UNIVERSITÄTSKLINIKUM HAMBURG-EPPENDORF

Aus der Sektion für Tropenmedizin Bernhard- Nocht- Klinik

Leiter:
Prof. Dr. G. Burchard

Beeinträchtigung der Herzfunktion von Kindern mit schwerer Malaria tropica

Dissertation

zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin an der Medizinischen Fakultät der Universität Hamburg.

vorgelegt von:

Steffi Hoffmann
aus Tsabong/ Botswana

Hamburg 2013

Angenommen von der
Medizinischen Fakultät der Universität Hamburg am: 03.07.2013

Veröffentlicht mit Genehmigung der
Medizinischen Fakultät der Universität Hamburg.

Prüfungsausschuss, der/die Vorsitzende: Prof. Dr. G.-D. Burchard

Prüfungsausschuss, zweite/r Gutachter/in: Prof. Dr. S. Blankenberg

Prüfungsausschuss, dritte/r Gutachter/in: Prof. Dr. J. Weil

Inhaltsverzeichnis

1 Einleitung ... 4
1.1 Epidemiologie ... 4
1.2 Klima, Vegetation, Bevölkerung ... 5
1.3 Übertragung der Malaria ... 5
1.4 Erreger und Zyklus ... 5
1.5 Pathophysiologie ... 7
1.6 Klinische Manifestation ... 8
1.6.1 Unkomplizierte Malaria ... 8
1.6.2 Komplizierte Malaria ... 9
1.7 Behandlungsstandard der Malaria tropica bei Kindern in Kumasi, Ghana ... 11
1.7.1 Schwere Malaria ... 11
1.7.2 Unkomplizierte Malaria ... 11
1.7.3 Symptomatische Therapie ... 12
1.8 Rationale zur Arbeitshypothese ... 12
1.9 Hypothese ... 14
2 Material und Methoden ... 15
2.1 Studiendesign ... 15
2.1.1 Einschlusskriterien ... 15
2.1.2 Ausschlusskriterien ... 17
2.1.3 Evaluationsablauf ... 17
2.2 Studienort ... 19
2.3 Labormethoden ... 20
2.3.1 Malariadiagnostik ... 20
2.3.2 Blutbild ... 22
2.3.3 iSTAT- Autoanalyzer ... 23
2.3.4 Sonstiges Material ... 24
2.4 Echokardiographie ... 25
2.5 Elektrokardiogramm (EKG) ... 27
2.6 Statistik ... 28
2.6.1 Statistische Analysen ... 28
2.6.2 Kalkulation der Größe der Studienpopulation ... 29
2.7 Ethik ... 30
3 Ergebnisse ... 31
3.1 Demographie (Alter, Geschlecht) ... 31
3.2 Klinik ... 31
3.2.1 Temperatur ... 31
3.2.2 Puls und Blutdruck ... 32
3.3 Parasitämie ... 33

3.4 Allgemeine Laborwerte ... 34
3.5 Herzfunktion ... 35
3.5.1 Gefäßdynamische Parameter ... 35
3.5.2 Herzenzyme ... 36
3.6 Assoziation einer vorliegenden Herzfunktionsbeeinträchtigung mit anderen klinischen Symptomen der Malaria ... 37
3.6.1 Korrelation Herzfunktion-Anämie und Anämie-Laktatkonzentration ... 37
3.6.2 Korrelation Herzfunktion-Parasitämie ... 37
3.6.3 Korrelation Herzfunktion- Geschlecht ... 38
3.6.4 Der Herzindex in Abhängigkeit zum Alter ... 38
3.6.5 Der Hämoglobinwert in Abhängigkeit zum Alter ... 39
3.6.6 Vergleich zwischen klinischen, Labor- und Herzfunktionsparametern bei Patienten mit und ohne metabolischer Azidose bei Aufnahme ... 40
4 Diskussion ... 41
4.1 Die Herzfunktion bei der akuten Malaria ... 41
4.2 Die Herzfunktion bei einzelnen Untergruppen ... 43
4.2.1 Parasitologie ... 43
4.2.2 Temperatur ... 43
4.2.3 Glukose ... 44
4.2.4 Anämie ... 44
4.3 Laktat und Azidose ... 45
4.4 Weitere Einflussfaktoren ... 46
4.4.1 Geschlecht ... 46
4.4.2 Alter und Demographie ... 46
4.5 Weiterführende Fragestellungen ... 47
4.5.1 Unkomplizierte Malaria ... 47
4.5.2 Immunologische Aspekte ... 48
4.6 Limitierungen ... 49
4.7 Konsequenz für die Therapie der schweren Malaria tropica ... 51
5 Zusammenfassung ... 52
6 Abstract ... 53
7 Abkürzungsverzeichnis ... 54
8 Literaturverzeichnis ... 55
9 Abbildungsverzeichnis ... 63
10 Tabellenverzeichnis ... 64
11 Anhang ... 65
11.1 Ablauf der Patientenaufnahme ... 65
11.2 Untersuchungsformular Tag 1, 2 und 42 ... 66
11.3 Screening Form ... 73
11.4 Einverständniserklärung ... 75
11.5 Ringbucheinlage mit Daten ... 79

11.6 Checkliste für den Studienarzt 80
11.7 Formular für die Malariadiagnostik 81
11.8 Standardvorgehensweisen, Standard Operating Procedures (SOPs) 82
11.9 Datenbank 91
12 Danksagung 99
13 Eidesstattliche Versicherung 100

1 Einleitung

1.1 Epidemiologie

Die Malaria tropica ist in tropischen Ländern weiterhin eine der Hauptursachen für viele Todesfälle im Kindesalter. Über 90% der jährlich ein bis drei Millionen Todesfälle durch die Malaria tropica betreffen Kinder unter neun Jahren. Am stärksten betroffen sind die Regionen Afrikas südlich der Sahara. Dort sterben jährlich über 630000 Kinder an der Malaria tropica [UNICEF, 2010].

In Ghana kommt die Malaria holo- bis hyperendemisch vor [Kobbe et al., 2007]. Die Malariaübertragung unterliegt saisonalen Schwankungen. Die höchste Prävalenz in Regionen oberhalb des Äquators, z.B. Ghana, ist in der Regenzeit von Mai bis September. Die durchschnittliche Parasitenprävalenz über das gesamte Jahr gesehen liegt bei 50%. Sie ist bei Kindern zwischen zwei und neun Jahren am höchsten [Browne et al., 2000].

In endemischen Gebieten liegt eine dauernde Parasitenpräsenz in der Bevölkerung über große Zeiträume vor. Die Endemizität kann sich jahreszeitlich unterscheiden. Sie wird definiert über den Anteil derjenigen Menschen, bei denen zu einem bestimmten Zeitpunkt Blutparasiten nachweisbar sind, oder es wird der Anteil der Personen bestimmt bei denen Milzvergrößerungen auftreten. Jedoch ist eine Splenomegalie weniger aussagekräftig, da hier auch andere Krankheiten zugrunde liegen können [Oxford Handbook, 2008].

1.2 Klima, Vegetation, Bevölkerung

Ghana ist ein Land südlich der Sahara mit vielen Feuchtgebieten, insbesondere in südlichen Landesteilen. Aufgrund dieser wird das Vorkommen von Anopheles-Mücken und demzufolge das Auftreten von einer Malaria begünstigt. Mit einer Durchschnittstemperatur von 26,5 °c und einer Niederschlagsrate von 787mm pro Jahr und dadurch stets hoher Luftfeuchtigkeit wird es der tropischen Klimazone zugeordnet [climatemps, 2012]. Es findet sich vor allem im Südwesten des Landes immergrüner Regenwald. In den nördlichen Teilen des Landes wird das Klima vom Einfluss der Sahara geprägt und ist deutlich trockener.
Über 99% der Bevölkerung sind Schwarzafrikaner, die ca. 50 verschiedenen Volksgruppen angehören. Für über die Hälfte sind Landwirtschaft, Fischfang und Forstwirtschaft Grundlage für den Lebensunterhalt [Länder- Lexikon, 2012].

1.3 Übertragung der Malaria

Die Malaria wird nachts durch die weibliche Anopheles- Mücke übertragen. Die Übertragung hängt von einigen Faktoren ab. Zu diesen gehören die Lebensspanne der Mücke, die Umgebungstemperatur (diese beeinflusst die Überlebenszeit der Mücke), die Populationsdichte der Bevölkerung, wie auch der Mücke, die Mückenbissrate (entspricht Mückenstiche pro Tag bei einem Individuum), die Immunantwort des Wirtes und ob die verwendeten Medikamente eine Wirksamkeit gegen die Gametozyten zeigen [Oxford Handbook, 2008].

1.4 Erreger und Zyklus

Die Malaria ist eine Protozoeninfektion und gehört zu den häufigsten parasitären Erkrankungen des Menschen. Übertragen wird sie durch die weibliche Anopheles-Mücke, in Ghana sind die vorherrschenden Stämme *Anopheles gambiae* und *Anopheles funestus* [Afrane et al., 2003]. Es gibt fünf Malariaspezies, die den Menschen infizieren können: *Plasmodium falciparum*, *Plasmodium vivax*, *Plasmodium ovale, Plasmodium malariae* und *Plasmodium knowlesi*. In der klinischen Manifestation wie auch der Prävalenz der Malaria

gibt es eine große Variabilität, sei es von Dorf zu Dorf, aber auch interindividuell. *Plasmodium falciparum* ruft die schwerste Form der Malaria hervor, die Malaria tropica. Die vorliegende Arbeit beschränkt sich auf *Plasmodium (P.) falciparum*.

Es werden der sexuelle Zyklus von *P. falciparum* in der Anopheles-Mücke und der asexuelle Zyklus im Wirt unterschieden. Eine Übertragung erfolgt, wenn die weibliche Anopheles-Mücke für die Entwicklung ihrer Eier nach Sonnenuntergang Blut saugt und einen Menschen sticht. Bei diesem Vorgang injiziert sie bewegliche Sporozoiten in die Blutbahn. Diese gehen invasiv in die Leberzellen, wo es zur Ausbildung einer parasitophoren Vakuole kommt. Es folgt eine Vermehrung der Parasiten und der Bildung von Merozoiten. Nach Auflösung der parasitophoren Vakuole werden die Merozoiten in Form von Merosomen in die Lebersinusoide abgeschnürt. Durch Ruptur der Merosomen werden die Merozoiten schrittweise in die Blutbahn freigesetzt und befallen dann Erythrozyten, in denen es weiter zu einer Vermehrung kommt und die im Verlauf rupturieren. Es werden erneut Merozoiten in die Blutbahn freigesetzt, die wiederum neue Erythrozyten befallen [Sturm et al., 2007]. Erst in der Blutphase treten klinische Symptome auf. Aus dem asexuellen Zyklus entwickeln sich einige Parasiten zu geschlechtlichen Gametozyten. Männliche und weibliche Gametozyten werden bei der nächsten Blutmahlzeit einer Mücke von dieser aufgenommen. In der Mücke wandeln sie sich zu einer Zygote, die sich in eine Ookinete verwandelt, welche sich im Mitteldarm der Mücke einnistet. Dort entsteht eine Oozyste, die sich durch asexuelle Teilung vermehrt, bis sie aufplatzt und zahlreiche Sporozoiten freisetzt. Die Sporozoiten wandern in die Speicheldrüsen der Mücke, von wo aus sie beim nächsten Mückenstich in die menschliche Blutbahn gelangen [Knobloch et al., 2003; Lebenszyklus der Malariaerreger, Matthias 2010].
Die Inkubationszeit bei *P. falciparum*, welche der Leberphase entspricht, beläuft sich meist auf sieben bis vierzehn Tage, kann aber auch bis zu sechs Wochen betragen, vor allem bei Personen mit partieller Immunität oder unzureichender Prophylaxe.

1.5 Pathophysiologie

Das Plasmodium verfügt über die Fähigkeit, dass die infizierten Erythrozyten sich an den Wänden der kleinen Blutgefäße anhaften (Zytoadhärenz) und nicht infizierte Erythrozyten an infizierte Erythrozyten gebunden werden (Rosetting). Dadurch gelangen die betroffenen Erythrozyten für unbestimmte Zeit nicht mehr in den Blutkreislauf. Diese Sequestrierung verursacht eine deutliche Obstruktion der Gefäße und dadurch eine Minderperfusion des Gewebes [Dondorp et al., 2004; Knobloch et al., 2003].

Zusätzlich besteht bei der Malaria eine verminderte Fähigkeit der Formänderung der nicht infizierten roten Blutkörperchen [Dondorp et al., 2004]. Genaue Ursachen dafür sind bisher noch nicht geklärt. Es wird ein starker Zusammenhang zwischen dieser herabgesetzten Formänderung und der auftretenden Azidose bei der Malaria gesehen, da die Flexibilität der Erythrozyten den Blutfluss durch die Gewebe sicherstellt.

Individuelle Beeinträchtigungen durch die Malaria sind häufig die Dehydratation und eine relative Hypovolämie mit potentieller mikrovaskulärer Obstruktion durch einen reduzierten Perfusionsdruck. Auch die Hämolyse stellt einen bedeutenden Teil der Malaria dar, da die daraus resultierende Anämie eine verminderte Sauerstoffanlieferung zur Folge hat [Louis et al., 2002].

Ursache für das Fieber bei der Malaria ist die Freisetzung von proinflammatorischen Zytokinen. Diese werden durch Parasitenprodukte, Wirtszellmaterial, Hämozoin und Antikörperkomplexe, Endothelzellen und Zellen des Makrophagen- Monozytensystems stimuliert [Knobloch et al., 2003].

Die Entstehung der schweren Erkrankung unterliegt somit verschiedenen Pathomechanismen: Die schnelle Expansion der Parasiten und damit der infizierten Blutzellen, die Zerstörung von infizierten wie nicht infizierten Zellen, mikrovaskuläre Obstruktion und entzündliche Prozesse. Alle diese Gründe verursachen eine reduzierte Gewebeperfusion [Louis et al., 2002].

1.6 Klinische Manifestation

Die Krankheit betrifft in Endemiegebieten vornehmlich kleine Kinder und schwangere Frauen. Auch bei asymptomatischen Erwachsenen können dort häufig Erreger im Blutausstrich nachgewiesen werden. Die Malariakontrolle ist in Gebieten mit endemischem Auftreten besonders schwer, da Interventionen die Durchseuchung lediglich mindern, aber nicht komplett eindämmen. Folge der hohen Parasitenpräsenz sind eine Reihe von Teilimmunitäten und das Auftreten von Krankheitsbildern mit einem Selektionsvorteil bei einer Malariainfektion gegenüber nicht Betroffenen (wie die Sichelzellanämie und der Glucuse-6-Phosphat-Dehydrogenase-Mangel) [Oxford Handbook, 2008; Weatherall et al., 2002].

Bemerkbar macht sich die Krankheit mit wiederkehrenden Fieberschüben, Schüttelfrost und Krämpfen, deshalb bekam sie auch den Namen Wechselfieber.

1.6.1 Unkomplizierte Malaria

Diese wird in Malariaendemiegebieten über das Vorhandensein von Fieber, asexuellen Parasiten im Blut und der Abwesenheit anderer Ursachen für Fieber (z.B. Otitis media) definiert (gilt auch für die komplizierte Malaria).
Eine *P. falciparum* Infektion verläuft weniger schwer, wenn sie früh erkannt und behandelt wird. Bei unzureichender Therapie kann sie jedoch schnell lebensbedrohlich werden, vor allem bei kleinen Kindern und nicht-immunen Erwachsenen [Maitland et al., 2004].

1.6.2 Komplizierte Malaria

Diese wird definiert über die für eine unkomplizierte Malaria aufgeführten Zeichen plus einer der folgenden Kriterien für die schwere Malaria nach der World Health Organization (WHO). Die im Folgenden (Tabelle 1) dargestellten Komplikationen beschränken sich auf die in der Studie untersuchten und bei Kindern am häufigsten auftretenden Befunde: (Die folgende Studie wurde 2009 durchgeführt und bezieht sich auf die WHO- Kriterien von 2000, die aktuelleren Kriterien von 2010 fließen hier somit nicht ein.)

Tabelle 1: WHO- Kriterien für die Einstufung als komplizierte Malaria [WHO, 2000]

WHO- Kriterien	**Klinik**
Respiratorischer Stress	schnelle, schwache Atmung, evtl. abnormer Atemrhythmus Speziell bei Kindern: interkostale Rezession und Nasenflügelflattern
Schwere Anämie	Hämatokrit-Wert (Hct) < 15% Hämoglobin-Wert (Hb) < 5g/dl
Ikterus	Gelbfärbung, vor allem der Skleren
Hämoglobinurie	dunkelgefärbter Urin
Hypoglykämie	Glukoselevel <2,2 mmol/l
Azidose	pH-Wert <7,35 Bikarbonat Spiegel <15 mmol/l Basenabweichung > -10
Flüssigkeits- und Elektrolytverschiebungen	Hypovolämie und Dehydratation niedrige Natrium-, Chlorid-, Magnesium-, Calcium-, und Phosphorsäurespiegel
Schock	kalte Peripherie, schwache oder fehlende periphere Pulse
Hyperparasitämie	Parasitendichte >250.000 Parasiten / µl oder >5% infizierte rote Blutzellen
Zerebrale Malaria	Krämpfe, Koma, fokale neurologischen Ausfälle und Hirnstammzeichen

Die zerebrale Malaria ist die wichtigste Komplikation und hat auch behandelt noch eine 20%ige Letalität. Sie zeigt sich hauptsächlich bei Kindern und äußert sich in Krämpfen, Koma, fokalen neurologischen Ausfällen und Hirnstammzeichen. Bei den überlebenden Kindern zeigen sich bei 10% der Patienten auch später noch neurologische Einschränkungen [Newton et al., 1998; Holding et al., 2001].

