöhte Konzentrationen der basophilen Granulozyten bei den CMF-Patienten mit Nachweis von Mikrofilarien. Bei den Patienten mit *M. perstans* lässt sich sogar das signifikant häufigere Auftreten einer Basophilie nachweisen.

In einer nachträglichen Analyse zeigt sich zudem bei den Erwachsenen mit *P. falciparum*, dass die Patienten, die Fieber als Symptom angeben, eine signifikant niedrigere Konzentration der Basophilen aufweisen als die Patienten mit *P. falciparum* ohne Fieber. Dies könnte ein Hinweis für einen Einfluss der Basophilen auf die Ausprägung der Immunantwort sein. Basophile können auf verschiedenen Wegen (zum Beispiel durch die Zytokine IL-4 und IL-13 [145] oder Histamin [146]) sowohl die Stimulation als auch die Downregulation von Th1 und Th2 Zellen beeinflussen. Ob sie hierbei eine entscheidende Rolle im Rahmen der asymptomatischen Malaria spielen, scheint noch unklar. Pelleau *et al.* zeigten jedoch, dass die Basophilen von Patienten mit schwerer Malaria *in vitro* signifikant stärker auf eine Stimulation mit Calcimycin und Hemozoin reagierten als Patienten mit unkomplizierter Malaria, woraus die Autoren einen möglichen Zusammenhang des Schweregrades der Malaria und der Reaktivität der basophilen Granulozyten ableiteten [147].

Von Kurtzhals und Kollegen wurde eine mögliche Rolle der Eosinophilen bei der Entwicklung der schweren cerebralen Malaria gezeigt [93]. Die Ergebnisse dieser Studien lassen jedoch keinen Rückschluss darauf zu, was die eosinophilen und basophilen Granulozyten dazu bringt, verstärkt zu reagieren und insbesondere auch nicht, ob sich die Koinfektion mit Filarien oder anderen Helminthen eventuell hierbei auf die Reaktionsfreudigkeit der Immunzellen auswirkt.

4.2.1.2 Blutbildveränderungen bei Mischinfektionen

Die beschriebenen Veränderungen im Rahmen der jeweiligen Infektionen sind teilweise wohl bekannt und mehrfach beschrieben [11, 43, 50, 94, 148]. Die vorliegende Studie zeigt jedoch zusätzlich, wie sich eine Überlagerung der Infektionen im Differentialblutbild darstellt.

Bei Plasmodien und Filarien handelt es sich um zwei sehr unterschiedlich verlaufende Infektionskrankheiten. *L. loa* und *M. perstans* scheinen "still und harmlos" zu sein, *P. falciparum* hingegen ist "laut und gefährlich". Dementsprechend steht die eine Erkrankung für eine extrem kontrollierte Immunreaktion bei einer chronischen Infektion (fast schon Koexistenz), die andere bedeutet eine akute Lebensgefahr mit explosiver Vermehrung des Erregers, meist Fieber und deutliche Beeinträchtigung des Allgemeinbefindens der Patienten [129].

Bezüglich des Differentialblutbilds sieht man bei den Filarien vor allem eine Erhöhung der Eosinophilen (Kleinkind und Erwachsene) und der Lymphozyten (Erwachsene), bei *P. falciparum* sind beide Populationen im peripheren Blut vergleichsweise erniedrigt.

Kommt es nun zu einer Mischinfektion, so ergeben sich Konzentrationen zwischen den Werten der einzelnen Infektionen.

Bei den Patienten der Studie, bei denen Mikrofilarien und *P. falciparum* nachgewiesen werden, scheint der Einfluss von *P. falciparum* den entgegengesetzten Effekt einer Mikrofilarien-Infektion zu überlagern. Im Vergleich zu nicht Infizierten gibt es signifikante Unterschiede nur im Sinne der durch *P. falciparum* hervorgerufenen erniedrigten Konzentrationen des HGB (nur Kleinkinder), der Thrombozyten (Kleinkinder und Erwachsene) sowie eine signifikant erniedrigte Konzentration der Lymphozyten bei den Erwachsenen mit Mischinfektion gegenüber jenen ohne Parasitennachweis.

Vergleicht man Infektionen mit Mikrofilarien allein gegenüber Mischinfektionen mit Mikrofilarien und *P. falciparum*, so haben die Patienten mit beiden Parasiten signifikant weniger eosinophile Granulozyten (Kleinkinder), Thrombozyten und Lymphozyten (Erwachsene) als die allein mit Mikrofilarien infizierten. Auch dies entspricht den zuvor bei *P. falciparum* festgestellten Effekten.

Einzig bei dem Vergleich von Mischinfektionen gegenüber *P. falciparum* allein zeigt sich der durch die Mikrofilarien hervorgerufene Effekt der signifikant erhöhten eosinophilen Granulozyten, die in diesem Fall bei der Mischinfektion signifikant höhere Konzentrationen aufweisen als bei *P. falciparum* alleine (Kleinkinder und Erwachsene).

Das Studiendesign lässt kaum eine quantitative Einschätzung der Blutbildveränderungen zu. Es zeigt sich jedoch, dass die vorbestehende Infektion mit Filarien zu einem weiter nachweisbaren signifikanten Unterschied in Bezug auf die Konzentration der Eosinophilen führt. Man könnte also sagen, dass sich das Immunsystem nicht alleine auf *P. falciparum* einstellt, sondern auch die zuvor schon bestehende Eosinophilie weiter nachweisbar bleibt, obgleich sie im Vergleich zur alleinigen Fialarieninfektion schwächer ausgeprägt ist.

Tendenziell scheint in allen Gruppen bei den Patienten mit *P. falciparum* und Mikrofilarien etwas seltener Fieber aufzutreten als bei den Patienten mit *P. falciparum* alleine wobei die Unterschiede nicht signifikant sind.

Ebenfalls nicht signifikant jedoch tendenziell in allen Altersgruppen nachweisbar ist der etwas häufigere Nachweis einer Anämie bei den Patienten mit Mischinfektion im Vergleich zu *P. falciparum* allein. Da in der Studie bereits ein signifikanter Zusammenhang zwischen einer Anämie und *M. perstans* Infektionen gezeigt wurde erscheint dieser Effekt durch eine zusätzliche Infektion mit *P. falciparum* zumindest nicht dramatisch verstärkt zu werden.

Auch die Höhe der Parasitämie der Plasmodien im Blut scheint nicht durch die Mikrofilarien beeinflusst zu werden.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass in der Studie im Bezug auf den Nachweis von Mikrofilarien kein signifikanter Unterschied bezüglich den subjektiven Symptomen oder dem Auftreten einer Anämie bei *P. falciparum* Infektion auftritt. Die signifikant unterschiedlichen Konzentrationen der eosinophilen Granulozyten könnte jedoch trotzdem darauf hinweisen, dass der Krankheitsverlauf der Malaria durch die zusätzliche Infektion mit Filarien beeinflusst wird.