Die meisten Patienten, die an einer Malaria erkrankt sind, zeigen früher oder später einen Abfall des Hämoglobin-Werts. Es handelt sich um eine normozytäre Anämie. Symptomatisch äußert sich die Anämie in Blässe, Atemnot, galoppierendem Herzschlag, respiratorischem Stress und neurologischen Zeichen [Redd et al., 1996]. Hervorgerufen wird die Anämie durch Hämolyse, bakterielle Infektionen und Blutungen. Bei Kindern mit wiederholtem Auftreten von Malaria kann es zu einer chronischen normozytären Anämie kommen [Knobloch et al., 2003].

Die Hämoglobinurie äußert sich in sehr dunklem Urin. Die Ursachen können starke Hämolyse, aber auch Folgen der Medikamentengabe sein.

1.7 Behandlungsstandard der Malaria tropica bei Kindern in Kumasi, Ghana

Patienten mit einer Malaria tropica werden nach klinischem Bild behandelt, abgestimmt auf die nationalen Leitlinien. Je nach Schweregrad werden die Patienten stationär oder ambulant versorgt.

1.7.1 Schwere Malaria

In Ghana wird diese mit Chinin behandelt und gegebenenfalls mit Artesunat rektal [BNF for children, 2008].

Chinin kann intravenös oder intramuskulär gegeben werden. Eine intramuskuläre Gabe wird vor allem bei sehr kranken Kindern durchgeführt. Die initiale intravenöse Chiningabe beträgt 20 mg/kg (max. 1,4 g) über eine Infusion über vier Stunden, nach acht Stunden eine erneute Dosis von 10 mg/kg (max. 700 mg) per Infusion über vier Stunden. Dieser Vorgang wird alle acht Stunden wiederholt, bis der Patient eine Tabletteneinnahme toleriert. Insgesamt wird sieben Tage therapiert. Kombiniert wird die Chiningabe mit Clindamycin (7-13 mg/kg, max. 450 mg, alle acht Stunden für sieben Tage), um bei eventueller Chinin- Resistenz Rekrudeszenzen zu vermeiden.

Alternativ wird eine Malaria tropica auf der PEU mit Artesunat-Zäpfchen (10mg/kg) behandelt. Eine Kontraindikation dafür ist die Diarrhö. Bei Artesunat zeigt sich häufiger eine Rekrudeszenz aufgrund der kurzen Halbwertszeit [Owusu-Agyei et al., 2008].

1.7.2 Unkomplizierte Malaria

Hier liegt der Behandlungsstandard in Ghana bei Artemether und Amodiaquine [BNF for children, 2008].

1.7.3 Symptomatische Therapie

Die Behandlung von Krämpfen erfolgt mit Diazepam (0,5 mg/kg rektal). Eine Hypoglykämie wird mit einer langsamen Infusion einer 10%igen Dextroselösung (5 ml/kg) korrigiert [Oxford Handbook, 2008].

Kinder mit schwerer Anämie (Hct < 5 g/dl) bekommen eine Bluttransfusion (packed red blood cells 20 ml/kg über vier Stunden).

Bei fiebrigen Patienten wird zusätzlich Paracetamol (60 mg/kg/Tag) verabreicht. Unterstützende Flüssigkeitsgabe wird nach individuellem Krankheitsverlauf und nach Maßgaben des behandelnden Arztes angeordnet [BNF for children, 2008].

1.8 Rationale zur Arbeitshypothese

Offen bleibt bisher die Frage nach Beteiligung des Herz- Kreislauf- Systems bei der Malaria. Es gibt Hinweise dafür, dass bei der Malaria tropica die Herzfunktion beeinträchtigt ist:

Die klinischen Symptome einer Herzinsuffizienz, wie Ödeme, und EKG-Veränderungen (ST- Streckenveränderungen und QT- Verlängerungen) [Bethel et al., 1996], erhöhte *N-terminal pro-brain natriuretic peptide* (NT-pro BNP), *creatine Kinase muscle-brain* (CK-MB) und *heart-type fatty acid-binding protein* (H-FABP)-Werte bei der Malaria tropica sprechen dafür [Ehrhardt et al., 2004 und 2005]. Auch ist bekannt, dass bei einer schweren bakteriellen Sepsis aufgrund von Volumendefiziten und Entzündungsreaktionen und der daraus resultierenden mangelnden Gewebeperfusion die Herzfunktion beeinträchtigt ist. Hier hat sich eine schnelle Flüssigkeitsgabe als lebensrettend bewährt [Merx und Weber, 2007]. Auch bei der Malaria tropica spielt die Aktivierung von proinflammatorischen Mediatoren eine wichtige Rolle, diese deregulierten Entzündungsmechanismen können Gewebeschäden nach sich ziehen. Bei der Malaria, wie auch bei der Sepsis kommen eine eingeschränkte Mikrozirkulation (aufgrund Adhäsion und Sequestrierung) und vor allem durch eine Hypovolämie hervorgerufene metabolische Azidose häufig vor. [Annane et al., 2005 ; Clark et al., 2008 ; Planche, 2005]. Bei Erwachsenen mit Malaria tropica wurde ein

signifikant herabgesetztes Herzminutenvolumen festgestellt, das in Beziehung zu der erhöhten peripheren Gefäßresistenz zu stehen scheint [Herr et al., 2011].

Bei der Behandlung der schweren Malaria tropica reicht die antiparasitäre Behandlung oftmals nicht aus, und es muss eine supportive Behandlung der lebensbedrohlichen Symptome (Flüssigkeitsverlust bei hohem Fieber, schwere Anämie, Azidose, Koma) hinzukommen [Maitland et al., 2003, Brierley et al., 2009]. Bislang ist dabei nicht gesichert, ob unter bestimmten Voraussetzungen, wie einer eventuell vorliegenden Beeinträchtigung der Herzfunktion, eine Flüssigkeitsrestriktion oder aber vorsichtige Flüssigkeitssubstitution vorteilhaft ist [Maitland et al., 2011; Rivers et al., 2010; Akech et al. 2010; Jarvis et al. 2006]. Zeichen einer eingeschränkten Gewebeperfusion, die sich in einer verlängerten kapillaren Rückfüllzeit und respiratorischem Stress äußert, stehen in Zusammenhang mit einem erhöhten Risiko für einen tödlichen Ausgang der Malaria tropica [Evans et al., 2006]. Deshalb ist das Verständnis des pathogenetischen Hintergrundes dieser Symptome wichtig um eine gute unterstützende Therapie einleiten zu können.

1.9 Hypothese

Die vorliegende Arbeit bezieht sich auf die Studie Cardiavascular Function in Severe Malaria, kurz CFiSM. Diese beschäftigt sich vor allem mit der Fragestellung, ob es bei Kindern zwischen ein und neun Jahren, die an der schweren Form der Malaria erkranken, echokardiographische Hinweise auf eine Beeinträchtigung der Herzfunktion während der Erkrankung gibt.

Es wurde folgende Arbeitshypothese formuliert:

- Bei einem Teil der Kinder mit schwerer Malaria liegt eine kardiale Beeinträchtigung vor, die zur Schwere der Erkrankung beitragen kann.

Weiterführende Fragestellungen:

- Ist bei vorliegender Herzfunktionsbeeinträchtigung eine Assoziation mit anderen klinischen Symptomen der Malaria zu finden?
- Ist die eventuell vorliegende Herzfunktionsbeeinflussung mit parasitologischen Parametern assoziiert?

Ziel der Arbeit ist es, Art und Häufigkeit einer Beeinträchtigung der Herzfunktion zu analysieren, um daraus eventuell Konsequenzen für die supportive Therapie der schweren Malaria tropica ableiten zu können.

2 Material und Methoden

2.1 Studiendesign

Um die Beeinträchtigung der Herzfunktion bei einer komplizierten Malaria tropica weiter zu klären, wurde von der Sektion Tropenmedizin des Universitätsklinikums Hamburg-Eppendorf (UKE) eine groß angelegte Studie in Kumasi, Ghana gestartet. Es handelt sich um eine nicht- interventionelle, prospektive Kohortenstudie.
Bezüglich einer Studienteilnahme ausgewählt wurden Kinder, die mit Verdacht auf eine schwere Malaria in der PEU vorgestellt wurden. Um eine Einschätzung über das Vorliegen einer Malaria Infektion zu bekommen wurde ein Antigentest spezifisch für *P. falciparum* durchgeführt. Bei positivem Ergebnis wurden die Einschlusskriterien für die Studie geprüft.

2.1.1 Einschlusskriterien

- Einverständniserklärung der Eltern
- Alter: zwölf bis 108 Monaten
- Nachweis asexueller Blutstadien im dicken Tropfen
- Mindestens ein klinisches Symptom, oder Vorliegen von mindestens einem laborchemischem Parameter einer komplizierten Malaria und Abwesenheit einer anderen Ursache

Tabelle 2: Klinische und Laborchemische Einschlusskriterien

Klinisch:	- Koma: keine Reaktion auf gegebenen Stimulus - Gerinnungsstörung: Blutungen von Gaumen, Nase, Gastrointestinaltrakt, oder Einstichstelle - Krampfanfälle: zwei oder mehr in den letzten 24 Stunden - Unfähigkeit zu Sitzen oder den Kopf selbstständig zu stabilisieren (junge Kinder): Prostration - Atemprobleme: Kussmaulatmung - Ikterus: Untersuchung der Skleren - Kreislaufkollaps: kalte Hände und Füße, schwache oder fehlende periphere Pulse - Hämoglobinurie: dunkelroter oder schwarzer Urin, und/ oder Urinschnelltest ist für Hämoglobin/ Myoglobin positiv und mikroskopische Hämaturie ist ausgeschlossen
Labor-chemisch (point- of-care):	- Schwere Anämie: Hb < 5g/ dl oder Hct < 15% - Azidose- Plasma- Bikarbonat- Konzentration <15 mmol/l oder Basenüberschuss >-10. Acidose liegt vor wenn der pH <7,35 im kapillaren oder arteriellen Blut beträgt - Renale Beeinträchtigung: Urinausscheidung <2ml / kg BW/ 24 h oder die Plasma Kreatinin-Konzentration liegt über dem Normalwert, auch nach Flüssigkeitsgabe - Hypoglykämie: Glukoselevel <2,2 mmol/l - Hyperlaktatämie: Laktatkonzentration >5mmol/l

2.1.2 Ausschlusskriterien

Ausschlusskriterien für die Studie lagen vor, wenn die Erziehungsberechtigten nicht mit den Nachuntersuchungsprozeduren einverstanden waren- oder ein Herzfehler bestand, der entweder selbst festgestellt (durch Auskultation und nachfolgende Echokardiographie bei Auffälligkeit) oder von den Sorgeberechtigten der Patienten berichtet wurde.

2.1.3 Evaluationsablauf

Aufnahme:

Der Blutstropfen für den Malaria-Schnelltest wurde aus einer kapillaren Blutentnahme (s.u.)entnommen. Nach Prüfung der Einschlusskriterien wurde jedem Patient eine individuelle Studienidentifizierungs-Nummer (ID-Nummer) zugeordnet. Es handelte sich um aufsteigende Zahlen von A001 bis A220.

Nach Einschluss in die Studie wurde dem Kind zuerst Blut abgenommen. Die Blutabnahme musste vor der Behandlung, und somit vor der Flüssigkeits- oder Antimalariamittelgabe erfolgen. Aus einem venösen Zugang wurden weitere Blutproben entnommen. Dabei handelte es sich um Heparinblut (ca. acht Tropfen über eine Spritze / Kanüle) und EDTA- Blut (je nach Zustand des Kindes 0,5-2 ml). Dieses Blut wurde direkt im Anschluss für die iSTAT-Messungen verwendet (s.u.).

Tabelle 3: Aufnahmestatus

Es wurden die folgenden klinischen Befunde erhoben:
- Biometrische Daten: Alter, Gewicht, Größe, Geschlecht - Klinische Untersuchung: Glasgow- Komascore, Dehydration (verspätete Hautzurückstellung), kalte Peripherie oder schwache / fehlende periphere Pulse, Unfähigkeit zu sitzen, Thoraxauskultation (normal, unnormal→ wenn ja genaue Beschreibung), abnorme Blutungen von Gaumen, Nase, Venenpunktion, steifer Nacken, Hautausschlag, schwerer Durchfall, Herzgeräusche, akutes Abdomen, andere klinische Ergebnisse - Vitalzeichen: Blutdruck nach Riva-Rocci, um die Organperfusion abzuschätzen wurde der mittlere arterielle Druck aus dem diastolischen und systolischen Druck berechnet (MAP= DP + 1/3 (SP-DP)) - Atemfrequenz, Puls, Temperatur axillar, Rekapillarisierungszeit (Fingernagelprobe), Pupillenreaktion

Anschließend wurde mithilfe eines angeklebten Urinbeutels für Kinder eine Urinprobe entnommen sowie ein EKG (s.u.) geschrieben. Innerhalb von 24 Stunden nach Aufnahme wurde die Herzechokardiographie am Patienten durchgeführt.

Alle Kinder wurden nach ihrem klinischen Erscheinungsbild so schnell wie möglich nach nationalen Richtlinien antiparasitär mit Chinin und je nach klinischer Indikation supportiv behandelt.

<u>Nachuntersuchung:</u>

Am zweiten Tag nach Aufnahme wurde nochmals ein EKG aufgezeichnet.

Eine Folgeuntersuchung erfolgte an Tag 42 (± zwei Tage).

Tabelle 4: Evaluationsablauf

Tag	**0**	**2**	**42 (±2)**
Anamnese	X		
Klinische Untersuchung	X		X
Vitalparameter	X		X
Temperatur	X		X
Echokardiographie	X		X
EKG	X	X	X
Blutentnahme	X		X
Urin	X		X

2.2 Studienort

Die Studie wurde in der Paediatric Emergency Unit (PEU) des Komfo Anokye Teaching Hospital (KATH) in Kumasi / Ghana durchgeführt. Kumasi ist die zweitgrößte Stadt in Ghana, Hauptstadt der Ashanti Region, und hat knapp zwei Millionen Einwohner.
In der Region um Kumasi ist die Malaria tropica hyperendemisch, mehr als 50% aller Kinder unter fünf Jahren sind mit *P. falciparum* infiziert [Owusu-Agyei, 2009].

Das KATH dient als Referenzkrankenhaus für den zentralen Teil des Landes und deckt somit ein großes Einzugsgebiet ab. Patientenaufnahmen in der PEU erfolgen rund um die Uhr. Es werden Patienten bis zu dreizehn Jahren mit allen medizinischen Notfällen aufgenommen. Vorhanden sind zwölf allgemeine und fünfzehn Isolierbetten, die von zwei Chefärzten, sechs Oberärzten und acht weiteren Fachärzten der Pädiatrie betreut werden. Außerdem arbeiten sechzehn Krankenschwestern im Schichtbetrieb rund um die Uhr. In Krankenhausstatistiken zeigt sich, dass die PEU eine monatliche Aufnahmerate von 350 Fällen hat, von denen 20% als Malaria diagnostiziert werden.

2.3 Labormethoden

2.3.1 Malariadiagnostik

Schnelltest

Der Malaria-Schnelltest der Firma ACON beruht auf einem Antigentest spezifisch für *P. Falciparum* und ist erhältlich in den medizinischen Fachgeschäften in Kumasi. Jede Packung enthält 40 Schnelltests, 40 Pipetten und zwei Pufferlösungen. Für den Test benötigt man einen Tropfen frisches Vollblut, venös oder kapillar. Darauf gibt man zwei Tropfen des Puffers.

Das Blut-Puffergemisch läuft über den Teststreifen, nach wenigen Sekunden zeigt sich die erste Verfärbung, das endgültige Ergebnis steht nach zehn Minuten fest. Sieht man nur eine Kontrollbande ist der Test negativ für *P. falciparum,* sind zwei Banden vorhanden, ist er positiv. Nachgewiesen wird mit diesem Schnelltest das *P.falciparum-histidine rich protein 2* (PFHRP-2) [WHO malaria RDT, 2010], der Test liefert jedoch keine Aussage über die Menge an Parasiten.

Da in einigen Fällen der Test falsch positiv ausfiel [Iqbal et al., 2001], war für die Aufnahme in die Studie und zum Beweis einer vorliegenden Malariainfektion ein positiver Blutausstrich erforderlich.

Dicker Tropfen

Zur Speziesdiagnostik und Bestimmung von Parasitämien erfolgte ein Giemsa gefärbter dicker Tropfen. Im dicken Tropfen wurden die Parasiten pro 200 Leukozyten ausgezählt. Konnten pro 200 Leukozyten keine Parasiten nachgewiesen werden wurde die Auszählung auf 500 Leukozyten erweitert. Zur Kalkulation des Parasitenbefalls pro Mikroliter wurde die Leukozytenzahl aus dem Blutbild herangezogen. Zudem wurden Blutausstriche angefertigt.

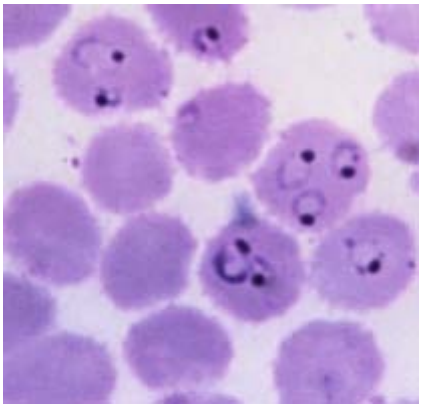


Abbildung 1: Blutausstrich mit *P. falciparum* befallenen Erythrozyten (Giemsa-Färbung). Siegelringform der intraerythrozytären Parasiten [Pharm. Ztg., 2010]

2.3.2 Blutbild

Die zellulären Blutbestandteile wurden über den SYSMEX KX-21N Haematology Analyzer, Mundelein, IL ausgezählt. Die Parasitologie und das Blutbild erforderten ein Blutvolumen von etwa 230 µl. Für die CFiSM- Studie wurde insgesamt maximal 250 µl Blut benötigt.
Die angefügte Tabelle gibt einen Überblick über die gemessenen Parameter:

Tabelle 5: In CFiSM gemessene Parameter

Gruppierung	**Parameter**	**Volumen**	**Probe**
Parasitologie	- Parasitendichte - Parasitenspezies	30 µl	EDTA
Blutbild	- Leukozyten - Erythrozyten - Thrombozyten - Hämoglobin - Hämatokrit	200 µl	EDTA
Blutchemie (iSTAT)	CG4+: Blutgasanalyse CHEM8+: Elektrolytmessung PT/ INR: PTT, INR cTNI: Troponin I BNP: NT-pro BNP	95 µl 40 µl 40 µl 16 µl 16 µl	Heparinisiertes Blut Heparinisiertes Blut Vollblut Heparinisiertes Blut EDTA

Das Blutplasma und die Urinproben wurden in Ghana bei –20°c tiefgefroren, um in Hamburg für weitere Laboranalysen zur Verfügung zu stehen.

2.3.3 iSTAT- Autoanalyzer

Das iSTAT ist ein Blutmessgerät der Firma Abbott Laboratories. Hierbei handelt es sich um ein mikroprozessorisches elektromechanisches Instrument, das Kartuschen erkennt und einen Lösungsfluss durch diese steuert. Für die CFiSM Studie kamen fünf Kartuschentypen zum Einsatz.

Vorteile sind der geringe Blutverbrauch - 16-95 µl pro Kartusche und kein notwendiger Probentransport, sowie Probenlagerung. Die Ergebnisse sind im Sinne einer point-of-care-Diagnostik schnell verfügbar (zwischen 2-10 min für jede Kartusche) und die Patienten profitierten unmittelbar von den Messungen.

Benutzt wurden folgende Kartuschen:

Tabelle 6: iSTAT- Messungen

Kartuschentyp	**Gemessene Parameter**
CG4+ Blutgasanalyse	pH, pCO2, pO2, Laktat, TCO2, HCO3, Basenüberschuss, sO2
CHEM8+ Elektrolytmessung	Natrium, Kalium, Chlorid, Harnstoff, Glukose, Kreatinin, Calcium, Hämatokrit, Anionenlücke, Hämoglobin
PT/ INR	Prothrombinzeit
BNP	Natriuretisches Brain-Typ-Peptid
cTNI	Troponin I

Für die PT/ INR Kartusche wurde ein Tropfen Kapillarblut benötigt: Mit einer Nadel (Durchmesser 25G) wird nach Desinfektion einer beliebigen Fingerkuppe ein kleiner Einstich durchgeführt. Der erste Blutstropfen wird verworfen/ abgewischt, der zweite große Tropfen direkt auf die vorgesehene Einbuchtung der PT/ INR Kartusche gegeben.

Für die weiteren Kartuschen erfolgte eine venöse Blutentnahme. Benötigt wurden ein EDTA und ein Heparinröhrchen mit jeweils 1ml Füllmenge [Handbuch iSTAT].

Abbildung 2: iSTAT- Autoanalyzer

2.3.4 Sonstiges Material

- Präzisionspipette für 100 µl + Pipettierspitzen (von Pipetman Neo)
- gelbe Kanülen zur Blutabnahme (24G (0,7x19), Flow 23 ml/min, von Viromed Healthcare, Jaipur, Indien)
- grüne Nadeln für kapillare Blutentnahme (21G (0,8x40) von Danaject)
- Heparinröhrchen 2 ml
- EDTA- Röhrchen 2 ml und 1 ml
- Thermometer+ Einmal- Hüllen (thermoval Basic von Hartmann)
- Blutdruckmessgerät mit Manschette für den Oberarm
- anklebbare Urinbeutel für Kinder (unsteril, Braun)
- Urinröhrchen+ Einmalpipette zum Befüllen

2.4 Echokardiographie

Es wurde das Gerät Toshiba Power Vision 6000, Japan verwendet. Die echokardiographischen Untersuchungen wurden vom Kardiologen Dr. Samuel Blay Nguah (Principal Investigator) durchgeführt.

Bei dieser Studie wurde die transthorakale Motion (M-) Mode-Echokardiographie- Schallköpfe (3,5, 5 oder 7,5 MHz) angewandt und dabei speziell die folgenden Untersuchungsmethoden:

- 4-Kammer-Blick: Mit Anlegen des Schallkopfes im 5.-6. ICR und in Richtung rechter Schulter weisend erhält man eine apikale Schnittebene. So bekommt man eine Darstellung des Ventrikelseptums in etwa doppelt so lang wie die des Vorhofseptums.
- 2-Kammer-Blick: Dafür dreht man den Schallkopf vom 4-Kammer-Blick ausgehend um ca. 80° gegen den Uhrzeigersinn.
- Parasternale Längsachse: Der Schallkopf wird in der Medioclavicularlinie im 3.-5. ICR senkrecht mit leichter Neigung zur linken Schulter angelegt.
- Kurzachse: Hierfür dreht man den Schallkopf aus der parasternalen Längsachse um 90° im Uhrzeigersinn.
- Über den Längs- und Querschnitt kann der linke Ventrikel vermessen werden. Bedeutend sind der diastolische und der systolische Durchmesser, sowie die diastolische Septum- und Hinterwanddicke.

Als ergänzende Untersuchungsmethode wurde die Doppler-Echokardiographie eingesetzt. Die Doppler-Echokardiographie misst Flussgeschwindigkeiten und damit indirekt Druckgradienten. Über die indirekte Messung intrakardialer Druckverhältnissen kann man Herzklappenfehler (diese wurden damit definitiv ausgeschlossen) nachweisen.
Abschließend wurden auch Milz- und Lebergröße mithilfe der Sonographie bestimmt, um eine allfällige Hepatosplenomegalie genau auszumessen.

Für die Beurteilung der kardialen Pumpfunktion ist vor allem die linksventrikuläre (LV)-Funktion von prognostischer Bedeutung. Die globale LV-

Fraktion kann durch verschiedene Ansätze berechnet werden. Dazu gehören die Bestimmung der Verkürzungsfraktion („fractional shortening“ = FS), Berechnung der Ejektionsfraktion (EF) durch Zuhilfenahme der Teichholz-Formel für das enddiastolische (EDV) und endsystolische (ESV) Ventrikelvolumina und das errechnete Schlagvolumen [Kunert et al., 2006].

Verkürzungsfraktion (%)= (enddiastolischer Durchmesser - endsystolischer Durchmesser) / enddiastolischer Durchmesser (Normbereich: > 25- 30 %)
Ejektionsfraktion (%)= (Linksventrikuläres enddiastolisches Volumen - linksventrikuläres endsystolisches Volumen) / linksventrikuläres enddiastolisches Volumen
Eine bedeutsame eingeschränkte Ejektionsfraktion (< 30%) ist gleichbedeutend mit einer deutlich eingeschränkten Pumpfunktion.

Weitere Parameter zur Beurteilung der Herzleistung wurden wie folgt berechnet [Kunert et al., 2006]:
Schlagvolumen (ml)= enddiastolisches Volumen - endsystolisches Volumen
Herzminutenvolumen (l/min)= Schlagvolumen x Herzfrequenz
Herzindex (l/min/m²) = (Schlagvolumen x Herzfrequenz) / Körperoberfläche
Schlagvolumenindex (ml/m²)= Schlagvolumen / Körperoberfläche
Linksventrikulärer endsystolischer Volumenindex (ml/m²)= linksventrikuläres endsystolisches Volumen/ Körperoberfläche
Linksventrikulärer enddiastolischer Volumenindex (ml/m²)=linksventrikuläres enddiastolisches Volumen/ Körperoberfläche
Diese Indizes wurden gebildet, um die Unterschiede in Größe und Gewicht auszugleichen und somit die Herzleistung vergleichen zu können.

Mosteller Formel zur Berechnung der Körperoberfläche:
BSA (Body Surface Area, m²)= √((Größe (cm)x Gewicht (kg))/ 3600)
[Mosteller, 1987]

2.5 Elektrokardiogramm (EKG)

Für die 12-Kanal-EKG-Ableitung wurde das CARDIOVIT AT-101 Gerät der Firma Schiller aus Baar, Schweiz verwendet. Es wurden, abhängig von der Mitarbeit des Kindes, anklebbare Elektroden oder Vakuumelektroden benutzt.

Tabelle 7: Qualitative und quantitative EKG-Aufzeichnungen

Quantitativ	Qualitativ
- Herzfrequenz - QT- Zeit - QRS- Zeit - PQ- Zeit	- ST- Streckenveränderungen - Erregungsbildungs-, sowie Rückbildungsstörungen - Herzrhythmusstörungen

2.6 Statistik

2.6.1 Statistische Analysen

Für die statistischen Auswertungen wurde das SPSS 17.0 Software Package (SPSS Inc.® Chicago, USA) verwendet.
Es wurden paarweise Analysen durchgeführt, um intra-individuelle Ergebnisse zwischen Tag Null und Tag 42 (wenn verfügbar) zu vergleichen. Die Normalverteilung wurde mit dem Kolmogorov-Smirnov Test beurteilt. Der Wilcoxon Rank-Test, Student's t-test oder der Mann-Whitney U-Test wurden genutzt, um quantitative Parameter zwischen Subgruppen zu vergleichen. Wo anwendbar, wurden Gliederungszahlen mithilfe des Fisher's Exact Test (two-tailed) bestimmt. Um Korrelationen zwischen den Herzfunktionstests und Laborparametern darzustellen, wurde der Pearson Correlation Test nach Logarithmus-Transformation der nicht-parametrischen Daten angewendet. Verschiedene logistische Regressionsanalysen wurden durchgeführt um unabhängige Risikofaktoren in einer zweistufigen Annäherung darzustellen. Wenn Faktoren in einer Einzelregressionsanalyse eine signifikante Assoziation gezeigt haben, wurden diese in eine Vielfachregressionsanalyse aufgenommen und die Unabhängigkeit wurde dann schrittweise rückkontrolliert. Parasitämien wurden als geometrische mittlere Parasitendichte (GMPD) angegeben.
Eine statistische Signifikanz wurde bei $P<0.05$ angenommen.

2.6.2 Kalkulation der Größe der Studienpopulation

Es liegen keine Daten bezüglich der Häufigkeit einer eingeschränkten Herzfunktion bei der Malaria tropica vor. Eine vorhergehende Studie hatte gezeigt, dass die biochemischen Marker für die Herzfunktion während der Erkrankung erhöht sind (CK-MB 31%; NT- pro BNP 80,5%) [Ehrhardt et al., 2005]. Um eine Abschätzung der Häufigkeit einer kardialen Beeinflussung zu geben, wurden echokardiographische Untersuchungen durchgeführt, sowie biochemische Herzparameter bestimmt.

Die Studie zielte auf 159 Patienten mit vollständiger Datenerhebung (EKG, klinische, laborchemische und echokardiographische Untersuchungen, einschließlich Nachuntersuchung nach 42 Tagen) ab (Konfidenzintervall: 95%, Power: 80%). Ausgegangen wurde von einer ungefähr 20%igen Ausfallrate für den Nachuntersuchungstermin. Geplant war eine initiale Patientenaufnahme von 200 Kindern. Um potentiell falsch- positive Malariaschnelltests auszugleichen, wurde die Zahl der Probanden auf 220 erhöht.

2.7 Ethik

Eine positive Entscheidung der lokalen Ethikkommission der Kwame Nkrumah University for Science and Technology, KNUST lag Ende Februar 2009 vor.

Ein Dolmetscher klärte die Sorgeberechtigten ausführlich über die Vor- und Nachteile der Studie für das Kind auf. Eine Studienteilnahme erfolgte nur bei Vorliegen einer schriftlichen Einverständniserklärung durch die Sorgeberechtigten.

Alle teilnehmenden Kinder erhielten die Transportkosten für die Nachuntersuchungen erstattet.

Es wurden pro Kind maximal 2ml Blut entnommen. Von den schnellen Ergebnissen der iSTAT Messungen profitierte auch der Patient, da sie eine schnellere Behandlung ermöglichten, sowie im Sinne einer point-of-care-Diagnostik zeitnahe therapeutische Entscheidungen vor Ort ermöglichten.

Der Name des Kindes und der Eltern wurde separat aufbewahrt und in der Akte steht lediglich die ID-Nummer, so dass die Patienten vertraulich behandelt werden. Die Daten wurden mit Passwort gesichert gespeichert. Nur Studienmitarbeiter hatten Zugang zu den Daten.

3 Ergebnisse

Für die Studie wurden 220 Kinder ausgewählt. Von diesen Patienten mussten 37 (16,8%) aufgrund falsch positiver Malariaschnelltests (n=31), fehlender Blutausstriche am Aufnahmetag (n=5), oder klinischen Anhaltspunkten für andere Infektionen (Meningitis, n=1) ausgeschlossen werden. Dadurch erfolgte die Analyse aus insgesamt 183 Patienten. Für die Nachuntersuchungen an Tag 42 sind von diesen Patienten 73,8% (n=135) erschienen. Fünf Kinder (3%) starben.

3.1 Demographie (Alter, Geschlecht)

Bei den aufgenommenen Kindern handelt es sich bei 58% um Jungen (106/ 183).
Es ergab sich ein durchschnittliches Alter von 36 Monaten (Standardabweichung ±26,5).

3.2 Klinik

3.2.1 Temperatur

Tabelle 8: Körpertemperatur

	Tag 0 (Aufnahme)	Tag 42 (±2 Tage)	p
Körpertemperatur (°C)	37,4 (±1,2)	36,2 (±0,6)	**<0,001**

Tag 0: n= 183; Tag 42: n=135

3.2.2 Puls und Blutdruck

Betrachtet man die Herzfrequenzen finden sich an Tag 42 signifikant niedrigere Werte als bei Aufnahme.

Beim mittleren arteriellen Blutdruck lassen sich ebenso wie beim systolischen Blutdruck signifikante Differenzen darstellen.

Tabelle 9: Puls und Blutdruck

	Tag 0 (Aufnahme)	Tag 42 (±2 Tage)	p
Puls (/min)	141 (±22)	106 (±19)	**<0,001**
mittlerer arterieller Blutdruck (MAP) (mmHg)	64,3 (±12)	73,3 (±8)	**<0,001**
Systolischer Blutdruck (SAP) (mmHg)	93,5 (±13)	90,8 (±10)	**0,005**

n= 121

3.3 Parasitämie

Für die Auswertungen an Tag 42 sind 135 Kinder bezüglich der Parasitendichte verfügbar.
Die Parasitenwerte unterscheiden sich deutlich in ihrer Spannbreite. An Tag 42 waren sieben Patienten nicht parasitenfrei.

Tabelle 10: Parasitendichte

	Tag 0 (Aufnahme)	Tag 42 (±2 Tage)	p
GMPD (/µl)	33804 (±16)	0,6 (±9)	**<0,001**

Tag 0: n= 183; Tag 42: n=135

3.4 Allgemeine Laborwerte

Tabelle 11: Laborwerte

	Tag 0 (Aufnahme)	Tag 42 (±2 Tage)	p
Hämoglobin (g/dl)	7,4 (±2,9)	11,1 (±1,5)	**<0,001**
Glukose (mg/dl)	108,3 (±49,8)	94,0 (±18,2)	**<0,001**
Kreatinin (mg/dl)	0,7 (±1,1)	0,4 (±0,1)	**0,001**
pH- Wert	7,42 (±0,1)	7,43 (±0,1)	**0.2**
Laktat (mmol/l)	5,2 (±4,2)	2,2 (±1,2)	**<0,001**

Tag 0: n= 183; Tag 42: n=135

Betrachtet man den Hämoglobinwert, zeigt sich eine signifikante Erniedrigung an Tag Null im Gegensatz zu Tag 42.

Anhand der Kreatininwerte konnte eine Einschätzung der Nierenfunktion erhoben werden.

Es zeigen sich an Tag Null signifikant erhöhte Laktatwerte, diese gehen aber nicht zwingend mit einer Azidose einher. Nimmt man die pH-Werte der Gesamtpopulation (n=183) zeigt sich kein signifikanter Unterschied.

3.5 Herzfunktion

Die Beeinträchtigung der Herzfunktion wird anhand der gefäßdynamischen Parameter der Echokardiographie (z.B. Herzminutenvolumen), sowie den Herzenzymen beurteilt. Echokardiographische Daten sind bei 121 Patienten an Tag Null wie an Tag 42 verfügbar.

3.5.1 Gefäßdynamische Parameter

Tabelle 12: Herzparameter

	Tag 0 (Aufnahme)	Tag 42 (±2 Tage)	p
Schlagvolumenindex (ml/m²)	40,8 (±10,5)	29,1 (±7,6)	**<0,001**
Ejektionsfraktion (%)	0,66 (±0,06)	0,67 (±0,04)	**0,008**
Herzindex (l/min/m²)	5,8 (±1,8)	4,7 (±1,4)	**<0,001**
Linksventrikulärer endsystolischer Volumenindex (ml/m$^{2)}$	21.7 (±7.1)	22.0 (±7.4)	0.68
Linksventrikulärer enddiastolischer Volumenindex (ml/m$^{2)}$	53.15 (±.9)	53.20 (±.8)	**0.028**

n= 121

Der Schlagvolumenindex war an Tag Null 40,8 ml/m², im Verlauf zeigte sich ein signifikanter Unterschied.
Bezüglich der Ejektionsfraktion zeigte sich ein signifikanter Unterschied, absolut gesehen war die Differenz zwischen Tag Null und 42 jedoch gering.