Die eosinophilen Granulozyten scheinen im Bezug auf die Entwicklung einer schweren, cerebralen Malaria eine Rolle zu spielen [93]. Der Nachweis einer erhöhten Konzentration im Blut läßt jedoch leider keine Schlüsse auf die Aktivität und über die Größe der gesamten Population der Eosinophilen im Körper zu (inklusive Gewebe und innere Organe), und vor allem scheint es nicht nur eine einfache Reaktion der Eosinophilen und Basophilen auf Stimulation zu geben, sondern vielmehr sind zahlreiche Abstufungen möglich, sodass man nicht von vornherein sagen kann, ob die Zellen die Immunreaktion weiter stimulieren oder vielleicht sogar bremsen [140, 141, 142, 143, 145, 146, 149].

4.3 4ABC

Bei der Betrachtung der Blutbildparameter (geometrische Mittelwerte) über die verschiedenen im Protokoll der 4ABC-Studie vorgesehenen Messzeitpunkte bestätigen sich die zuvor für die CMF-Population beschriebenen Veränderungen.

Betrachtet man nur D0 und D28 so ergeben sich die gleichen vier Gruppen wie in der CMF-Population (*Pf*, *Pf* und *MF*, nur *MF* und kein Parasit). Der Unterschied besteht jedoch darin, dass

es sich um klarere Verhältnisse bezüglich der Erkrankung handelt. Am D0 haben alle Malaria und am D28 sind alle gesund. Zudem handelt es sich natürlich in beiden Gruppen um die selben Kinder und somit um einen viel direkteren Vergleich bezüglich der Veränderungen über die Zeit nach einer Malariaepisode.

Bezüglich der eosinophilen Granulozyten, der basophilen Granulozyten, der Lymphozyten und der Monozyten ergeben sich über die Zeit deutliche (oft hoch signifikante) Unterschiede zwischen den Kindern mit Mikrofilarien-Nachweis und jenen ohne.

4.4 Schlussfolgerung und Ansatzpunkte für weitere Studien

Bereits die sehr einfache Betrachtung der Blutbildparameter und der subjektiven Krankheitssymptome der vorliegenden Arbeit legt nahe, dass es sich bei Filarien und *P. falciparum* um unterschiedliche, wenn nicht sogar entgegengesetzte Reaktionen des Körpers auf Parasiten handelt. Bei Malaria besteht eine akute Lebensgefahr und die Virulenz der Infektion erfordert eine rasche Kontrolle des Erregers. Im Gegensatz dazu verhalten sich die deutlich größeren Nematoden weniger aggressiv, denn obgleich teilweise hohe Konzentrationen der Parasiten im Blut nachweisbar sind lassen sich bei der CMF-Population keine sicher mit dem Auftreten der Mikrofilarien korrelierenden Krankheitssymptome feststellen.

Im Rahmen der Diskussion um die sogenannten vernachlässigten Krankheiten ("Neglected Diseases") taucht auch die Frage auf, ob den Filariosen mehr Bedeutung zukommen sollte. Im Falle von *L. loa* besteht die Gefahr tödlicher Nebenwirkungen im Rahmen der großangelegten Ivermectin-Behandlungen zur Eindämmung der Onchocercose, sodass in den letzten Jahren zahlreiche Studien durchgeführt wurden [12].

Ein weiterer möglicherweise zu beachtender Effekt einer medikamentösen Reduktion der Mikrofilariämie ist, dass sich dies günstig auf das Überleben der Mikrofilarien im Vector auswirken könnte und somit indirekt die Verbreitung begünstigt werden könnte [150].

Es bleibt ein umstrittenes Thema. Ist es wirklich ein Problem, die Patienten mit *L. loa* und *M. perstans* nicht zu behandeln? Was kann man noch aus klinisch derart "unauffälligen" Infektionen lernen? Zum einen für das Verständnis des Immunsystems, zum anderen hinsichtlich einer eventuell evolutionär sinnvollen Koexistenz zwischen Mensch und Parasit? 2001 prägte Joshua Lederberg den Begriff des "Microbiom" für die Gesamtheit der Mikroorganismen die sich in unserem Körper befinden [1]. Seither wird an den bislang nur wenig beachteten, da nicht krankmachenden, Bakterien zunehmend geforscht [151]. Für Darmbakterien wird der Einfluss auf Immunsystem, Stoffwechsel, Nervensystem und Psyche kontrovers diskutiert [152, 153, 154, 155]. Auch Filarien könnten in diesem Zusammenspiel eine Rolle spielen.

Für einen sinnvollen Umgang mit diesen "neglected Diseases" sollte zunächst die Koexistenz weiter untersucht werden, bevor man Menschen, die wenig Beschwerden haben, durch unnötige medikamentöse Therapie womöglich Schaden zufügt. Sei dies nun direkt durch unerwünschte Arzneimittelwirkungen und/oder indirekt durch die Störung einer nützlichen "Partnerschaft" oder durch insgesamt sinnfreie Therapie bei Gefahr der sofortigen Reinfektion.

Jackson und Kollegen gehen in ihrer Review sogar soweit, die Hypothese aufzustellen, dass unser Immunsystem über die gesamte Evolution hinweg mit der Infektion durch zahlreiche Helminthen

konfrontiert war und sich derart entwickelt hat, dass dem Menschen durch zu starke Reaktionen des eigenen Immunsystems kein Schaden entsteht. Dementsprechend hat sich im letzten Jahrhundert durch den deutlichen Rückgang der Wurminfektionen in den Industriestaaten eine bislang nicht dagewesene Situation für unser Immunsystem ergeben. Dies könnte nun wiederum dazu führen, dass fehlerhafte Reaktionswege im immunmodulatorischen Netzwerk zum Vorschein kommen, die ansonsten durch die Wurminfektion gar nicht möglich waren [129].

Kapitel 5

Zusammenfassung

Die Studie wurde in Fougamou, einer Kleinstadt im Landesinneren von Gabun, an 877 Patienten des dortigen Krankenhauses (CMF) sowie einer kleinen Gruppe von 34 Kindern aus dem Kollektiv der 4ABC-Studie durchgeführt.

Die Probanden wurden zur statistischen Auswertung je nach dem Ergebnis des Dicken Tropfen in die Gruppen "kein Parasit", *P. falciparum*, *L. loa*, *M. perstans* und Mischinfektionen mit Mikrofilarien und *P. falciparum* und zusätzlich in drei Altersgruppen (Kleinkind, Kind und Erwachsenen) aufgeteilt.

Prävalenz Die häufigste parasitäre Infektion war *P. falciparum* mit 34 % der Patienten, gefolgt von 13 % *M. perstans*, 9 % *L. loa*, 5 % Mischinfektionen von Mikrofilarien mit *P. falciparum* und 3 % Mischinfektionen mit *L. loa* und *M. perstans*. Mit zunehmendem Alter nahmen die Infektionen mit *P. falciparum* deutlich ab, wohingegen die Mikrofilarien vermehrt nachgewiesen werden konnten.