3.5.2 Herzenzyme

Die Herzenzymlevel konnten bei 106 Kindern an beiden Tagen (Tag 0 und 42) bestimmt werden. Vor allem bei den NT-Pro-BNP- Werten zeigen sich vereinzelt extrem hohe Werte (849,2 mg/ml).
Die Troponin I- Werte ergeben jeweils an Tag Null und Tag 42 gemessen keine signifikanten Unterschiede.

Tabelle 13: Troponin I und NT-Pro-BNP

	Tag 0 (Aufnahme)	Tag 42 (±2 Tage)	p
Troponin I (ng/ml, cut-off 0,03)	0,088 (±0,2)	0,03 (±0,02)	0,12
N- terminal-Pro-Brain Natriuretic Peptide (NT-Pro-BNP, mg/ml)	205,6 (±643,6)	35,6 (±29,7)	**0,003**

n= 106

3.6 Assoziation einer vorliegenden Herzfunktionsbeeinträchtigung mit anderen klinischen Symptomen der Malaria

3.6.1 Korrelation Herzfunktion-Anämie und Anämie-Laktatkonzentration

A) Hier wird auf eine Beziehung zwischen einem eingeschränktem Herzindex und einer aufgetretenen schweren Anämie (Hb < 5 mg/dl) eingegangen. Eine schwere Anämie ist mit einem erhöhten Herzindex assoziiert (Korrelationskoeffizient: |r|=0,36).

B) Betrachtet man die Hämoglobinwerte in Abhängigkeit zu den Laktatwerten lässt sich eine signifikante Beziehung zueinander herstellen. Tiefe Hämoglobinwerte gehen mit hohen Laktatwerten einher (Korrelationskoeffizient: |r|=0,24).

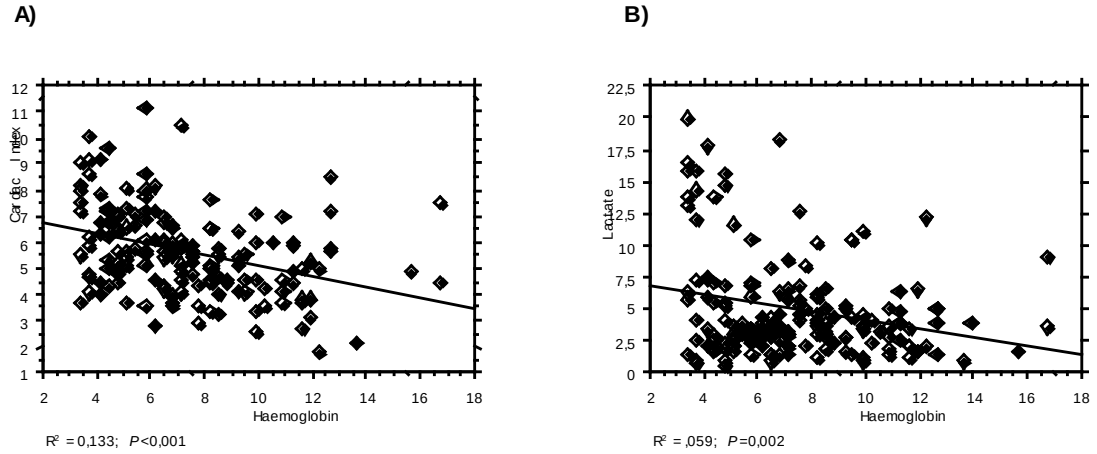


Abbildung 3: Regressionsanalyse A) Herzindex- Hämoglobin B) Laktat- Hämoglobin

3.6.2 Korrelation Herzfunktion-Parasitämie

Betrachtet man den Herzindex im Zusammenhang mit der Parasitendichte zeigt sich keine Beziehung dieser Werte zueinander. Es ergibt sich ein Korrelationskoeffizient von |r|=0,09 (P=0,24). Dies bedeutet, dass sich bei steigender Parasitendichte der Herzindex nicht verschlechtert. Es lässt sich somit kein Zusammenhang der Parasitenanzahl mit der Herzfunktion herstellen.

3.6.3 Korrelation Herzfunktion- Geschlecht

Es zeigen sich signifikante Ergebnisse bezüglich einer Assoziation zwischen den männlichen Patienten und einem erhöhten Herzindex. Somit haben die weiblichen Patientinnen am Aufnahmetag einen geringeren Herzindex als die männlichen.

Tabelle 14: Herzindex- Geschlecht

	Männliche Patienten	Weibliche Patienten	p
Herzindex (l/min/m²) bei Aufnahme	6,2	5,2	**< 0,001**

n= 121

3.6.4 Der Herzindex in Abhängigkeit zum Alter

Zur genaueren Betrachtung der Herzfunktion in Bezug auf das Alter der Patienten wurde eine Unterteilung in drei Altersstufen vorgenommen (<24 Monate, 24 bis <48 Monate, 48 Monate). Hier zeigen sich signifikant erhöhte Herzindex-Werte bei Aufnahme im Vergleich zu Tag 42 vor allem bei den Kindern unter zwei Jahren.

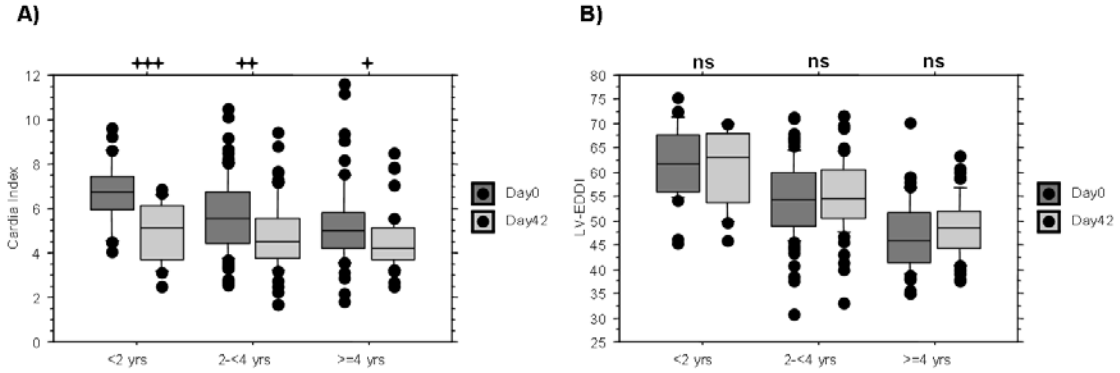


Abbildung 4: A) Herzindex B) linksventrikulärer enddiastolischer Index in Abhängigkeit zum Alter

3.6.5 Der Hämoglobinwert in Abhängigkeit zum Alter

Auch die Hämoglobinwerte sind bei den jüngsten Kindern am geringsten und mit dem Alter ansteigend.

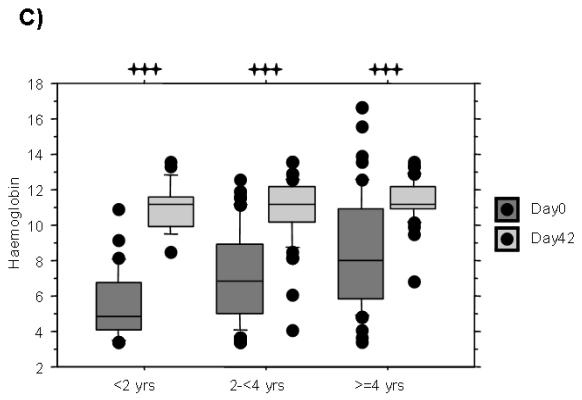


Abbildung 5: C) Hämoglobinwert in Abhängigkeit zum Alter

3.6.6 Vergleich zwischen klinischen, Labor- und Herzfunktionsparametern bei Patienten mit und ohne metabolischer Azidose bei Aufnahme

Auffallend ist eine starke Assoziation einer hohen Parasitendichte mit der Azidose. Die Herzauswurfleistung wie auch die Herzfrequenz waren jedoch nicht assoziiert mit einer Azidose.

Tabelle 15: Vergleich mit / ohne metabolische Azidose

	Keine Azidose (n=119)	Metabolische Azidose (n=55)	p
Parasitendichte (/µl)	18.309 (±15,7)	106.320 (±15,7)	**<0,001**
Herzfrequenz (/min)	137 (±22)	147 (±23)	**0,006**
Herzindex (l/min/m$^{2)}$	5,7 (±1,7)	5,8(±1,9)	0,89
NT-Pro-BNP (mg/ml)	57,0 (±135,8)	52,0 (±64,5)	0,58
TnI (ng/ml)	0,02 (±0,08)	0,06 (±0,2)	0,06
Laktat (mmol/l)	3,3 (±1,6)	9,2 (±5,1	**<0,001**

4 Diskussion

4.1 Die Herzfunktion bei der akuten Malaria

In dieser Studie kann gezeigt werden, dass bei der akuten Malaria der Herzindex erhöht ist. Die Ejektionsfraktion als Maß für die Kontraktilität des Herzmuskels zeigt keine signifikanten Unterschiede. Aufgrund dessen kann nicht sicher beurteilt werden, ob das Fieber und die eventuell dadurch erhöhte Herzfrequenz als Ursache für einen erhöhten Herzindex zu sehen sind.

Diese Ergebnisse sind widersprüchlich zu denen aus einer kürzlich durchgeführten Studie an erwachsenen Malaria-Erkrankten Reiserückkehrern. Bei diesen zeigten sich im Gegensatz zu den vorliegenden erniedrigte Herzindexwerte bei einer akuten *P. falciparum* Infektion im Erwachsenenalter [Herr et al., 2011].

Was bei den Blutdruckmessungen bei Kindern mit schwerer Malaria auffällt, ist ein signifikant erhöhter mittlerer arterieller Druck wie auch ein systolischer arterieller Druck. Dies könnte damit erklärt werden, dass die Kinder mit einer schweren Malaria tropica einen höheren peripheren Widerstand überbrücken müssen. Die Sequestration von befallenen Erythrozyten führt zu einer Obstruktion der kleinen Gefäße und damit zu einer erhöhten Nachlast [Dondorp et al., 2008]. Ähnliches wurde in einer Studie über die unkomplizierte Malaria im Erwachsenenalter beschrieben [Herr et al., 2011]. Anzumerken ist, dass in den frühen Stadien einer Sepsis vergleichbare Ergebnisse zu finden sind [Mehta et al., 2009].

Um weitere Schlüsse auf die Herzfunktion ziehen zu können wurden die Herzenzyme NT-Pro-BNP und Troponin I im Blut gemessen. Nur für die NT-Pro-BNP- Werte gibt es aktuell Normwerte für Kinder. Diese wurden in einer Studie festgelegt, bei der sich zusätzlich gezeigt hat, dass die Werte bis zum 19. Lebensjahr keine geschlechtsspezifischen Unterschiede zeigen. Insgesamt liegen die NT-Pro-BNP- Werte bei Kindern allerdings bis zu 260% höher als die von Erwachsenen [Mir et al., 2006]. Zu den Troponin-I- Werten existieren keine

etablierten Normwerte für afrikanische Kinder in dieser Altersgruppe, so dass aus Mangel an Daten somit keine Vergleiche gezogen werden können.

Das BNP kann als indirektes Maß für die linksventrikuläre Auswurfleistung gesehen werden. Es wird bei einer insuffizienten und/ oder vermehrten Pumpleistung (Volumenüberlastung/ Druckerhöhung) des Herzen vor allem im linken Ventrikel gebildet und sezerniert. Eine BNP- Erhöhung kann beispielsweise bei Tachykardie, Bluthochdruck, oder Kardiomyopathien auftreten. Die Ergebnisse bezüglich erhöhter Herzfrequenz und gesteigertem mittlerem arteriellem Blutdruck deuten somit darauf hin, dass die Erhöhung der Herzenzyme bei der Malaria auf eine erhöhte Herzmuskelarbeit zurückzuführen ist und nicht wie zuerst vermutet auf einen direkten Defekt an den Herzmuskelzellen. Eine kürzlich erschienene Studie sieht ursächlich dafür einen erhöhten Pulmonaldruck und myokardialen Wandstress, sowie eine NO-Freisetzung aus intravasaler Hämolyse [Janka et al., 2010]. Vergleichbar sind diese Ergebnisse mit Befunden bei der Sepsis/ SIRS. Hier wurde bereits beschrieben, dass eine Erhöhung der Herzenzyme durch die erhöhte Muskelarbeit- ausgelöst durch die Malaria tropica- verursacht wird [Domico et al., 2008; Zanotti- Cavazzoni et al., 2009].

Ergänzend wurde in einer früheren Studie gezeigt, dass Toxine (z.B. Glykosylphosphatidylinositol) der Plasmodium Parasiten eine Apoptose der Herzmuskelzellen in vitro hervorrufen können [Wichmann et al., 2007; Wennicke et al., 2008]. Dies würde bedeuten, dass die Malaria zusätzlich einen Untergang von Herzmuskelzellen bewirkt.

4.2 Die Herzfunktion bei einzelnen Untergruppen

4.2.1 Parasitologie

Dass nicht alle Patienten am Nachuntersuchungstermin parasitenfrei waren, war erwartungsgemäß, da Kumasi in einem Gebiet mit hyperendemischem Auftreten der Malaria tropica liegt. Bei den unter fünf Jährigen beträgt die Parasitenprävalenz in Ghana bis zu 64% [Owusu-Agyei et al., 2009]. Somit waren einige der Patienten erneut infiziert und wiesen an Tag 42 wieder Parasiten auf. Am Tag der Nachuntersuchung zeigten sich bei diesen erneut infizierten Patienten- bis auf einzelne Ausnahmen- keine Symptome einer erneuten Malaria tropica.
Die Parasitenmenge scheint mit der Herzleistung nicht im Zusammenhang zu stehen. Aber es zeigt sich, dass eine hohe Parasitendichte mit niedrigen Hämoglobinwerten einhergeht. Befallene Erythrozyten rupturieren im Verlauf. Ein vermehrter Parasitenbefall bewirkt somit eine gesteigerte Anämie [Louis et al., 2002].

4.2.2 Temperatur

Die mittlere Körpertemperatur lag bei Aufnahme an Tag Null bei 37,4°C und damit eher niedrig vor dem Hintergrund einer fieberhaften Infektion. Dies ist einerseits mit den Aufnahmebedingungen auf der Kindernotaufnahme zu erklären. Die Kinder lagen bei Aufnahme entkleidet auf einem Bett ohne Überzug, also auf einer kalten Unterlage. In dem Raum lief zusätzlich durchgehend ein Ventilator, dadurch sind die Patienten leicht ausgekühlt. Außerdem wurde die Temperatur axillar bestimmt, dies stellte sich vor allem bei Patienten, die häufiger krampften, als schwer durchführbar heraus. Somit ist die Temperatur eventuell technisch bedingt insgesamt etwas zu niedrig gemessen. Andererseits handelt es sich um das Wechselfieber, das heißt nicht alle Patienten haben immer Fieber bei Aufnahme. In der Akutphase ist die Temperatur trotz den angeführten Punkten jedoch mit 37,4°C signifikant erhöht im Vergleich zur Nachuntersuchung nach 42 Tagen.

4.2.3 Glukose

Bei den Ergebnissen der Glukosewerte schlagen die Werte überraschenderweise eher Richtung eine Hyperglykämie an Tag Null aus und nicht wie nach WHO Kriterien der schweren Malaria zu erwarten in Richtung einer Hypoglykämie. Das lässt sich mit der Stresssituation bei Aufnahme erklären, da die meisten Patienten im Verlauf sich dann hypoglykämisch darstellten. In diesem Fall sind aber auch die Referenzwerte der Folgeglukosebestimmungen schwer zu vergleichen, da nur im Rahmen der Studie direkt bei Aufnahme der Glukosewert mit dem iSTAT-Gerät gemessen wurde. Alle weiteren Messungen liefen dann mit den Geräten der PEU. Dort wurden Glukosesticks verwendet. Hier der Vollständigkeit halber anzumerken ist, dass diese Glukosesticks vor allem bei sehr kleinen Kindern mit einem hohen Hämatokrit-Wert falsche Ergebnisse liefern können. Allerdings sollte das aufgrund der insgesamt tiefen Hämatokrit-Werte hier nicht zutreffen.

4.2.4 Anämie

Die schwere Anämie ist eine bekannte Komplikation der *P. falciparum* Infektion und ist prognostisch relevant [Novelli et al., 2010].
Zu beachten ist, dass bei vielen Menschen in einem hyperendemischen Malariagebiet eine chronische Anämie vorliegen kann. Diese kann aufgrund von Eisen-, Vitaminmangel, Hämoglobinopathien, oder chronischen intestinalen Wurmerkrankungen auftreten. Damit lassen sich die doch eher tiefen Hämoglobinwerte an Tag 42 erklären.
Es stellt sich eine negative Korrelation zwischen einer auftretenden Anämie und einem erhöhten Herzindex dar. Durch die Anämie entsteht bei den Patienten ein gesteigerter Sauerstoffbedarf. Ein erhöhtes Herzminutenvolumen könnte bei einer Anämie und einer relativen Hypoxämie bei parasitärem Befall die periphere Sauerstoffversorgung kompensieren.
Vergleichbares wird in einer Studie über Herzversagen bei schwerer Anämie beschrieben. Hohe Herzminutenvolumen können somit initial bei mangelnder kompensatorischer Erythropoese einen erhöhten Sauerstofftransport ausgleichen [Anand, 2010].

4.3 Laktat und Azidose

In einer Studie über die Herzfunktion bei 30 an Malaria erkrankten Kindern in Kenia zeigte sich, dass vor allem bei erniedrigtem Schlagvolumen und bestehender Azidose ein höheres Risiko für eine Hypovolämie und eine Herzdysfunktion besteht, und somit auch der Ausgang der Erkrankung davon abhängt [Yacoub et al., 2010]. Eine weitere Studie belegt zudem, dass erhöhte Herzmarker und die darauf geschlossene beeinträchtigte Herzfunktion allein aber nicht aussagekräftig für die Prognose sind. Die Laktatazidose scheint der aussagekräftigste Faktor für den Tod zu sein [Ehrhardt et al., 2005].

Bei der CFiSM- Studie wurden ebenfalls signifikante Ergebnisse bezüglich der Laktatwerte gefunden, allerdings standen diese überraschenderweise in keiner Beziehung zu der beeinträchtigten Herzfunktion. Ähnliches wurde in einer kürzlich erschienenen Studie beschrieben, diese fand keine Anzeichen für eine pulmonale Hypertension, sowie kardiale Beeinträchtigungen bei Patienten mit schwerer Malaria und einer Anämie, sowie einer Laktatazidose [Murphy et al., 2011].

Wie oben bereits erwähnt besteht aber eine signifikante Beziehung zu der Parasitenmenge. Dies deutet auf die vermutete Pathophysiologie der Azidose bei einer Malariaerkrankung hin. Es wird davon ausgegangen, dass infizierte Erythrozyten kleine Blutgefäße verstopfen und so keine ausreichende Gewebeperfusion sicherstellen können [Dondorp et al., 2004; English et al., 1997]. Aufgrund dessen wird vermehrt anaerob Energie gewonnen und dadurch mehr Laktat gebildet. Im Verlauf kann ein Anfallen von viel Laktat zu einer Azidose führen.

4.4 Weitere Einflussfaktoren

4.4.1 Geschlecht

Es hat sich herauskristallisiert, dass männliche Patienten ein deutlich erhöhtes Herzminutenvolumen gegenüber den weiblichen Patientinnen zeigen. Bisher konnte gezeigt werden, dass sich die Richtwerte bezüglich der Ventrikelgröße, obgleich nicht der Ventrikelmasse, im Geschlechtsvergleich unterscheiden [Sarikouch et al., 2009].
Zu ähnlichen Ergebnissen kam eine Studie bezüglich der Sauerstoffaufnahme und des Schlagvolumens im Geschlechtsvergleich bei Kindern [Rowland et al., 2000]. Dies könnte auf physiologische Unterschiede (wie auch die unterschiedlichen Hämoglobinkonzentrationen im Geschlechtsvergleich) hinweisen [Collis et al., 2001; Hayward et al., 2001].

4.4.2 Alter und Demographie

Die Herzfunktion unterscheidet sich sehr in Abhängigkeit zum Alter. Vor allem bei Kindern die jünger als zwei Jahre waren, zeigten sich große Unterschiede in den Auswertungen bei Aufnahme im Vergleich zur Nachuntersuchung. Dies weist daraufhin, dass die Herzfunktion, ebenso wie der Säure- Basen-Haushalt, bei kleinen Kindern eine andere Rolle spielt als bei Älteren. Allerdings zeigte sich in keiner Altersstufe eine Assoziation bezüglich Herzfunktionsparametern und einer metabolischen Azidose. Auch immunologische Ursachen scheinen hierfür bedeutend zu sein (siehe „Immunologische Aspekte“)[Cramer et al., 2005].

Es zeigte sich ein durchschnittliches Alter von 36 Monaten. Dies entspricht dem hauptsächlichen Erkrankungsalter in einer Region wie Kumasi, in der die Malaria tropica hyperendemisch vorkommt. Kinder über fünf Jahre haben meist schon eine Immunität erlangt und erkranken nicht mehr an der nach WHO- Kriterien schweren Form.

4.5 Weiterführende Fragestellungen

4.5.1 Unkomplizierte Malaria

Die Studie behandelte ausschließlich die schwere Form der Malaria, die Malaria tropica. Fraglich ist, ob es bei der leichteren Form der *P. falciparum* Infektion bei Kindern ebenfalls zu ähnlichen Veränderungen am Herzen kommt. Vielleicht lässt sich ein Zusammenhang einer eingeschränkten Herzfunktion mit der Schwere der Krankheit darstellen und eventuell dadurch bei der leichteren Form eine eingeschränkte Herzfunktion nahezu ausschließen. Dazu müssten aber die gleichen Daten wie bei der CFiSM-Studie nochmals bei der leichteren Form der *P. falciparum* Infektion erfasst werden.

4.5.2 Immunologische Aspekte

Darüber hinaus ist die Fragestellung bezüglich der immunologischen Grundlagen einer Malariaerkrankung interessant.

In frühen Stadien der SIRS stellen erhöhte Herzenzyme ein Ergebnis der Aktivierung des Immunsystems dar. Die Auswirkungen von erhöhten zirkulierenden Zytokinen wie TNF-α und IL-1β auf die Herzfunktion bei Patienten mit Sepsis und septischem Schock wurden bereits belegt. Diese, wie auch komplexe Wirkmechanismen durch freigesetztes Stickstoffmonoxid, führen zu einer herabgesetzten Kontraktilität des Herzmuskels. [Zanotti-Cavanozzi et al., 2009]. Die erhöhte Freisetzung von Immunmediatoren wie Stickstoffmonoxid steht zudem in Zusammenhang mit einer Anämie bei Kindern mit Malaria tropica [Cramer et al., 2005]. Es wurden darüber hinaus toxische Eigenschaften des Stickstoffmonoxids vor allem bei jüngeren Kindern gegen *P. falciparum* festgestellt. Somit gehen hohe Stickstoffmonoxid- Spiegel mit einer niedrigeren Parasitendichte einher [Cramer et al., 2005]. Bei jüngeren Kindern scheint folgernd das angeborene Immunsystem das Hauptabwehrsystem darzustellen, im Gegensatz zu älteren Kindern und Erwachsenen, bei denen das spezifisch erworbene Immunsystem das Vorherrschende ist [Cramer et al., 2005]. Dies könnte die Ergebnisse bezüglich des erhöhten Herzindexes bei jüngeren Kindern im Gegensatz zu den Ergebnissen bei Erwachsenen mit importierter *P. falciparum* Infektion erklären. In einer kürzlich erschienenen Studie konnte eine positive Assoziation des Herzindexes mit Zytokinen wie TNF-α und IL-10 herausgefunden werden. [Herr et al., 2011].

4.6 Limitierungen

Um genaue Daten bezüglich des peripheren Widerstandes (Nachlast) und des Hydratationszustandes (Vorlast) zu gewinnen, müssten weiterführende invasive Maßnahmen (z.B. Pulmonaliskatheter) durchgeführt werden. Bei der bisherigen Datenerhebung können diese Werte lediglich indirekt errechnet werden.

Eine weitere Schwierigkeit der Studie ist, genau zu differenzieren, ob neben der Infektion mit *P. falciparum* andere Infekte zur Krankheitssymptomatik beigetragen haben, z.B. eine bakterielle Sepsis. Koinfektionen könnten somit bei Patienten mit den Symptomen einer schweren Malaria ebenso vorliegen [Marks et al., 2010].

Aufgrund der niedrigen Mortalitätsrate (n=5) der Studienteilnehmer kann keine Aussage darüber getroffen werden, ob eine eingeschränkte Herzfunktion mit einer schlechteren Prognose assoziiert ist. Hierfür müsste eine größer angelegte Studie durchgeführt werden.

Es liegen nicht bei allen Patienten komplette Daten vor, dies hängt mit folgenden Aspekten zusammen:

<u>Patientenaufnahme</u>

Problematisch bei der Patientenaufnahme waren die Umstände auf der PEU. Räumlich sehr beengt, musste immer wieder darauf geachtet werden (vor allem wenn mehrere Patienten gleichzeitig aufgenommen wurden), dass die Patienten aufgrund der Studie nicht eine verspätete Behandlung bekamen. Außerdem war es nicht immer möglich die Reihenfolge der Untersuchungen einzuhalten.

Ein weiteres Problem war die Sprachbarriere Englisch (Amtssprache) / diverse stammesspezifische Sprachen und Dialekte. Die meisten Eltern und Kinder unter fünf Jahren können in Kumasi kein Englisch sprechen. Somit waren die Mitarbeiter der CFiSM-Studie auf die Übersetzung des ghanaischen Studienarztes, insbesondere bezüglich der Einverständniserklärung, angewiesen. Für die anderen Sprachen (hauptsächlich Twi) benötigte der Studienarzt einen größeren Zeitaufwand, um Name und Daten zu erfassen.

Nachuntersuchung

Bei den Nachuntersuchungsterminen sechs Wochen später waren einige Patienten nicht erschienen und konnten deshalb nicht vollständig in die Studie aufgenommen werden. Dafür gibt es verschiedene Erklärungen. In Ghana existieren kaum Adressangaben mit Straßen und Hausnummern. Der Feldarbeiter erinnerte die aufgenommen Patienten nach sechs Wochen an den Nachuntersuchungstermin und fuhr gegebenenfalls zu den Patienten, um sie abzuholen. Bei einigen Patienten war unklar, ob sie eventuell in der Zwischenzeit (Zeit zwischen Aufnahme und Nachuntersuchungstermin) verstorben waren.

Aufgrund der angeführten Punkte konnten einige Patienten nicht vollständig aufgenommen werden, dies wurde allerdings bereits im Vorfeld einkalkuliert und hat somit eher keinen Einfluss auf die Analyse.

4.7 Konsequenz für die Therapie der schweren Malaria tropica

Für die Therapie ist relevant, wie schwer die Kinder unter dem eingeschränkten Schlagvolumen leiden und ob man durch eine verminderte Flüssigkeitsgabe während den Fieberschüben die Belastung des Herzen mindern könnte. Somit könnte man in einigen Subgruppen mit einer kontrollierten Flüssigkeitsgabe Vorteile erreichen, aber vermutlich keinen generellen hämodynamischen Vorteil.

Ab einem bisher nicht definierten Schweregrad der Erkrankung könnte es aber umso bedeutender sein Erythrozytenkonzentrate anstelle der Flüssigkeitssubstitution zur Therapie einzusetzen, um die Sauerstoffversorgung des Gewebes zu verbessern.

Es scheint wichtig zu sein, weiterführend darzustellen, wie die Rolle niedriger Hämoglobinwerte in Bezug auf den Ausgang der Malariaerkrankung einzustufen ist.

5 Zusammenfassung

Nach wie vor ist die Malaria tropica in Kumasi und Zentral- Ghana eine der Hauptursachen für viele Todesfälle im Kindesalter. Schwere Infektionen wie die Sepsis beeinflussen generell Herzfunktion und hämodynamischen Status, jedoch ist konkret bei schwerer Malaria über ähnliche Auswirkungen bisher wenig bekannt. Resultate von kürzlich durchgeführten Studien mit Biomarkern weisen auf eine Beeinflussung der Herzfunktion hin, aber es existierten keine klinischen Untersuchungen, die dies beweisen.

Aufgrund dessen wurde 2008 und 2009 eine groß angelegte Studie durchgeführt. Es wurden 183 Kinder im Alter von 12 und 108 Monaten aufgenommen und klinische sowie Blutparameter an den Tagen Null und 42 (± 2 Tage) erhoben. Bedside tests für biochemische Marker wie Herzenzyme, Kreatinin, Blutgasanalysen, Elektrolyte und Blutauszählungen, sowie Funktionsuntersuchungen wie Echokardiographie und Elektrokardiogramm wurden mit klinischen Symptomen und Parasitendichte während einer Erkrankung verglichen. Uni- und multivariate Korrelationsanalysen sowie intra-individuelle Ergebnisse wurden zwischen den Tagen Null und 42 ermittelt.

Das Herzminutenvolumen war am Aufnahmetag im Vergleich zu Tag 42 signifikant erhöht (5.8 ml/m^2 (SD ±1.8) zu 4.7 ml/m^2 (SD ±1.4); $P < 0.001$). Ein gesteigertes Herzminutenvolumen korrelierte negativ mit den Hämoglobinwerten, aber nicht mit Parametern die auf eine eingeschränkte Gewebeperfusion oder eine metabolische Azidose hinweisen. Die Parasitendichten hatten einen signifikanten Einfluss in Richtung einer metabolischen Azidose, aber nicht auf das Herzminutenvolumen. Verschlechterte Herzfunktion, niedrige Hämoglobinwerte und eine metabolische Azidose wurden vor allem bei Kindern unter zwei Jahren gefunden.

6 Abstract

Mortality and morbidity due to Plasmodium falciparum malaria remain high. While severe infectious diseases like sepsis alter cardiac function and hemodynamic status, little is known on cardiac dysfunction in severe malaria. Results of recent studies with biomarkers indicate impaired cardiac function in severe malaria but no larger clinical investigation is available to support this.

To get more results about the cardiac function in children with severe malaria a study to investigate cardiac function among children with severe malaria in Ghana was conducted. In 2008 and 2009, 183 children aged 12-108 months were included and clinical as well as blood parameters were obtained upon admission and at day 42 (± 2 days). Bedside tests for biochemical markers like cardiac enzymes, creatinine, blood gas analyses, electrolytes and blood counts as well as functional analyses like standardized cardiac ultrasound and electrocardiograms were compared with clinical symptoms and conditions as well as blood parasite levels. Uni- and multivariate correlation analyses as well as intra-individual pair-wise comparisons between day 0 and 42 were performed.

Cardiac index (CI) was significantly increased on day 0 compared to day 42 (5.8 ml/m^2 (SD ±1.8) versus 4.7 ml/m^2 (SD ±1.4); $P < 0.001$). Increased CI correlated negatively with haemoglobin levels but not with parameters indicating impaired tissue perfusion or metabolic acidosis. Parasite levels had a significant influence on metabolic acidosis but not on CI. Alterations related to cardiac function, haemoglobin levels and metabolic acidosis were most prominent in children younger than two years.

7 Abkürzungsverzeichnis

CFiSM	Study to investigate cardiac function in severe malaria
CI	cardiac index= Herzminutenvolumen
CK-MB	creatine kinase muscle-brain
DP	diastolischer Druck
EDV	enddiastolisches Ventrikelvolumen
EDTA	Ethylenediaminetetraacetic acid
EF	Ejektionsfraktion
EKG	Elektrokardiogramm
ESV	endsystolisches Ventrikelvolumen
FS	fractional shortening= Verkürzungsfraktion
HB	Hämoglobin-Wert
HCT	Hämatokrit- Wert
H-FABP	heart-type fatty acid-binding protein
ICR	Interkostalraum
i.m.	intramuskulär
i.v.	intravenös
ID-Nummer	Identifikationsnummer
KATH	Komfo Anokye Teaching Hospital
LV	linksventrikuläre Funktion
MAP	mittlerer arterieller Druck
NT-Pro-BNP	N-terminal pro-brain natriuretic peptide
P.	Plasmodium
PEU	Paediatric Emergency Unit
SI	Schlagvolumenindex
SOP	Standard Operating Procedure
SP	systolischer Druck
SV	Schlagvolumen
UKE	Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf
WHO	Weltgesundheitsorganisation

8 Literaturverzeichnis

ACON Laboratories, Inc, 4108 Sorrento Valley Blvd., San Diego, CA 92121, USA, http://www.aconlabs.com/sub/international/infect.html, 4.10.2010, 13Uhr

Afrane YA, Klinkenberg E, Drechsel P, Owusu-Daaku K, Garms R, Kruppa T. Does irrigated urban agriculture influence the transmission of malaria in the city of Kumasi, Ghana? Acta Trop 2004 Jan;89(2):125-34.

Akech S, Ledermann H, Maitland K. Choice of fluids for resuscitation in children with severe infection and shock: systematic review. BMJ. 2010 Sep 2;341:c4416. doi: 10.1136/bmj.c4416.

Annane D, Bellissant E, Cavaillon JM. Septic shock. Lancet. 2005 Jan 1-7;365(9453):63-78.

Anand IS. Pathophysiology of anemia in heart failure. Heart Fail Clin 2010 Jul;6(3):279-88.

AWMF Leitlinie, Diagnose und Therapie der Malaria, 11-2010

Bethell DB, Phuong PT, Phuong CX, Nosten F, Waller D, Davis TM, Day NP, Crawley J, Brewster D, Pukrittayakamee S, White NJ. Electrocardiographic monitoring in severe falciparum malaria. Trans R Soc Trop Med Hyg. 1996 May-Jun;90(3):266-9.

BNF for children, 2008, „The essential resource for clinical use of medicines in children", bnfc.org, S.388f

Brierley J, Carcillo JA, Choong K, Cornell T, Decaen A, Deymann A, Doctor A, Davis A, Duff J, Dugas MA, Duncan A, Evans B, Feldman J, Felmet K, Fisher G, Frankel L, Jeffries H, Greenwald B, Gutierrez J, Hall M, Han YY, Hanson J, Hazelzet J, Hernan L, Kiff J, Kissoon N, Kon A, Irazuzta J, Lin J, Lorts A, Mariscalco M, Mehta R, Nadel S, Nguyen T, Nicholson C, Peters M, Okhuysen-Cawley R, Poulton T, Relves M, Rodriguez A, Rozenfeld R, Schnitzler E,

Shanley T, Kache S, Skippen P, Torres A, von Dessauer B, Weingarten J, Yeh T, Zaritsky A, Stojadinovic B, Zimmerman J, Zuckerberg A. Clinical practice parameters for hemodynamic support of pediatric and neonatal septic shock: 2007 update from the American College of Critical Care Medicine. Crit Care Med. 2009 Feb;37(2):666-88.