Symptome Bei Registrierung der CMF-Patienten wurde der Grund für die Konsultation erfragt. Die geschilderten Symptome wurden ebenfalls in Bezug auf die Altersgruppen und die Parasitämien analysiert. Bei den Mikrofilarien ergab sich ein signifikanter Zusammenhang lediglich bezüglich der geringeren Angabe von Fieber bei Patienten mit *M. perstans*. Die Patienten mit *P. falciparum* gaben hingegen signifikant häufiger Beschwerden wie Fieber, Cephalgie und Arthralgie an und klagten zudem signifikant seltener über Husten oder Juckreiz.

Hämatologische Unterschiede

CMF-Population In der Studie zeigen sich die Veränderungen im Blut der Patienten mit Mikrofilarien vor allem als eine Zunahme der Eosinophilen und Lymphozyten, bei *P. falciparum* hingegen findet sich eine verminderte Konzentrationen dieser Blutkörperchen im peripher-venösen Blut. Bei den Erwachsenen mit Mikrofilarien fallen zudem signifikant erhöhte Konzentrationen der Monozyten und der basophilen Granulozyten auf.

4ABC-Kinder Bezüglich der eosinophilen Granulozyten, der basophilen Granulozyten, der Lymphozyten und der Monozyten ergeben sich über die Zeit deutliche (oft hoch signifikante) Unterschiede zwischen den Kindern mit Mikrofilarien-Nachweis und jenen ohne.

Schlussfolgerung Der Nachweis von Mikrofilarien im Blut kann, im Gegensatz zu *P. falciparum*, nicht mit der Schilderung spezifischer Symptome in Verbindung gebracht werden. Inwieweit die Filarien-Infekte zu Krankheitssymptomen führen, bleibt daher unklar, wobei die insgesamt "kranke" Population die Aussagekraft abschwächt.

Bei Betrachtung der Blutbildveränderungen zeigen sich teilweise hochsignifikante Unterschiede zwischen den unterschiedlichen Infektionskonstellationen. Bei den Mischinfektionen (MF + Pf) ergeben sich im Differentialblutbild teilweise Konzentrationen zwischen denen der nur mit MF oder Pf infizierten Patienten, sodass eine gegenseitigen Beeinflussung möglich erscheint, obgleich die Studie aufgrund ihres Designs keine Aussage über den weiteren Verlauf der jeweiligen Erkrankungen ermöglicht.

Die Frage, ob sich eine Infektion mit *L. loa* oder *M. perstans* insgesamt schädlich, oder vielleicht sogar günstig auf die Patienten auswirkt, bleibt weiter offen. Da in der Studie (im Gegensatz zu Pf) kein eindeutiger negativer Einfluss gezeigt werden kann, wäre es zumindest möglich, dass eine Infektion mit diesen Filarienarten besser nicht behandelt werden sollte. Hierfür erscheinen aus gesundheitsökonomischer aber auch aus immunologischer Sicht weitere Studien sinnvoll.

Literaturverzeichnis

- [1] Lederberg J, McCray A (2001). Ome sweet 'omics: – A genealogical treasury of words. *The Scientist*. 15:8.
- [2] O'Hara AM, Shanahan F (2006). The gut flora as a forgotten organ. *EMBO reports* 7, 688-693
- [3] The Human Microbiome Project Consortium (2012). Structure, function and diversity of the healthy human microbiome. *Nature* 486, 207–214 (14 June 2012)
- [4] Jernberg C, Löfmark S, Edlund C and Jansson JK (2010). Long-term impacts of antibiotic exposure on the human intestinal microbiota. *Microbiology*, 156, 3216–3223
- [5] Gillings MR, Paulsen IT, Tetu SG (2015). Ecology and Evolution of the Human Microbiota: Fire, Farming and Antibiotics. *Genes (Basel)*. Sep 8;6(3):841-57.
- [6] Derek Wakelin (1996). Chapter 87 Helminths: Pathogenesis and Defenses. *Medical Microbiology*. 4th edition. Editor: Samuel Baron. University of Texas Medical Branch at Galveston, Galveston, Texas
- [7] Fitzsimmons CM, Falcone FH and Dunne DW (2014). Helminth Allergens, Parasite-Specific IgE, and Its Protective Role in Human Immunity. *Front Immunol*. 5: 61.
- [8] Richard-Lenoble D, Kombila M, Carme B, Gilles JC, Delattre PY (1980). Prevalence of human filariasis with microfilaremia in Gabon. *Bull Soc Pathol Exot Filiales*. Mar-Apr;73(2):192-9
- [9] Agbolade OM, Akinboye DO, Ogunkolo OF (2005). Loa loa and *Mansonella perstans*: Neglected human infections that need control in Nigeria. *African Journal of Biotechnology* Vol. 4 (13), pp. 1554-1558, Special Review.
- [10] Asio SM, Simonsen PE, Onapa AW (2009). *Mansonella perstans* filariasis in Uganda: patterns of microfilaraemia and clinical manifestations in two endemic communities. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*. 103, 266—273
- [11] Simonsen PE, Onapa AW, Asio SM (2011). *Mansonella perstans* filariasis in Africa. *Acta Trop*. Sep;120 Suppl 1:S109-20.
- [12] Metzger WG, Mordmüller B (2014). Loa loa—does it deserve to be neglected? *Lancet Infect Dis*. Apr;14(4):353-7.
- [13] Lang W, Löscher T (2000). *Tropenmedizin in Klinik und Praxis*. 3. Auflage. Thieme Verlag. S. 197-198.
- [14] Padgett JJ, Jacobsen KH (2008). Loiasis: African eye worm. *Trans R Soc Trop Med Hyg*. Oct;102(10):983-9.

- [15] Boussinesq M, Gardon J, Gardon-Wendel N, Kamgno J, Ngoumou P, Chippaux JP (1998). Three probable cases of Loa loa encephalopathy following ivermectin treatment for onchocerciasis. *Am J Trop Med Hyg.* Apr;58(4):461-9.
- [16] Mackenzie CD, Geary TG, Gerlach JA (2003). Possible pathogenic pathways in the adverse clinical events seen following ivermectin administration to onchocerciasis patients. *Filaria Journal*20032(1):S5.
- [17] Mackenzie CD (1980). Eosinophil leucocytes in filarial infections. *Trans R Soc Trop Med Hyg*, 74 (Supplement): 51-58
- [18] Specht S, Hoerauf A. (2007) Does helminth elimination promote or prevent malaria? *Lancet*;369(9560):446-7.
- [19] Bain O, Babayan S (2003). Behaviour of filariae: morphological and anatomical signatures of their life style within the arthropod and vertebrate hosts, *Filarial Journal*, 2:16
- [20] Nanduri J, Azura JW (1989). Clinical and Laboratory Aspects of Filariasis. *Clinical Microbiology Reviews*, Jan, p. 39-50
- [21] Keiser PB, Nutman TB (2002). Update on Lymphatic Filial Infection. *Current Infectious Disease Reports*, 4:65-69.
- [22] Weiss N (1978). Studies on *Dipetalonema vitae* (Filarioidea). I-microfilaria in Hamsters in relation to worm burden and humoral immune response, *Acta Trop*, 35:137-150
- [23] Haque A, Chassoux D, Ogilvie BM, Capron A (1978). *Dipetalonema vitae* in hamsters: enhancement and supression of microfilaremia. *Parasitology*, 76:77-84.
- [24] Wenk P, Wegerhoff PH (1982). Studies on acquired resistance of the cotton rat against microfilariae of *Litomosoides carinii*. 2. Injection of microfilariae during prepatency. *Z Parasit*, 68:321-329.
- [25] Centers for Disease Control and Prevention. Filariasis. <http://www.dpd.cdc.gov/dpdx/HTML/Filariasis.htm>. Accessed on April, 2009.
- [26] Meyer CG (2007) *Tropenmedizin, Infektionskrankheiten*, 2., überarbeitete und erweiterte Auflage, Verlagsgruppe Hüthing Jehle Rehm GmbH, ecomed Medizin. p. 278 f
- [27] Bejon P, Mwangi TW, Lowe B, Peshu N, Hill AVS, et al. (2008) Helminth Infection and Eosinophilia and the Risk of *Plasmodium falciparum* Malaria in 1- to 6-Year-Old Children in a Malaria Endemic Area. *PLoS Negl Trop Dis* 2(2): e164.
- [28] Shibuya T, Cabrera BD, Tanaka H, Valeza FS, Instrella R (1980). Comparison of the blood film, Millipore filter and Nuclepore filter techniques for the detection of microfilaremia in a field survey in the Philippines. *The Japanese journal of experimental medicine*. Volume: 50, Issue: 6, Pages: 463-468
- [29] Institute of Tropical Medicine, Antwerp. Illustrated lecture notes on Tropical Medicine, Filariasis, *Mansonella perstans*. URL:http://itg.content-e.eu/Generated/pubx/173/filariasis/mansonella_perstans.htm. Accessed: 2015-02-18. (Archived by WebCite® at <http://www.webcitation.org/6WQp6dmoB>)
- [30] Service M (2010). *Medical Entomology for Students*. Fourth Edition. Cambridge University Press. Kapitel 6. Biting midges (Ceratopogonidae). p 106
- [31] Service M (2010). *Medical Entomology for Students*. Fourth Edition. Cambridge University Press. Kapitel 6. Biting midges (Ceratopogonidae). p 107
- [32] Service M (2010). *Medical Entomology for Students*. Fourth Edition. Cambridge University Press. Kapitel 6. Biting midges (Ceratopogonidae). p 108

- [33] Baird JK, Neafie RC, Lanoie L, Connor DH (1987). Adult *Mansonella perstans* in the abdominal cavity in nine Africans. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 37, 578–584.
- [34] Grobusch MP, Kombila M, Autenrieth I, Melhorn H, Kreamsner PG (2003). No evidence of *Wolbachia* endosymbiosis with *Loa loa* and *Mansonella perstans*. *Parasitol. Res.* 90, 405–408.
- [35] Büttner DW, Wanji S, Bazzocchi C, Bain O, Fischer P (2003). Obligatory symbiotic *Wolbachia* endobacteria are absent from *Loa loa*. *Filaria J.* 2, 10.
- [36] Keiser PB, Coulibaly Y, Kubofcik J, Diallo AA, Klion AD, Traoré SF, Nutman TB (2008). Molecular identification of *Wolbachia* from the filarial nematode *Mansonella perstans*. *Mol. Biochem. Parasitol.* 160, 123–128.
- [37] Coulibaly YI, Dembele B, Diallo AA, Lipner EM, Doumbia SS, Coulibaly SY, Konate S, Diallo DA, Yalcouye D, Kubofcik J, Doumbo OK, Traore AK, Keita AD, Fay MP, Traore SF, Nutman TB, Klion AD (2009). A randomized trial of doxycycline for *Mansonella perstans* infection. *New Engl. J. Med.* 361, 1448–1458.
- [38] Noireau F, Pichon G (1992). Population Dynamics Of *Loa loa* And *Mansonella Perstans* Infections In Individuals Living In An Endemic Area Of The Congo. *Am. J. Trop. Hyg.*, 46(6), pp. 672-676
- [39] Adolph PE, Kagan IG, McQuay RM (1962). Diagnosis and treatment of *Acanthocheilonema perstans* filariasis. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 11, 76–88.
- [40] Zouré HGM, Wanji S, Noma M, Amazigo UV, Diggle PJ, et al. (2011). The Geographic Distribution of *Loa loa* in Africa: Results of Large-Scale Implementation of the Rapid Assessment Procedure for Loiasis (RAPLOA). *PLoS Negl Trop Dis* 5(6): e1210.
- [41] Bowler GS, Shah AN, Bye LA, Saldana M (2011) Ocular loiasis in London 2008–2009: a case series. *Eye* 25:3, 389-391
- [42] Duke B (2004). Failed attempts at experimental transplantation and transmission of nocturnally-periodic simian *Loa* from monkey to man. *Filaria J.* Jul 29;3(1):5.
- [43] Boussinesq M. Loiasis (2006). *Ann Trop Med Parasitol.* Dec;100(8):715-31.
- [44] Toure FS, Leroy EM, Mavoungou E, Egwang TG (1999). Sequence conservation of repeat 3 region of the gene coding for the 15 kDa polyprotein within human and simian *Loa loa*. *J Med Primatol.* Apr;28(2):57-61.
- [45] Fain A (1978). Les problèmes actuels de la loase. *Bulletin de Organisation Mondiale de la Santé*, 56, 155-167
- [46] Wanji S, Tendongfor N, Esum M, Enyong P (2002). *Chrysops silacea* biting densities and transmission potential in an endemic area of human loiasis in south-west Cameroon. *Trop. Med. Int. Health* 7, 371—377.
- [47] Caubere P, Noireau F (1991). Effect of attraction factors on the sampling of *Chrysops silacea* and *C. dimidiata* (Diptera: Tabanidae), vectors of *Loa loa* (Filaroidea: Onchocercidae) filariasis. *Journal of Medical Entomology.* Volume: 28, Issue: 2, Pages: 263-265.
- [48] F Noireau, A Nzoulani, D Sinda and A Itoua (1990). *Chrysops silacea* and *C. dimidiata*: fly densities and infection rates with *Loa loa* in the Chaillu mountains, Congo Republic. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 84(1):153-5.
- [49] World Health Organisation (1997). Bench Aids for the diagnosis of filarial infections. URL:http://www.cdc.gov/dpdx/resources/pdf/benchAids/Introduction_filariasis_who.pdf. Accessed: 2015-02-18. (Archived by WebCite® at <http://www.webcitation.org/6WQsup8RM>)
- [50] Marriott WR (1985). Loiasis. *Int J Dermatol.* Jun;24(5):329-32.