Browne ENL, Frimpong E, Sievertsen J, Hagen J, Hamelmann C, Dietz K, Horstmann RD, Burchard GD (2000). Malariometric update for the rainforest and savanna of Ashanti region, Ghana. Ann Trop Med Parasitol. 94(1):15-22

Clark IA, Alleva LM, Budd AC, Cowden WB. Understanding the role of inflammatory cytokines in malaria and related diseases. Travel Med Infect Dis. 2008 Jan-Mar;6(1-2):67-81.

Collis T, Devereux RB, Roman MJ, de Simone G, Yeh J, Howard BV, Fabsitz RR, Welty TK. Relations of stroke volume and cardiac output to body composition: the strong heart study. Circulation. 2001;103:820-5.

Cramer JP, Nussler AK, Ehrhardt S, et al. Age-dependent effect of plasma nitric oxide on parasite density in Ghanaian children with severe malaria. Trop Med Int Health 2005 Jul;10(7):672-80.

Domico M, Liao P, Anas N, Mink RB. Elevation of brain natriuretic peptide levels in children with septic shock. Pediatr Crit Care Med 2008 Sep;9(5):478-83.

Dondorp AM, Ince C, Charunwatthana P, Hanson J, van Kuijen A, Faiz MA, Rahman MR, Hasan M, Bin Yunus E, Ghose A, Ruangveerayut R, Limmathurotsakul D, Mathura K, White NJ, Day NP. Direct in vivo assessment of microcirculatory dysfunction in severe falciparum malaria. J Infect Dis. 2008 Jan 1;197(1):79-84.

Dondorp AM, Pongponratn E, White NJ. Reduced microcirculatory flow in severe falciparum malaria: pathophysiology and electron-microscopic pathology. Acta Trop. 2004 Feb;89(3):309-17.

Ehrhardt S, Mockenhaupt FP, Agana-Nsiire P, Mathieu A, Anemana SD, Stark K, Otchwemah RN, Bienzle U. Efficacy of chloroquine in the treatment of uncomplicated, Plasmodium falciparum malaria in northern Ghana. Ann Trop Med Parasitol. 2002; 96 (3): 239-47

Ehrhardt S, Mockenhaupt FP, Anemana SD, Otchwemah RN, Wichmann D, Cramer JP, Bienzle U, Burchard GD, Brattig NW. High levels of circulating cardiac proteins indicate cardiac impairment in African children with severe Plasmodium falciparum malaria.Microbes Infect. 2005 Aug-Sep;7(11-12):1204-10

Ehrhardt S, Wichmann D, Hemmer CJ, Burchard GD, Brattig NW. Circulating concentrations of cardiac proteins in complicated and uncomplicated Plasmodium falciparum malaria. Trop Med Int Health. 2004 Oct;9(10):1099-103.

English M, Muambi B, Mithwani S, Marsh K. Lactic acidosis and oxygen debt in African children with severe anaemia. QJM. 1997 Sep;90(9):563-9.

Evans JA, May J, Ansong D, Antwi S, Asafo-Adjei E, Nguah SB, Osei-Kwakye K, Akoto AO, Ofori AO, Sambian D, Sylverken J, Busch W, Timmann C, Agbenyega T, Horstmann RD. Capillary refill time as an independent prognostic indicator in severe and complicated malaria. J Pediatr. 2006 Nov;149(5):676-81.

Firma Abbott Laboratories, theoretische Grundlagen, Handbuch iSTAT

Hayward CS, Kalnins WV, Kelly RP. Gender-related differences in left ventricular chamber function. Cardiovasc Res. 2001;49:340-50.

Herr J, Mehrfar P, Schmiedel S, Wichmann D, Brattig NW, Burchard GD, Cramer JP. Reduced cardiac output in imported Plasmodium falciparum malaria. Malar J. 2011 Jun 9;10:160.

Holding PA, Snow RW (2001). Impact of Plasmodium falciparum malaria on performance and learning: review of the evidence. Am J Trop Med Hyg 64:68

Iqbal J, Hira PR, Sher A, Al-Enezi AA. Diagnosis of imported malaria by Plasmodium lactate dehydrogenase (pLDH) and histidine-rich protein 2 (PfHRP-2)-based immunocapture assays. Am J Trop Med Hyg. 2001 Jan-Feb;64(1-2):20-3.

Janka JJ, Koita OA, Traoré B, Traoré JM, Mzayek F, Sachdev V, Wang X, Sanogo K, Sangaré L, Mendelsohn L, Masur H, Kato GJ, Gladwin MT, Krogstad DJ. Increased pulmonary pressures and myocardial wall stress in children with severe malaria. J Infect Dis. 2010 Sep 1;202(5):791-800.

Jarvis JN, Planche T, Bicanic T, Dzeing-Ella A, Kombila M, Issifou S, Borrmann S, Kremsner PG, Krishna S. Lactic acidosis in Gabonese children with severe malaria is unrelated to dehydration. Clin Infect Dis. 2006 Jun 15;42(12):1719-25. Epub 2006 May 12.

J. Knobloch (Hrsg.), Malaria- Grundlagen und klinische Praxis, 1. Auflage 2003

Kobbe R, Kreuzberg C, Adjei S, Thompson B, Langefeld I, Thompson PA, Abruquah HH, Kreuels B, Ayim M, Busch W, Marks F, Amoah K, Opoku E, Meyer CG, Adjei O, May J. A randomized controlled trial of extended intermittent preventive antimalarial treatment in infants. Clin Infect Dis. 2007 Jul 1;45(1):16-25. Epub 2007 May 29.

M. Kunert/ L.J. Ulbricht Praktische Echokardiographie, 2.Auflage 2006

Maitland K, Kiguli S, Opoka RO, Engoru C, Olupot-Olupot P, Akech SO, Nyeko R, Mtove G, Reyburn H, Lang T, Brent B, Evans JA, Tibenderana JK, Crawley J, Russell EC, Levin M, Babiker AG, Gibb DM; FEAST Trial Group. Mortality after fluid bolus in African children with severe infection. N Engl J Med. 2011 Jun 30;364(26):2483-95. Epub 2011 May 26.

Maitland K, Marsh K. Pathophysiology of severe malaria in children. Acta Trop. 2004 Apr;90 (2):131-40

Maitland K, Pamba A, Newton CR, Levin M. Response to volume resuscitation in children with severe malaria. Pediatr Crit Care Med. 2003; 4 (4): 426-31

Marks F, Adu-Sarkodie Y, Hünger F, Sarpong N, Ekuban S, Agyekum A, Nkrumah B, Schwarz NG, Favorov MO, Meyer CG, May J. Typhoid fever among children, Ghana. Emerg Infect Dis. 2010 Nov;16(11):1796-7.

Merx MW, Weber C. Sepsis and the heart. Circulation. 2007 Aug 14;116(7):793-802.

Mehta PA, Dubrey SW. High output heart failure. QJM 2009 Apr;102(4):235-41.

Mir TS, Flato M, Falkenberg J, Haddad M, Budden R, Weil J, Albers S, Laer S. Plasma concentrations of N-terminal brain natriuretic peptide in healthy children, adolescents, and young adults: effect of age and gender. Pediatr Cardiol. 2006 Jan-Feb; 27(1):73-7.

Mosteller RD. Simplified calculation of body-surface area. N Engl J Med. 1987;317:1098.

Murphy S, Cserti-Gazdewich C, Dhabangi A, Musoke C, Nabukeera-Barungi N, Price D, King ME, Romero J, Noviski N, Dzik W. Ultrasound findings in Plasmodium falciparum malaria: a pilot study. Pediatr Crit Care Med. 2011 Mar;12(2):e58-63.

Newton CR, Krishna S (1998). Severe falciparum malaria in children: current understanding of pathophysiology and supportive treatment. Pharmacol Ther 79:1.

Ngouesse B, Basco LK, Ringwald P, Keundjian A, Blackett KN. Cardiac effects of amodiaquine and sulfadoxine-pyrimethamine in malaria-infected African patients. Am J Trop Med Hyg. 2001; 65 (6): 711-6.

Novelli EM, Hittner JB, Davenport GC, Ouma C, Were T, Obaro S, Kaplan S, Ong'echa JM, Perkins DJ. Clinical predictors of severe malarial anaemia in a

holoendemic Plasmodium falciparum transmission area. Br J Haematol. 2010 Jun;149 (5):711-21. Epub 2010 Apr 16

Owusu-Agyei S, Asante KP, Adjuik M, Adjei G, Awini E, Adams M, Newton S, Dosoo D, Dery D, Agyeman-Budu A, Gyapong J, Greenwood B, Chandramohan D. Epidemiology of malaria in the forest-savanna transitional zone of Ghana.Malar J. 2009 Sep 28;8:220

Owusu-Agyei S, Asante KP, Owusu R, Adjuik M, Amenga-Etego S, Dosoo DK, Gyapong J, Greenwood B, Chandramohan D. An open label, randomised trial of artesunate+amodiaquine, artesunate+chlorproguanil-dapsone and artemether-lumefantrine for the treatment of uncomplicated malaria. PLoS ONE. 2008; 3(6): e2530.

Oxford Handbook of Tropical Medicine, March 2008, Third Edition, S.31-44, S.60

Planche T. Malaria and fluids--balancing acts. Trends Parasitol. 2005 Dec;21(12):562-7. Epub 2005 Oct 19.

Rainer Klinge: Das Elektrokardiogramm. Thieme, Stuttgart 2002.

Redd SC, Kazembe PN, Luby SP, Nwanyanwu O, Hightower AW, Ziba C, Wirima JJ, Chitsulo L, Franco C, Olivar M. Clinical algorithm for treatment of Plasmodium falciparum malaria in children. Lancet. 1996 Jan 27;347(8996):223-7.

Rivers EP, Jaehne AK, Eichhorn-Wharry L, Brown S, Amponsah D. Fluid therapy in septic shock. Curr Opin Crit Care. 2010 Aug;16(4):297-308.

Rowland T, Goff D, Martel L, Ferrone L. Influence of cardiac functional capacity on gender differences in maximal oxygen uptake in children. Chest. 2000 Mar;117(3):629-35.

Sarikouch S, Peters B, Gutberlet M, Leismann B, Kelter-Kloepping A, Koerperich H, Kuehne T, Beerbaum P. Sex-specific pediatric percentiles for ventricular size and mass as reference values for cardiac MRI: assessment by steady-state free-precession and phase-contrast MRI flow. Circ Cardiovasc Imaging. 2010 Jan;3(1):65-76. Epub 2009 Oct 9.

Sturm A, Heussler V. Live and let die: manipulation of host hepatocytes by exoerythrocytic Plasmodium parasites. Med Microbiol Immunol. 2007 Sep;196(3):127-33. Epub 2007 Apr 5.

Wennicke K, Debierre-Grockiego F, Wichmann D, Brattig NW, Pankuweit S, Maisch B, Schwarz RT, Ruppert V. Glycosylphosphatidylinositol-induced cardiac myocyte death might contribute to the fatal outcome of Plasmodium falciparum malaria. Apoptosis. 2008 Jul;13(7):857-66.

Wichmann D, Schwarz RT, Ruppert V, Ehrhardt S, Cramer JP, Burchard GD, Maisch B, Debierre-Grockiego F. Plasmodium falciparum glycosylphosphatidylinositol induces limited apoptosis in liver and spleen mouse tissue. Apoptosis. 2007;12:1037-41.

World Health Organization, Communicable Diseases Cluster (200). Severe falciparum malaria. Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene, 2000:94(Suppl. 1):1–90

Yacoub S, Lang HJ, Shebbe M, Timbwa M, Ohuma E, Tulloh R, Maitland K. Cardiac function and hemodynamics in Kenyan children with severe malaria. Crit Care Med. 2010 Mar;38(3):940-5

Zanotti-Cavazzoni SL, Hollenberg SM. Cardiac dysfunction in severe sepsis and septic shock. Curr Opin Crit Care 2009 Oct;15(5):392-7.

http://www.ghana.climatemps.com, 11.07.2012, 11Uhr

http://www.laender-lexikon.de/Ghana, 11.07.2012, 12Uhr

http://www.pharmazeutische-zeitung.de/index.php?id=33154, 4.10.2010, 13.20Uhr

http://www.spss.com/de/software/statistics/, 29.9.2010, 11Uhr

Lebenszyklus der Malariaerreger, http://www.gigers.com/matthias/malaria/circle.htm, 4.10.2010, 12Uhr

List of products submitted to the WHO malaria RDT product testing programme round 1, Information for national public health services and UN Agencies wishing to procure RDTs; http://www.wpro.who.int/internet/resources.ashx/RDT/docs/MD_+table32_+Products+submitted+for+Rnd+1+.pdf, 29.5.2011, 12.30Uhr

Schiller, The art of diagnostics, http://www.schiller.ch/#schiller%28_84_104%29, 29.5.2011,13.30Uhr

UNICEF: Kinder in Afrika am stärksten von Malaria bedroht, Neuer Bericht von UNICEF und der Kampagne "Roll Back Malaria", 23. April 2010, http://www.unicef.de/presse/pm/2010/malaria-tag-2010/

9 Abbildungsverzeichnis

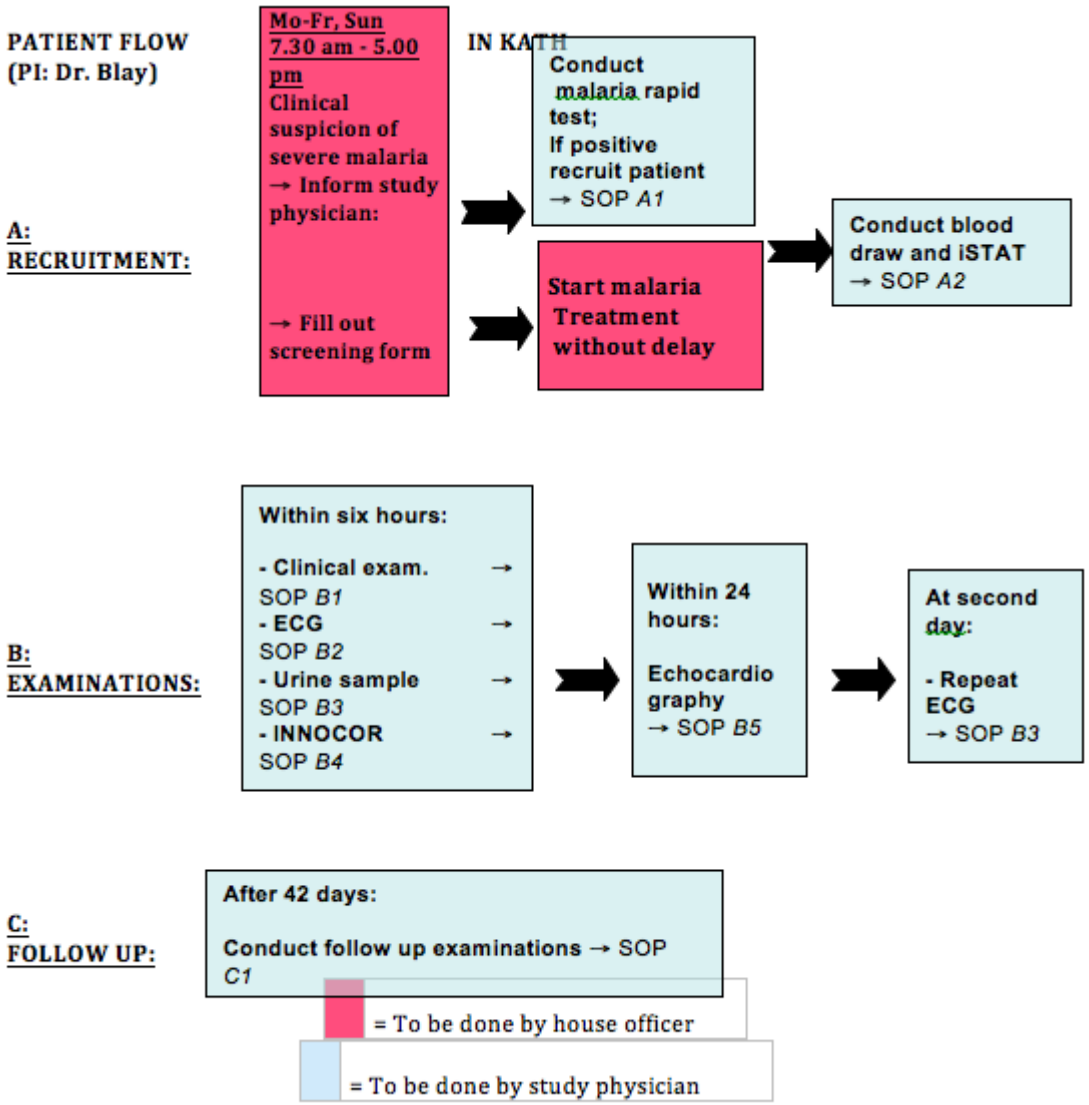
Abbildung 1: Blutausstrich mit *P. falciparum* befallenen Erythrozyten (Giemsa-Färbung). Siegelringform der intraerythrozytären Parasiten [Pharm. Ztg., 2010]..... 21
Abbildung 2: iSTAT- Autoanalyzer 24
Abbildung 3: Regressionsanalyse A) Herzindex- Hämoglobin B) Laktat-Hämoglobin 37
Abbildung 4: A) Herzindex B) linksventrikulärer enddiastolischer Index in Abhängigkeit zum Alter..... 38
Abbildung 5: C) Hämoglobinwert in Abhängigkeit zum Alter 39