- [51] Churchill DR, Morris C, Fakoya A, Wright SG, Davidson RN (1996). Clinical and laboratory features of patients with loiasis (*Loa loa* filariasis) in the U.K. *Journal of Infection*, 33, 103–109.
- [52] Thomas J, Chastel C, Forcain L (1970). Latence clinique et parasitaire dans les filarioses à *Loa loa* et à *Onchocerca volvulus*. *Bulletin de la Société de Pathologie Exotique*, 63, 90–94.
- [53] Geary TG, Woo K, McCarthy JS, Mackenzie CD, Horton J, Prichard RK, de Silva NR, Olliaro PL, Lazdins-Helds JK, Engels DA, Bundy DA (2010). Unresolved issues in anthelmintic pharmacology for helminthiasis of humans. *Int J Parasitol.* Jan;40(1):1-13.
- [54] Perkins SL, Austin C (2009). "Four New Species of *Plasmodium* from New Guinea Lizards: Integrating Morphology and Molecules". *Journal of Parasitology* 95(2):424-433.
- [55] Cox-Sigh J, et al., (2008). *Plasmodium knowlesi* malaria in humans is widely distributed and potentially life threatening. *Clin. Infect. Dis.* 46, 165-171.
- [56] White NJ (2008). *Plasmodium knowlesi*: the fifth human malaria parasite. *Clin. Infect. Dis.* 46, 172-173
- [57] Meyer CG (2007) *Tropenmedizin, Infektionskrankheiten, 2., überarbeitete und erweiterte Auflage*, Verlagsgruppe Hüthing Jehle Rehm GmbH, ecomed Medizin. p. 200
- [58] World Health Organisation (2015). Malaria. Fact Sheet N°94. Reviewed April 2015. URL:<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs094/en/>. Accessed: 2015-02-18. (Archived by WebCite® at <http://www.webcitation.org/6WQogPN8s>)
- [59] Centers for Disease Control and Prevention. Malaria Biology. URL:<http://www.cdc.gov/malaria/about/biology/>. Accessed: 2015-02-18. (Archived by WebCite® at <http://www.webcitation.org/6WQt1ZM62>)
- [60] Warhurst DC, Williams JE (1996) ACP Broadsheet no 148, July. Laboratory diagnosis of malaria. *J Clin Pathol* 49(7):533–538
- [61] Planche T, Krishna S, Kombila M, Engel K, Faucher JF, Ngou-Milama E, Kremsner PG (2001): Comparison of methods for the rapid laboratory assessment of children with malaria. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 65, 599–602
- [62] Bundesgesundheitsbl - Gesundheitsforsch - Gesundheitsschutz (2008). Malaria, 51:236–249
- [63] Meyer CG (2007) *Tropenmedizin, Infektionskrankheiten, 2., überarbeitete und erweiterte Auflage*, Verlagsgruppe Hüthing Jehle Rehm GmbH, ecomed Medizin. p. 207 ff
- [64] RKI-Ratgeber Infektionskrankheiten– Merkblätter für Ärzte, Malaria, Aktualisierte Fassung vom Juni 2012, URL;http://www.rki.de/DE/Content/Infekt/EpidBull/Merkblaetter/Ratgeber_Malaria.html. Accessed: 2015-02-18. (Archived by WebCite® at <http://www.webcitation.org/6WQt9F9MD>).
- [65] Dondorp A, Nosten F, Stepniewska K, Day N, White N; South East Asian Quinine Artesunate Malaria Trial (SEAQUAMAT) group (2005). Artesunate versus quinine for treatment of severe falciparum malaria: a randomised trial. *Lancet.* Aug 27-Sep 2;366(9487):717-25.
- [66] Jones KL, Donegan S, Lalloo DG (2007). Artesunate versus quinine for treating severe malaria. *Cochrane Database Syst Rev.* Oct 17;(4):CD005967.
- [67] Dondorp AM, Fanello CI, Hendriksen IC, Gomes E, Seni A, et al. (2010). Artesunate versus quinine in the treatment of severe falciparum malaria in African children (AQUAMAT): an open-label, randomised trial. *Lancet* 376: 1647-1657.
- [68] World Health Organisation (2010). Guidelines for the treatment of malaria – 2nd edition. P. 1

- [69] Lell B, Kremsner PG (2002). Clindamycin as an antimalarial drug: review of clinical trials. *Antimicrob. Agents Chemother.* 46:2315-2320
- [70] DTG (2012). Empfehlungen zur Malariavorbeugung. Stand Mai 2014. URL:http://www.dtg.org/uploads/media/DTG-Malaria_2014.pdf. Accessed: 2015-02-18. (Archived by WebCite® at <http://www.webcitation.org/6WRWCzzEd>).
- [71] World Health Organisation (2010). Guidelines for the treatment of malaria – 2nd edition. P. 15 f
- [72] Ehrlich P (1879): Ueber die specifischen Granulationen des Blutes. *Archiv fuer Anatomie und Physiologie: Physiologische Abteilung* : 571-579
- [73] Schiebler TH (1996): *Histologie*; 4. Auflage, Eosinophile Granulozyten, Springer. Seite 317 f.
- [74] Bain BJ (ed) (2006) *Blood Cells: A Practical Guide, Fourth Edition*, Barbara J. Bain, Oxford, UK. ISBN-13: 978-1-4051-4265-6. Seite 109.
- [75] Logan MR, Odemuyiwa SO, Moqbel R. (2003). Understanding exocytosis in immune and inflammatory cells: the molecular basis of mediator secretion. *J. Allergy Clin Immunol.* 111:923-32
- [76] Dvorak AM, Furitsu T, Letourneau L, Ishizaka T, Ackerman SJ. (1991). Mature eosinophils stimulated to develop in human cord blood mononuclear cell cultures supplemented with recombinant human interleukin-5. Part I. Piecemeal degranulation of specific granules and distribution of Charcot-Leyden crystal protein. *Am. J. Pathol.* 138:69– 82
- [77] Shi H (2004). Eosinophils function as antigen-presenting cells. *J. Leukoc. Biol.* 76:520– 27
- [78] Rotrhenberg ME, Hogan SP (2006). The Eosinophil. *Annu. Rev. Immunol.* 24: 147-74
- [79] Klion AD, & Nutman TB. (2004) The role of eosinophils in host defense against helminth parasites. *J Allergy Clin Immunol* 113:30–7.
- [80] Pearce EJ, Kane C, Sun JJ, Taylor J, McKee AS, Cervi I (2004). Th2 response polarization during infection with helminth parasite *Schistosoma mansoni*. *Immunol. Rev* 201: 117-126.
- [81] Wynn TA, Thompson RW, Cheever AW, Mentink-Kane M. (2004) Immunopathogenesis of schistosomiasis. *Immunol Rev* 201:156–67.
- [82] Jankovic D, Steinfeld S, Kullberg MC, Sher A (2006) Mechanisms underlying helminth-induced Th2 polarization: default, negative or positive pathways? *Chem Immunol Allergy* 90:65–81.
- [83] Simon PH et al. (2008) Eosinophils: Biological Properties and Role in Health and Disease. *Clinical and Experimental Allergy* 38, 709-750.
- [84] Behm CA, & Ovington KS (2000) The role of eosinophils in parasitic helminth infections: insights from genetically modified mice. *Parasitol Today* 16:202–9.
- [85] Meeusen EN, Balic A. (2000) Do eosinophils have a role in the killing of helminth parasites? *Parasitol Today* 16:95–101.
- [86] Bochner BS. (2004) Verdict in the case of therapies versus the eosinophil: the jury is still out. *J Allergy Clin Immunol*;113:3-9.
- [87] Hamid Q. (2004) Eosinophils in allergic diseases. *J Allergy Clin Immunol*;113:182-4.
- [88] Rothenberg ME. (2004) Eosinophilic gastrointestinal disorders (EGID). *J Allergy Clin Immunol*;113:11-28.

- [89] Anthony RM, Rutitzky LI, Urban JF Jr, Stadecker MJ, Gause WC. (2007) Protective immune mechanisms in helminth infection. *Nat Rev Immunol*;7(12):975-87. Review.
- [90] Camacho LH, Wilairatana P, Weiss G, Mercader MA, Brittenham GM, Looareesuwan S, Gordeuk VR. (1999) The eosinophilic response and haematological recovery after treatment for *Plasmodium falciparum* malaria. *Trop Med Int Health*; 4(7):471-5.
- [91] Davis TM, Ho M, Supanaranond W, Looareesuwan S, Pukrittayakamee S, White NJ. (1991) Changes in the peripheral blood eosinophil count in *falciparum* malaria. *Acta Trop*;48(3):243-6.
- [92] Maina RN, Walsh D, Gaddy C, Hongo G, Waitumbi J, Otieno L, Jones D, Ogutu BR. (2010) Impact of *Plasmodium falciparum* infection on haematological parameters in children living in Western Kenya. *Malar J*; 9 Suppl 3:S4.
- [93] Kurtzhals JAL, Reimert CM, Tette E, Dunyo SK, Koram KA, Akanmori BD, Nkrumah FK, Hviid L. (1998) Increased eosinophil activity in acute *Plasmodium falciparum* infection—association with cerebral malaria *Clin Exp Immunol*; 112(2): 303–307.
- [94] Abdalla SH, MALARIA: A Hematological Perspective. (2004) Chapter 5 Leukocytes in Malaria, Eosinophils. Seiten 137-139.
- [95] ISFAN T. (1968) L'éosinophile et ses modifications cytomorphologiques au cours du processus d'immunogenese dans l'infection a *Plasmodium berghei*. *Arch. Roum. Pathol. exp. Microbiol.* 27, 51.
- [96] Tischendorf F W, Brattig N W, Buttner D W, Pieper A, Lintzel M. (1996) Serum levels of eosinophil cationic protein, eosinophil-derived neurotoxin and myeloperoxidase in infections with filariae and schistosomes. *Acta Trop*; 62:171–182.
- [97] Coban C, Igari Y, Yagi M, Reimer T, Koyama S, Aoshi T, Ohata K, Tsukui T, Takeshita F, Sakurai K, Ikegami T, Nakagawa A, Horii T, Nuñez G, Ishii KJ, Akira S. (2010) Immunogenicity of Whole-Parasite Vaccines against *Plasmodium falciparum* Involves Malarial Hemozoin and Host TLR9. *Cell Host & Microbe*; (Vol. 7, Issue 1, pp. 50-61)
- [98] Månsson A, Cardell LO. (2009) Role of atopic status in Toll-like receptor (TLR)7- and TLR9-mediated activation of human eosinophils *J Leukoc Biol*; 85:719-727
- [99] Tosta CE, Wedderburn N.(1980). Immune phagocytosis of *Plasmodium yoelii*-infected erythrocytes by macrophages and eosinophils. *Clin Exp Immunol*; 42(1):114-20.
- [100] Roussilhon C, Brasseur P, Agnamey P, Pérignon JL, Druilhe P (2010) Understanding Human-*Plasmodium falciparum* Immune Interactions Uncovers the Immunological Role of Worms. *PLoS ONE* 5(2): e9309.
- [101] Mwangi TW, Bethony JM, Brooker S. (2006) Malaria and helminth interactions in humans: an epidemiological viewpoint. *Ann Trop Med Parasitol*; 100(7):551-70. Review.
- [102] Lamidi M, et al. (2005) In vitro cytotoxic, antileishmanial and antifungal activities of ethnopharmacologically selected Gabonese plants *Journal of Ethnopharmacology* 102, 185–190
- [103] Lekana-Douki JB, Bongui JB, Oyegue Liabagui SL, Zang Edou SE, Zatra R, Bisvigou U, Druilhe P, Lebibi J, Ndouo FST, Kombila M. (2011) In vitro antiplasmodial activity and cytotoxicity of nine plants traditionally used in Gabon, *Journal of Ethnopharmacology*, Volume 133, Issue 3, Pages 1103-1108.
- [104] Richard-Lenoble D, Kombila M, Maganda ML, Chandenier J, Yebakima A, Andrianjafy A. (1982). OCEAC. XIVe Conférence Technique, Yaunde 20-23. Avril 1982.
- [105] Akue JP, Nkoghe D, Padilla C, Moussavou G, Moukana H, et al. (2011) Epidemiology of Concomitant Infection Due to *Loa loa* and *Mansonella perstans* in Gabon. *PLoS Negl Trop Dis* 5(10): e1329.