10 Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: WHO- Kriterien für die Einstufung als komplizierte Malaria [WHO, 2000] 9
Tabelle 2: Klinische und Laborchemische Einschlusskriterien 16
Tabelle 3: Aufnahmestatus 18
Tabelle 4: Evaluationsablauf 19
Tabelle 5: In CFiSM gemessene Parameter 22
Tabelle 6: iSTAT- Messungen 23
Tabelle 7: Qualitative und quantitative EKG-Aufzeichnungen 27
Tabelle 8: Körpertemperatur 31
Tabelle 9: Puls und Blutdruck 32
Tabelle 10: Parasitendichte 33
Tabelle 11: Laborwerte 34
Tabelle 12: Herzparameter 35
Tabelle 13: Troponin I und NT-Pro-BNP 36
Tabelle 14: Herzindex- Geschlecht 38
Tabelle 15: Vergleich mit / ohne metabolische Azidose 40

11 Anhang

11.1 Ablauf der Patientenaufnahme



11.2 Untersuchungsformular Tag 1, 2 und 42

V1 - ADMISSION

Title: Study to investigate cardiovascular function in severe malaria

(short: CFiSM)

CASE RECORD FORM I

Clinical examination

Admission to hospital on date (dd/mm/yy): / /

Diagnosis:

1. **Age** (months – between 12 and 108 months)
2. **Sex** ☐ male ☐ female
3. **Severe malnutrition absent?** ☐ yes ☐ no
4. **Written informed consent signed by parent or guardian?** ☐ yes ☐ no
5. **Child's initials:**
6. **Biometric data**
   - Weight (kg): Length (cm):
6. **Vital signs**
   - Blood Pressure / mmHg
   - Pulse Rate / min
   - Respiratory Rate / min
   - Temperature °C

   Capillary Refill Time ☐ ≥ 3 sec. ☐ < 3 sec

   Pupillary Response ☐ prompt ☐ delayed
7. **Clinical examination:**
   - Coma present (BCS < 3, or GCS < 10) …… ☐ yes ☐ no
   - Dehydration (delayed skin recall) ☐ yes ☐ no
   - Acidotic breathing (Kussmaul etc.)…… ☐ yes ☐ no
   - Cool peripheries or weak / absent peripheral pulses…… ☐ yes ☐ no
   - Inability to sit upright or to suck (young children)…… ☐ yes ☐ no
   - Observed convulsions (at least two)…… ☐ yes ☐ no
   - Convulsions within last 24 hours (reported)…… ☐ yes ☐ no
   - Chest auscultation ☐ normal ☐ abnormal
   - If abnormal specify
   - Abnormal bleeding from gum, nose, venipuncture…… ☐ yes ☐ no
   - Jaundice…… ☐ yes ☐ no
   - Haemoglobinuria…… ☐ yes ☐ no
   - Stiff neck…… ☐ yes ☐ no
   - Roseolae / Rash…… ☐ yes ☐ no
   - Severe diarrhoea…… ☐ yes ☐ no
   - Heart murmur …… ☐ yes ☐ no
   - Acute abdomen…… ☐ yes ☐ no
   - Other Clinical Observation...

Doctor's Signature:_____ Date _____

Title: Study to investigate cardiovascular function in severe malaria

(short: CFiSM)

CASE RECORD FORM II

Laboratory Tests

1. Clinical Chemistry

iSTAT CG4+

pH……		
pCO_2……		mmHg
pO_2……..		mmHg
Base excess..		mmol/l
HCO_3……..		mmHg
Total CO_2….		mmol/l
O_2……..		%
Lactate…….		mmol/l

iSTAT CHEM8+

Natrium……		mmol/l
Kalium……		mmol/l
Chlorid……		mmol/l
Calcium, ion		mmol/l
Glucose……		mg/dl
BUN……		mg/dl
Creatinine…		mg/dl
Haematocrit		fraction
Haemoglobin		g/dl
Anion Gap...		mmol/l

iSTAT PT/INR

PT.....		sec
INR.....		

2. Cardiac markers

cTnI.....		ng/ml
BNP.....		pg/ml

3. EDTA-blood sample taken ☐

4. Urine sample obtained for drug level analysis ☐

Doctor's Signature:_____ Date: _____

Title: Study to investigate cardiovascular function in severe malaria

(short: CFiSM)

CASE RECORD FORM III

Technical examinations

1. ULTRASOUND

B-Mode:

- Any cardiac anomaly?		☐ yes	☐ no
→ please specify:			
- Pericardial effusion?		☐ yes	☐ no

Duplex:

- Shunt volume (left-right) detectable?		☐ yes	☐ no

M-Mode:

- Interventricular Septum diastolic ……	(IVSd)….		mm
- Interventricular Septum systolic ……..	(IVSs)…..		mm
- Left Ventricle Internal Diameter diastolic ……	(LVIDd)..		mm
- Left Ventricle Internal Diameter systolic ……	(LVIDs)..		mm
- Left Ventricular Posterior Wall diastolic ……..	(LVPWd).		mm
- Left Ventricular Posterior Wall systolic ……..	(LVPWs).		mm
- LV End Diastolic Volume ……	(EDV)…..		ml
- LV End Systolic Volume ……..	(ESV)…..		ml
- Ejection Fraction ……..	(EF)……		
- Stroke Volume ……..	(SV)……		ml
- % Fractional Shortening ……..	(%FS)….		

General findings:

- Spleen size		cm
- Pleura effusion		ml
- Liver diameter		cm
- Ascites	☐ yes	☐ no

2. ECG (day 1)

- Heart Rate……			/min
- Rhythm (check if sinus rhythm present)……	☐ SR	☐ Other	
when "***other***", please specify: (SAA-supraventr. abs. arrhythmia; VR-ventricular rhythm)……			
- Extrasystoles (svES-supraventricular ES, vES-verntricular)……..	☐ svES	☐ vES	
- QRS (time)……..			msec
- PR (time)……..			msec
- QT (time)……..			msec
- ST-Abnormality……..	☐ yes	☐ no	
- Other Abnormality (please specify)……..			

3. **Laboratory results**		
- Malaria parasite on blood film	☐ yes	☐ no
- if Yes parasite count	_____ /µl	
- WBC	_____ /µl	
- RBC	_____ /µl	

4. **ECG (day 2)**			
- Heart Rate……			/min
- Rhythm (check if sinus rhythm present)……	☐ SR	☐ Other	
when "***other***", please specify: (SAA-supraventr. abs. arrhythmia; VR-ventricular rhythm)……			
- Extrasystoles (svES-supraventricular ES, vES-verntricular)……	☐ svES	☐ vES	
- QRS (time)……			msec
- PR (time)……			msec
- QT (time)……			msec
- ST-Abnormality……	☐ yes	☐ no	
- Other Abnormality (please specify)……			

Doctor's Signature:_____ Date: _____

V1 - FOLLOW UP

FU

Title: Study to investigate cardiovascular function in severe malaria

(short: CFiSM)

CASE RECORD FORM I – FOLLOW UP

Clinical examination

Date (dd/mm/yy): / /

1. **Sex** ☐ male ☐ female

2. **Child's initials:**

3. **Vital signs**

- Blood Pressure	/	mmHg	- Respiratory Rate		/ min
- Pulse Rate		/ min	- Temperature		°C

Capillary Refill Time	☐ ≥ 3 sec.	☐ < 3 sec	Pupillary Response	☐ prompt	☐ delayed

4. **Clinical examination:**

- Coma present (BCS < 3, or GCS < 10) ……	☐ yes	☐ no
- Dehydration (delayed skin recall)	☐ yes	☐ no
- Acidotic breathing (Kussmaul etc.)……	☐ yes	☐ no
- Cool peripheries or weak / absent peripheral pulses……	☐ yes	☐ no
- Inability to sit upright or to suck (young children)……	☐ yes	☐ no
- Observed convulsions (at least two)……	☐ yes	☐ no
- Convulsions within last 24 hours (reported)……	☐ yes	☐ no
- Chest auscultation	☐ normal	☐ abnormal
- If abnormal specify		
- Abnormal bleeding from gum, nose, venipuncture……	☐ yes	☐ no
- Jaundice……	☐ yes	☐ no
- Haemoglobinuria……	☐ yes	☐ no
- Stiff neck……	☐ yes	☐ no
- Roseolae / Rash……	☐ yes	☐ no
- Severe diarrhoea……	☐ yes	☐ no
- Heart murmur	☐ yes	☐ no
- Acute abdomen	☐ yes	☐ no

- Other Clinical Observation...

Doctor's Signature:_____ Date: _____

CLINICAL EXAMINATION / FOLLOW UP

Title: Study to investigate cardiovascular function in severe malaria

(short: CFiSM)

CASE RECORD FORM II – FOLLOW UP

Laboratory Tests

1. Clinical Chemistry

iSTAT CG4+

pH……		
pCO_2……		mmHg
pO_2……..		mmHg
Base excess..		mmol/l
HCO_3……..		mmHg
Total CO_2….		mmol/l
O_2……..		%
Lactate…….		mmol/l

iSTAT CHEM8+

Natrium……		mmol/l
Kalium……		mmol/l
Chlorid……		mmol/l
Calcium, ion		mmol/l
Glucose……		mg/dl
BUN……		mg/dl
Creatinine…		mg/dl
Haematocrit		fraction
Haemoglobin		g/dl
Anion Gap...		mmol/l

iSTAT PT/INR

PT.....		sec
INR.....		

2. Cardiac markers

cTnI.....		ng/ml
BNP.....		pg/ml

3. EDTA-blood sample taken ☐

4. Urine sample obtained for drug level analysis ☐

Doctor's Signature:_____ Date: _____

Title: Study to investigate cardiovascular function in severe malaria

(short: CFiSM)

CASE RECORD FORM III – FOLLOW UP

Technical examinations

1. ULTRASOUND

B-Mode:

- Any cardiac anomaly?		☐ yes	☐ no
→ please specify:			
- Pericardial effusion?		☐ yes	☐ no

Duplex:

- Shunt volume (left-right) detectable?		☐ yes	☐ no

M-Mode:

- Interventricular Septum diastolic ……	(IVSd)….		mm
- Interventricular Septum systolic ……..	(IVSs)…..		mm
- Left Ventricle Internal Diameter diastolic ……	(LVIDd)..		mm
- Left Ventricle Internal Diameter systolic ……	(LVIDs)..		mm
- Left Ventricular Posterior Wall diastolic ……	(LVPWd).		mm
- Left Ventricular Posterior Wall systolic ……..	(LVPWs).		mm
- LV End Diastolic Volume ……	(EDV)…..		ml
- LV End Systolic Volume ……	(ESV)…..		ml
- Ejection Fraction ……..	(EF)……..		
- Stroke Volume ……..	(SV)……		ml
- % Fractional Shortening ……..	(%FS)….		

General findings:

- Spleen size		cm
- Pleura effusion		ml
- Liver diameter		cm
- Ascites	☐ yes	☐ no

2. ECG

- Heart Rate……			/min
- Rhythm (check if sinus rhythm present)……	☐ SR	☐ Other	
when "***other***", please specify: (SAA-supraventr. abs. arrhythmia; VR-ventricular rhythm)……			
- Extrasystoles (svES-supraventricular ES, vES-verntricular)……	☐ svES	☐ vES	
- QRS (time)……..			msec
- PQ (time)……			msec
- QT (time)……			msec
- ST-Abnormality……	☐ yes	☐ no	
- Other Abnormality (please specify)……..			

3. Laboratory results

- Malaria parasite on blood film	☐ yes	☐ no
- if Yes parasite count	_____ /µl	
- WBC	_____ /µl	
- RBC	_____ /µl	

11.3 Screening Form

Cardiovascular Function in Children With Severe Malaria (CFiSM) Screening Form

Name: _____ Screening Number: | A | | | |

Inclusion Criteria (please check if present)

Date:……..(dd/mm/yy)

☐ Age 12 to 108 months

Time: ……..… (GMT)

☐ Positive Malaria rapid test

☐ At least one WHO defining criteria for severe malaria (please check)

- ☐ Coma - Inability to localize painful stimulus
- ☐ Abnormal bleeding - Bleeding from gums, nose, gastrointestinal tract, venous puncture site
- ☐ Multiple convulsions - Two or more convulsions within the past 24 hours
- ☐ Prostration -Inability to sit upright unassisted or to suck (if child is too young to sit)
- ☐ Respiratory distress - Acidotic breathing: sustained nasal flaring, intercostals indrawing, deep breathing (Kussmaul)
- ☐ Jaundice - Examination of the sclera or mucosal surface of the mouth
- ☐ Pulmonary oedema - Radiological signs of Pulmonary oedema
- ☐ Circulatory Collapse - Cool peripheries, especially mid to proximal limb coolness, and weak or absent peripheral pulses
- ☐ Hemoglobinuria - Urine is dark red or black, and the urine analysis (dipstick) test is positive for haemoglobin/myoglobin + absence of microscopic haematuria
- ☐ Severe Anemia - Haemoglobin < 5 g/dl or haematocrit < 15%
- ☐ Acidosis - Plasma bicarbonate concentration <15 mmol/l or base excess >-10. Accompanying acidaemia = pH < 7.35 measured in capillary or arterial blood
- ☐ Renal impairment - Urine output <2 ml/kg BW/24h or plasma creatinine concentration above the age-related normal range, persisting after rehydration

☐ Hyperparasitiemia - > 250.000 asexual parasites / µl or > 5% infected red blood cells

☐ Hypocglycemia - Glucose level £ 2.2 mmol/l

☐ Hyperlactataemia - Lactate concentration > 5 mmol/l

Exclusion Criteria (please check if present)

☐ Not willing or able to comply with follow-up procedures

☐ Presence of reported or clinically suspected (congenital) heart defect

If all inclusion criteria are checked and NONE of the exclusion criteria is checked, recruit patient

Was patient recruited? ( ) Yes ( ) No

Study ID ☐☐☐☐

Signature:……..

Nach Ausfüllen der Screening Form wurde entschieden, ob ein Patient für die Studie geeignet war und alle Aufnahmekriterien erfüllt wurden.

Diese Screening Form beinhaltet als ersten Punkt den Namen und das Alter. Auf der Screening Form wurde Aufnahmezeitpunkt und Datum festgehalten. Nach positivem Malariaschnelltest musste ein weiteres Kriterium für die Malaria tropica nach der Weltgesundheitsorganisation (WHO) zutreffen. Stimmten die Sorgeberechtigten einer Studienteilnahme zu, war der Patient positiv gescreent und konnte rekrutiert werden.

11.4 Einverständniserklärung

Hierbei handelt es sich um einen vierseitigen Aufklärungsbogen zur Erläuterung der Studie für die Sorgeberechtigten in englischer Sprache, bzw. bei fehlenden Englischkenntnissen steht ein Dolmetscher zur Verfügung. Der Bogen beinhaltet die Namen und Institute der Verantwortlichen der Studie. Es werden der Grund der Studie erläutert und die Untersuchungen, die an dem Kind durchgeführt werden sollen. Auch Vor- und Nachteile für den Patienten werden erläutert. Wert gelegt wurde auf den Hinweis, dass die Studienteilnahme freiwillig ist und es kein Nachteil für das Kind ist, wenn die Sorgeberechtigten sich dagegen entscheiden. Die Teilnahme kann jederzeit abgebrochen werden.
Als Abschluss der Einverständniserklärung wurden Ort, Datum und Unterschrift bzw. ein Fingerabdruck bei Analphabetismus festgehalten. Dieses Formular wurde kopiert, eines dem Sorgeberechtigten ausgehändigt und das andere separat in der Patientenakte aufbewahrt.

INFORMED CONSENT FORM

INFORMATION SHEET

Title of the research:
Cardiovascular function in children with severe malaria

Name(s) and affiliation(s) of researcher(s) of applicant(s):

This study is being conducted by

Dr. Samuel Blay Nguah, Department of Paediatrics, Komfo Anokye Teaching Hospital (KATH), Kumasi, Ghana

Dr. Jakob Cramer, University Medical Center Hamburg-Eppendorf, Germany and Bernhard-Nocht-Institute for Tropical Medicine, Hamburg, Germany and

Dr. Torsten Feldt, Bernhard-Nocht-Institute for Tropical Medicine and Kumasi Centre for Collaborative Research (KCCR), Kumasi, Ghana

Purpose(s) of research:
This research is being done to investigate the heart and blood circulatory function in children suffering from severe malaria in the Komfo Anokye Teaching Hospital, in Kumasi. By obtaining several clinical, functional and laboratory information we intend to better understand the impact of malaria on the heart function and blood circulation. These data are intended to help us improve treatment options in this severe disease.

Procedure of the research, what shall be required of each participant and approximate total number of participants that would be involved in the research:

In all 200 children including yours will be involved in this study by the time it comes to an end. To do this we will examine your child and perform some analyses from blood. Besides routine analysis like checking for malaria parasites and blood chemistry parameters we will obtain a limited amount (approx. 2ml) for clinical chemistry analyses specifically related to the cardiovascular system. We will also test the cardiac function of your child by performing an ultrasound analysis as well as an ECG which are painless to your child. In addition, a method to measure the heart function will be applied if your child is able to follow necessary instructions (generally this will apply to children above 36 months of age in appropriate clinical condition). Your child will breathe inert gases that allow us to calculate respective parameters. All investigations do not interact with your child's body and will not influence or affect your child clinical condition in any way. Your child will be treated according to your national guidelines and we will undertake every possible effort to help and cure your sick child. About six weeks after your child is recruited into the study you will be required to bring your child back for the entire test we are going to do now. Remember by then the child may be well but you will be required to come back for the test whether you child is well or not. When coming back for review, transportation for your coming and going shall be provided for you free of charge. You shall also be given monetary compensations for your time taken off work.