- [106] Boussinesq M, Gardon J. (1997). Prevalences of *Loa loa* microfilaraemia throughout the area endemic for the infection. *Ann Trop Med Parasitol*. Sep;91(6):573-89.
- [107] Adegnika AA, Ramharter M, Agnandji ST, Ateba Ngoa U, Issifou S, Yazdanbakhsh M and Kremsner PG (2010), Epidemiology of parasitic co-infections during pregnancy in Lambaréné, Gabon. *Tropical Medicine & International Health*. Volume 15, Issue 10, pages 1204–1209, October 2010.
- [108] Noireau F, Carme B, Apembet JD, Gouteux JP. (1989) *Loa loa* and *Mansonella perstans* filariasis in the Chaillu mountains, Congo: parasitological prevalence. *Trans R Soc Trop Med Hyg*; 83(4):529-34.
- [109] Garnier D, Simondon KB, Bénédicte E. (2005). Longitudinal estimates of puberty timing in Senegalese adolescent girls. *American Journal of Human Biology*, Volume 17, Issue 6, pages 718–730.
- [110] Parent AS, Teilmann G, Juul A, Skakkebaek NE, Toppari J, Bourguignon JP. (2003) The Timing of Normal Puberty and the Age Limits of Sexual Precocity: Variations around the World, Secular Trends, and Changes after Migration *Endocrine Reviews* 24: 668-693.
- [111] The World Fact Book. URL:<https://www.cia.gov/library/publications/the-world-factbook/geos/gb.html>. Accessed: 2015-02-18. (Archived by WebCite® at <http://www.webcitation.org/6WRXbjfAX>)
- [112] Four Artemisinin-Based Combinations (4ABC) Study Group. (2011) A head-to-head comparison of four artemisinin-based combinations for treating uncomplicated malaria in African children: a randomized trial. *PLoS Med*; 8(11):e1001119.
- [113] Karita E, Ketter N, Price MA, Kayitenkore K, Kaleebu P, et al. (2009) CLSI-Derived Hematology and Biochemistry Reference Intervals for Healthy Adults in Eastern and Southern Africa. *PLoS ONE* 4(2): e4401.
- [114] FI Buseri, IJ Siaminabo, ZA Jeremiah (2010). Reference values of hematological indices of infants, children, and adolescents in Port Harcourt, Nigeria. *Pathology and Laboratory Medicine International*. 2, 65–70
- [115] Humberg A (2011). Determination of haematological and biochemical reference intervals for infants and children in Gabon. Inaugural-Dissertation zur Erlangung des Doktorgrades der Medizin der Medizinischen Fakultät der Eberhard Karls Universität zu Tübingen.
- [116] Lugada ES, Mermin J, Kaharuzza F, Ulvestad E, Were W, Langeland N, Asjo B, Malamba S, Downing R (2004). Population-based hematologic and immunologic reference values for a healthy Ugandan population. *Clin Diagn Lab Immunol*. Jan;11(1):29-34.
- [117] Breman JG (2001). The ears of the hippopotamus: manifestations, determinants, and estimates of the malaria burden. *Am J Trop Med Hyg*. 64:1-11
- [118] WHO. International travel and health. Disease Information. URL:<http://www.who.int/ith/diseases/malaria/en/>. Accessed: 2015-03-18. (Archived by WebCite® at <http://www.webcitation.org/6X7RE5OqY>)
- [119] Beck ON (2009). *Diagnostic Hematology*, DOI 10.1007/978-1-84800-295-1_15, Springer-Verlag London Limited. p. 317 f.
- [120] Johnson CC, Peterson EL, Ownby DR (1998). Gender differences in total and allergen-specific immunoglobulin E (IgE) concentrations in a population-based cohort from birth to age four years. *Am J Epidemiol*. Jun 15;147(12):1145-52.
- [121] Pion SD, Demanou M, Oudin B, Boussinesq M (2005). Loiasis: the individual factors associated with the presence of microfilaraemia. *Ann Trop Med Parasitol*. 99:491–500.

- [122] González R, Mombo-Ngoma G, Ouédraogo S, Kakolwa MA, Abdulla S, Accrombessi M, et al. (2014) Intermittent Preventive Treatment of Malaria in Pregnancy with Mefloquine in HIV-Negative Women: A Multicentre Randomized Controlled Trial. *PLoS Med* 11(9): e1001733.
- [123] Mombo-Ngoma G, Mackanga JR, Basra A, Capan M, Manego RZ, Adegnika AA, et al (2015). Loa loa infection in pregnant women, Gabon [letter]. *Emerg Infect Dis*. May [date cited].
- [124] Alexander ND, Grenfell BT (1999). The effect of pregnancy on *Wuchereria bancrofti* microfilarial load in humans. *Parasitology*. Aug;119 (Pt 2):151-6.
- [125] Wegmann TG, Lin H, Guilbert L and Mosmann TR (1993). "Bidirectional cytokine interactions in the maternal-fetal relationship: is successful pregnancy a TH2 phenomenon?" *Immunology Today*, vol. 14, no. 7, pp. 353–356.
- [126] Sykes L, MacIntyre DA, Yap XJ, Teoh TG and Bennett PR (2012). The Th1:Th2 Dichotomy of Pregnancy and Preterm Labour. *Mediators of Inflammation*, Article ID 967629, 12 pages.
- [127] Hunt JS, Petroff MG, McIntire RH, Ober C (2005). HLA-G and immune tolerance in pregnancy. *FASEB J*. May;19(7):681-93.
- [128] Guerin LR1, Prins JR, Robertson SA (2009). Regulatory T-cells and immune tolerance in pregnancy: a new target for infertility treatment? *Hum Reprod Update*. Sep-Oct;15(5):517-35.
- [129] Jackson JA, Friberg IM, Little S and Bradley JE (2009). Review series on helminths, immune modulation and the hygiene hypothesis: Immunity against helminths and immunological phenomena in modern human populations: coevolutionary legacies? *Immunology*. Jan; 126(1): 18–27.
- [130] Nutman TB (2015). Looking beyond the induction of Th2 responses to explain immunomodulation by helminths. *Parasite Immunol*. Jun;37(6):304-13.
- [131] Maizels RM, Pearce EJ, Artis D, Yazdanbakhsh M, Wynn TA (2009). Regulation of pathogenesis and immunity in helminth infections. *J Exp Med*. Sep 28;206(10):2059-66.
- [132] Hoerauf A, Satoguina J, Saefel M, Specht S (2005). Immunomodulation by filarial nematodes. *Parasite Immunol*. Oct-Nov;27(10-11):417-29.
- [133] Blackwell AD et al. (2015). Helminth infection, fecundity, and age of first pregnancy in women. *Science* 350, 970.
- [134] Rogier C, Commenges D, Trape JF (1996). Evidence for an age-dependent pyrogenic threshold of *Plasmodium falciparum* parasitemia in highly endemic populations. *Am J Trop Med Hyg*. Jun;54(6):613-9.
- [135] Ladeia-Andrade S, Ferreira MU, de Carvalho ME, Curado I, Coura JR (2009). Age-dependent acquisition of protective immunity to malaria in riverine populations of the Amazon Basin of Brazil. *Am J Trop Med Hyg*. Mar;80(3):452-9.
- [136] Doolan DL, Dobaño C and Baird JK (2009). Acquired Immunity to Malaria. *Clin Microbiol Rev*. Jan; 22(1): 13–36.
- [137] CDC DPDx-Laboratory Identification of Parasitic Diseases of Public Health Concern. Mansonellosis. URL:<http://www.cdc.gov/dpdx/mansonellosis/index.html>. Accessed: 2015-02-22. (Archived by WebCite® at <http://www.webcitation.org/6WXEn4wYV>)
- [138] Noireau F, Apembet JD, Nzoulani A, Carme B (1990). Clinical manifestations of loiasis in an endemic area in the Congo. *Trop Med Parasitol*, 41:37-39

- [139] Richard-Lenoble D, Kombila M, Burnier I, Maganga ML (1985). Filarioses au Gabon : traitement par le mébendazole des filarioses à *M. perstans* et *Loa Loa*. URL:<http://www.pathexo.fr/documents/articles-bull/BullSocPatholExot-1985-78-4-485-491.pdf>. Accessed: 2015-08-03. (Archived by WebCite® at <http://www.webcitation.org/6aVgiPARD>)
- [140] Mitre E, Nutman TB (2006). Basophils, basophilia and helminth infections. *Chem Immunol Allergy*. 90:141-56.
- [141] Rosenberg HF, Dyer KD, Foster PS (2013). Eosinophils: changing perspectives in health and disease. *Nat Rev Immunol*. Jan;13(1):9-22.
- [142] Jacobsen EA1, Halmers RA, Lee JJ, Lee NA (2012). The expanding role(s) of eosinophils in health and disease. *Blood*. Nov 8;120(19):3882-90.
- [143] Jacobsen EA, Lee NA, Lee JJ (2014). Re-defining the unique roles for eosinophils in allergic respiratory inflammation. *Clin Exp Allergy*. Sep;44(9):1119-36.
- [144] Mitre E, Nutman TB (2003). Lack of basophilia in human parasitic infections. *Am J Trop Med Hyg*. Jul;69(1):87-91.
- [145] Gibbs BF, Haas H, Falcone FH, Albrecht C, Vollrath IB, Noll T, Wolff HH, Amon U (1996). Purified human peripheral blood basophils release interleukin-13 and preformed interleukin-4 following immunological activation. *Eur J Immunol*. 26:2493–2498.
- [146] Akdis CA, Blaser K (2003). Histamine in the immune regulation of allergic inflammation. *J Allergy Clin Immunol*. 112:15–22.
- [147] Pelleau S, Diop S, Badiane MD, Vitte J, Beguin P, Nato F, Diop BM, Bongrand P, Parzy D, Jambou R (2012). Enhanced Basophil Reactivities during Severe Malaria and Their Relationship with the *Plasmodium falciparum* Histamine-Releasing Factor Translationally Controlled Tumor Protein. *Infect Immun*. Aug; 80(8): 2963–2970.
- [148] Grobusch MP, Kremsner PG (2005) Uncomplicated malaria. *Curr Topics Microbiol Immunol*, 295:83-104. 2.
- [149] Siracusa MC, Tait Wojno ED, Artis D (2012). Functional heterogeneity in the basophil cell lineage. *Adv Immunol*. 115: 141–159.
- [150] Specht S, Wanji S (2009). New insights into the biology of filarial infections. *J Helminthol*. Jun;83(2):199-202.
- [151] The NIH HMP Working Group (2009). The NIH Human Microbiome Project. *Genome Res*. Dec; 19(12): 2317–2323.
- [152] Kumar P, Malhotra S, Kaur N, Hans C, Bhatia MS (2013). GIT Flora and Psychological Behavior: The Clinical Correlation. *Delphi Psychiatry Journal*. 16:(2)
- [153] Galland L (2014). The gut microbiome and the brain. *J Med Food*. Dec;17(12):1261-72.
- [154] Carabotti M, Scirocco A, Maselli MA, Severia C (2015). The gut-brain axis: interactions between enteric microbiota, central and enteric nervous systems. *Ann Gastroenterol*. Apr-Jun; 28(2): 203–209.
- [155] Belkaid Y et al (2014). Role of the Microbiota in Immunity and Inflammation. *Cell*. Volume 157 , Issue 1 , 121 - 141.

Kapitel 6

Erklärung zum Eigenanteil der Dissertationsschrift

Die Arbeit wurde am Centre de Recherches Médicales de la Ngounié in Fougamou, Gabun unter Betreuung von Professor Dr. Peter G. Kremsner und Dr. Bertrand Lell durchgeführt.

Die Konzeption der Studie erfolgte durch Dr. Bertrand Lell und mich. Die Blutentnahmen, Probenverarbeitung und Diagnostik wurden nach Einarbeitung durch Judith Kammer (leitende MTA) von mir mit Unterstützung durch meinen Kollegen Dr. Ghyslain Mombo-Ngoma und die Labormitarbeiter Anastas Bopenga, Christian Tcheballo, Rhaissa Mengue und Michelle Mbazou durchgeführt. Mindestens 80 % der mikroskopischen Diagnostik wurden von mir selbst durchgeführt, der Rest erfolgte durch Herrn Dr. Ghislain Mombo-Ngoma und den labortechnischen Assistenten Herrn Anastas Bopenga. Die Registrierung der Patienten, die Blutentnahmen, Anfertigung der Dicken Tropfen und Analysen des EDTA-Blutes wurden hauptsächlich durch die medizinischen Hilfskräfte Frau Rhaissa Mengue, Herr Christian Tcheballo und Frau Michelle Mbazou durchgeführt, der Autor selbst arbeitete hierbei in einem Umfang von ca. 10% der Patienten mit. Die Ergebnisse der Differentialblutbilder wurden zu 80% von mir selbst, zu 20% von Herrn Dr. Mombo-Ngoma kontrolliert und freigegeben.

Die Daten der 4ABC Kinder wurden im Rahmen der EDCTP-Studie "Evaluation of 4 artemisinin-based combinations for treating uncomplicated malaria in African children" gewonnen. Das 4ABC-Protokoll wurde von der „Four Artemisinin-Based Combinations (4ABC) Study Group“ unter Leitung von Professor Umberto Allessandro (Coordinating Investigator) vom Prince Leopold Institute of Tropical Medicine in Antwerpen, Belgien entwickelt. Die Koordination und Durchführung der Studie vor Ort in Fougamou sowie die Dateneingabe erfolgte hauptsächlich durch mich unter Mithilfe von Dr. Mombo-Ngoma, Dr. Mathias Bosselmann und den oben erwähnten medizinischen Hilfskräften.

Die statistische Auswertung erfolgte durch mich in Absprache mit Dr. Bertrand Lell und mit Beratung durch Dr. Blumenstock vom Institut für Biometrie der Universität Tübingen.

Ich versichere, das Manuskript selbständig verfasst zu haben und keine weiteren als die von mir angegebenen Quellen verwendet zu haben.

Kapitel 7

Danksagung

Mein Dank gilt: Prof. Dr. Peter G. Kremsner für die Betreuung, das Stipendium und die Möglichkeit in Gabun zu arbeiten und Erfahrungen zu sammeln, Dr. Bertrand Lell für die unermüdliche Hilfe bei allen Problemen und Fragen, Dr. Ghyslain Mombo Ngoma für die freundschaftliche Zusammenarbeit, Dr. Pierre Blaise Matsiegui für das Vertrauen in unser Team, meiner Frau Michelle für ihre Liebe und unschätzbare Unterstützung, Pablo Martinez de Salazar für angeregte Gespräche und Ideen, Judith Kammer für die Tips und Hilfe bei der Organisation und Diagnostik, Totoche für seinen unermüdlichen Einsatz am Mikroskop, Raihssa für ihre tatkräftige Hilfe in den Dörfern und im Krankenhaus, Christian für die zahlreichen Blutentnahmen und Qualitätskontrollen, Dr. Matondo für die kollegiale Zusammenarbeit, Francois unserem allzeit bereiten Chauffeur, meinen Eltern Prof. Dr. Bruno Strecker und Dipl. Ing. Christa Strecker für ihre Unterstützung und die Korrekturen. Dr. Blumenstock vom Institut für Biometrie der Universität Tübingen für die Beratung.