Risk(s) & Benefits:

Your child will benefit from participating in this study because she or he will be treated in one of the leading hospitals in Ghana and according to standard guidelines. In addition, our analyses may help diagnose additional problems or complications and, thus, support the treatment of your child.

There will be discomfort to your child when a blood sample is being taken but this will be done by a very experienced doctor who will make sure the pain caused to the child will be as small as possible. Also some blood will be taken from your child but the small amount ensures that the effect on the child is almost non-existent.

Benefit(s):

Information generated from this study will throw more light on a much neglected area of the acute management of malaria. This could further lead to better management of patients with severe malaria and so reduce further deaths related malaria. It could also serve as a basis for further study into the role of cardiovascular support in patients with severe malaria

Confidentiality:

To make sure no one knows about the information you are providing or we are getting from your child, all information and data concerning your child including results of blood

tests and functional analyses will be treated confidentially and all data will be handled with anonymous identification numbers. They shall be kept under lock and key and will be only accessible to the head of this study team.

Voluntariness:

Your participation is completely voluntary. We do, however, ask you to come back for scheduled examinations on day 42 for further analyses if you do decide to participate. These examinations will ensure that your child recovered completely. You will be offered an appropriate compensation for this additional effort. If you do not want your child/children to participate in this study, she or he will still receive treatment. You will not experience any disadvantages if you decide not to take part in the study. You may withdraw your consent at any time without giving a reason.

Alternatives to participation:

If you decide not to participate in this study your child will be treated with the standard drugs that all children with severe malaria receive. No treatment, investigations or attention will be withheld from him or her because you decided not to participate in this study.

Consequences of participants' decision to withdraw from research and procedure for orderly termination of participation:

You can also choose to withdraw from the research at anytime. Please note that some of the information that has been obtained about you before you chose to withdraw may have been modified or used in reports and publications. These cannot be removed anymore. However the researchers promise to make good faith effort to comply with your wishes as much as is practicable

CONSENT FORM

Statement of person obtaining informed consent:

I have fully explained this research to _____ and have given sufficient information, including about risks and benefits, to make an informed decision.

DATE: _____ SIGNATURE: _____

NAME: _____

Statement of person giving consent:

I have read the description of the research or have had it translated into language I understand. I have also talked it over with the interviewer to my satisfaction. I understand that my participation is voluntary. I know enough about the purpose, methods, risks and benefits of the research study to judge that I want to take part in it. I understand that I may freely stop being part of this study at any time. I have received a copy of this consent form and additional information sheet to keep for myself.

DATE: _____ SIGNATURE/THUMB PRINT: _____

WITNESS' SIGNATURE (if applicable): _____

WITNESS' NAME (if applicable): _____

ADDRESS: ……

……

……

PHONE NUMBER(S)……...

11.5 Ringbucheinlage mit Daten

--- CFiSM ---

SOP 1.2/ SCREENING AND EMROLMENT LOG

PI: Dr. Samuel Blay Nguah, KATH

Screen#	Name	DOB	Date Enrolment	Study ID	If screening failure provide reason

Page: ___/___

Dieses Ringbuch diente der Übersicht der Patientenaufnahme und der Nachuntersuchungen. Hier sind tabellarisch enthalten der Aufnahmetag, der Name des Patienten, wann der Patient in die Studie eingeschlossen wurde, die ID-Nummer, das voraussichtliche Nachuntersuchungsdatum und das Datum an dem die Erhebung der Patientendaten vollständig (dazu gehörend auch die elektronische Absicherung) abgeschlossen wurde. Nötig war dieses Ringbuch vor allem, weil so viele Personen vor Ort an der Studie mitarbeiteten und die Gefahr bestand Daten zu verlieren.

11.6 Checkliste für den Studienarzt

Checklist for the study physician (CFISM)

New Patient Day 1:

- Get informed consent (before taking blood)
- Complete screening form
- If appropriate age and a second criteria: set iv-line
- first drop of blood for the malaria rapid test
- taking the samples for the houseofficers
- only if the malaria rapid test is positive, take the samples for our study: heparine blood (20 drops into the green tube), EDTA blood (minimum half full- red tube)
- blood draw is now finished

→ all things above should maximum take 5- 10 min after admission

- the treatments by houseofficers has now priority and shall not be delayed

- after Treatment is initiated:
- fix the urine bag
- get the written consent form from the parents
- clinical examination, like it is written in the clinical examination according to the study forms, very important: name, age, weight, length, temperature, blood pressure
- write ECG
- assure the urine sample is taken (fridge at the PEU)
- → at the end of the day check all the folders for completeness

Day 2:

- double check, completeness of day one
- write ECG (24h after first one)

Follow- Up (after 6 weeks):

- draw blood samples
- take again heparine blood and EDTA blood (see above)
- clinical examination (see on the folder), again weight, length and temperature
- ECG

11.7 Formular für die Malariadiagnostik

ADMISSION **Date:** __/___/__ (d/m/y) **Patient ID:**

Malaria Parasite seen:	**No** ☐ **Yes** ☐
Parasite Species: (If other specify)	**Pl. falciparum** **Yes** ☐ _____

Full blood count:	_____ **WBC/ µl**
	_____ **RBC/ µl**
Parasite load (MPS/µl blood):	_____ **MPS / µl**

Attach Print (Follow-up)

FOLLOW UP: **Date:** __/___/__ (d/m/y)

Malaria Parasite seen:	**No** ☐ **Yes** ☐
Parasite Species: (If other specify)	**Pl. falciparum** **Yes** ☐ _____

Full blood count:	_____ **WBC/ µl**
	_____ **RBC/ µl**
Parasite load (MPS/µl blood):	_____ **MPS / µl**

Attach Print (Follow-up)

11.8 Standardvorgehensweisen, Standard Operating Procedures (SOPs)

Klinische Untersuchung

CLINICAL EXAMINATION

MATERIAL:
1. Case record form I

PROCEDURE

1. Clinical / physical examination

- Blood Pressure
- Pulse Rate
- Respiratory Rate
- Temperature
- Capillary Refill Time
- Pupillary Response

- Coma presence (BCS < 3, or GCS < 10)
- Acidotic breathing (Kussmaul etc.)
- Cool peripheries or weak / absent peripheral pulses
- Inability to sit upright or to suck (young children)
- Observed convulsions
- Reported convulsions within last 24 hours
- Pulmonary oedema (clinically)
- Abnormal bleeding from gum, nose, i.v. puncture
- Jaundice
- Haemoglobinuria
- Stiff neck
- Roseolae / Rash
- Severe diarrhoea
- Other Clinical Observation

- Weight (kg)
- Length (cm)

2. Record results in case record form I

Blutabnahme

Blood sampling

PI: Dr. Samuel Blay Nguah, KATH

A) Preparation

1. Prepare EDTA tube by writing patient ID and date on sticker, attach sticker on tube, secure sticker on tube by wrapping tape round tube and sticker.
2. Prepare needle, disinfection material. Wear gloves.

B) Venipuncture

1. Search for appropriate vessel (preferably V. brachialis) and perform appropriate cleaning and disinfection of the site.
2. Use butterfly needle for blood draw.

C) Blood sampling

1. Pre-prepare Attach EDTA tube on adapter or, in case of slow blood flow, detach top of EDTA tube and fill drip by drip. Shake filled tube gently.
2. Take EDTA tube to prepare XXX

Separate into two EDTA tubes right away after venipuncture, fill two samples from venipuncture, perform all subsequent measurements from same sample???

EDTA tube will be needed for

- back up-slides???
- Parasitology
- Blood count
- BNP-measurement
- Study sample storage

D) Study sample preparation and storage

1. Put EDTA into frigerator (2-8°C) until further processing.
2. Centrifuge EDTA tube at 2000 U/min for 10 min
3. Obtain plasma and pipette into pre-labelled cryo-tube. Cryo-tube has to be pre-labelled by writing patient ID and date on cryo tag that is additionally fixed on tube by wrapping around tape.
4. Put tube into cryo-box that has been appropriately labelled with study name, Day 0 (indicating blood sampling upon hospitalisation) and patient numbers to be stored in that box (e.g. patient# 1-100).
5. Store box at -20°C.

iSTAT- Messungen

I-STAT Testing

MATERIAL

1. I-STAT Tester
2. Cartridges (CG4+, CHEM8+, PT/INR, cTnI, BNP)
3. Butterfly syringe or needle
4. Tubes (Heparin 4ml, EDTA 1ml)

PROCEDURE

1) Preparation of iSTAT device

a. Turn on iSTAT device
b. Press"2" to choose selection of new cartridge
c. Enter user ID
d. Enter study patient ID

2) Perform measurement

a. Take cartridge CG4+ out of cover. Please hold on sides only – do not touch on top. Keep cover of each cartridge to scan barcode before each measurement.
b. Fill required volume into cartridge CG4+ until completion mark has been reached, use only venouse blood, directly from the vene.
c. Close cartridge by pushing the side leach (do not put on top of leach). Put cartridge into slot until cartridge is locked.
d. Fill heparinized tube with about 20 drops of blood.
e. Fill EDTA tube minimum half full.
f. Fill with the Pipette step by step the other cartridges:
i. CHEM 8+ → with heparin blood
ii. cTnI → with heparin blood
iii. BNP → with EDTA blood
iv. PT/ INR → directly from finger prick
g. Fill required volume into each cartridge until completion mark has been reached. Use remaining blood volume in sampling needle/tube to fill cartridges.
h. Close cartridge by pushing the side leach (do not push on top of leach). Put cartridge into slot until cartridge is locked. For cTnI- and BNP- cartridge slide
i. When measurement for first cartridge is completed (time requirement see table 1 below), remove cartridge and promptly fill next cartridge and enter of the row until all measurements have been completed

3) Data capture

a. After the entire set of measurements has been completed, enter results into patient's file immediately.
b. Next, print results and attach to the patient's file. Point IR-window of analyzer towards IR-window of printer until print is completed.
c. At the end of the day, make a copy of each patient's parameter printout and include in patient's file.

Table 1

Order#	**Cartridge**	**Required blood volume**	**Blood sample**	**Approx. measurement time**
1	CG4+		FB or heparin blood	2 min
2	CHEM8+		FB or heparin blood	2 min
3	cTnI		FB or heparin blood	10 min
4	BNP		EDTA	10 min
5	PT/ INR	20-45µl	FB	2 min

FB = Full blood;

Malaria diagnostic

Procedure: Preparing thick and thin films for malaria diagnostic

A) Preparation:

1. Mix 1 part Titrisol-Buffer and 9 parts water: *Titrisol-Buffer-Solution*
2. Mix 1 part Giemsa-Solution and 9 parts Titrisol-Buffer-Solution: *Staining Solution*
3. Filtrate Staining Solution (new solution every day!)
4. Staining solution is now ready for use

B) Preparing thick films:

1. Put a drop of EDTA-blood on a slide (approx. 15µl) and carefully spread it on the slide (are of 1 cm^2) and label the slide
2. Let slide air-dry
3. Put Staining Solution on slide
4. Allow slide to stain for 40 minutes
5. Wash slide carefully with Titrisol-Buffer-Solution
6. Let slide dry
7. Slide is now ready for microscopy

C) Preparing thin films

1. Put a small drop of EDTA-blood on slide and label the slide
2. Smooth out the drop: you get a thin film
3. Let slide air-dry
4. Fixate slide in pure ethanol for at least 1 minute
5. Let slide air-dry
6. Put Staining Solution on slide
7. Allow slide to stain for 30 minutes
8. Wash slide carefully with Titriso-Buffer-Solution
9. Let slide dry. Slide is then ready for microscopy

D) Microscopy: thick film

1. Put a small drop of microscopy oil on the slide (at the marge of the drop of blood)
2. Use 100x magnification
3. Count malaria parasites per 200 leukocytes (if negative, count per 500 leukocytes)
4. Record and report the result
5. Store slide approximately (slide box) after carefully removing the oil

E) Microscopy: thin film

1. Put a small drop of microscopy oil on the slide (where smear is least dense)
2. Use 100x magnification
3. Look for species other than *Plasmodium falciparum* in at least 100 high power fields
4. Record and report the result
5. Store slide approximately (slide box) after carefully removing the oil

F) Plasma preparation and storage

6. Put EDTA into frigerator (2-8°C) until further processing.
7. Centrifuge EDTA tube at 2000 U/min for 10 min
8. Obtain plasma and pipette into pre-labelled cryo-tube. Cryo-tube has to be pre-labelled by writing patient ID and date on cryo tag that is additionally fixed on tube by wrapping around tape.
9. Put tube into cryo-box that has been appropriately labelled with study name, Day 0 (indicating blood sampling upon hospitalisation) and patient numbers to be stored in that box (e.g. patient# 1-100).
10. Store box at -20°C.

Behandlung der Malaria tropica

- STANDARDISED TREATMENT -

Basic treatment:

→ **Treatment of malaria infection:** Intramuscular quinine (20 mg/kg initially followed by 10 mg/kg 12 hourly). When patient is able to feed, continue quinine orally (XXX same dosage? XXX).

Optional treatment: according to individual course of disease

→ **Supportive treatment:** volume substitution etc.

→ **Treatment of seizures:** diazepam (0.5 mg/kg rectal), **phenobarbital 10- 15 mg/kg**

→ **Treatment of hypoglycemia:** slow infusion of 10% dextrose solution (5 ml/kg)

→ **Treatment of severe anaemia (Hb < 5 g/dl):** transfusion of packed red blood cells (20 ml/kg over 4 hours).

→**Treatment of fever (XXX Temp > 38.0°C ??? XXX):** Paracetamol (60 mg/kg/day as suppositories)

DR BLAY

Urinproben

URINE SAMPLING

MATERIAL:

1. Urine bag
2. Urine container
3. Maxi-Pasteurpipette (6.0 ml)

PROCEDURE:

1. Obtain urine sample

a. Attach an urine bag and obtain sample
b. Fill urine container (6.0 ml) using the Maxi-Pasteurpipette
c. Attach patient label to the container
d. Store sample in the freezer (in Dr Blay's office)

2. Complete case record form II

EKG

ELECTROCARDIOGRAPY (ECG)

MATERIAL:
1. Case record form III (Part 2 and 4)
2. ECG machine

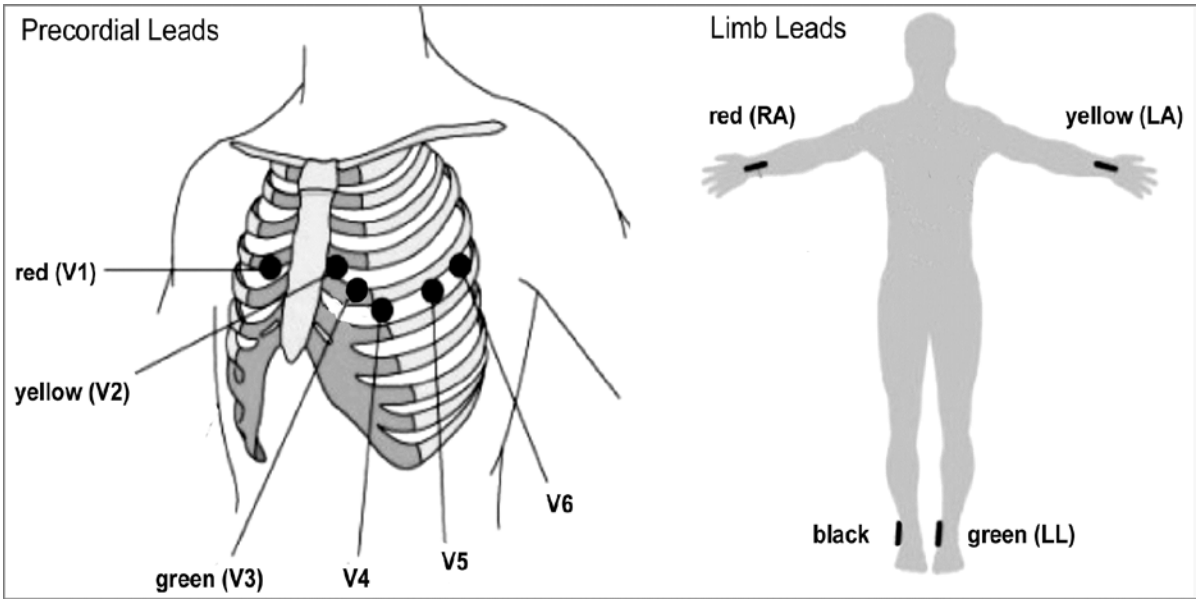
PROCEDURE:

1. Set ECG program mode:
a. Speed: 50 mm/sec
b. Amplitude: 1mV/cm
c. Filter: off / on

2. Attach precordial leads and limb leads (see image):
a. V1-V2: 4th intercostal recessions, parasternal
b. V3: in between V2 and V4
c. V4: 5th intercostal recession, medio clavicular
d. V5 5th intercostal recession, anterior axilliary line
e. V6 5th intercostal recession, medio axilliary line
f. Limb leads: one lead to each limb (*note:* the first three colours correspond with the traffic light: red, yellow, green)

3. Record ECG:
a. Make sure the patient does not move while recording
b. Store the ECG print in the patient file

4. Complete case record form III part 2 (day one) and 4 (day two)



Patientenaufnahme

RECRUITMENT

MATERIAL:

1. Screening form
2. Screening log
3. Informed consent form

PROCEDURE:

1. Fill in patient data in the screening log

a. Please make sure that the patient log is always stored safely

2. Take informed consent

a. Especially inform the parents/legal guardians about:
   i. The goal of the study and the procedures
   ii. The Follow-up after 42 days
   iii. The fact that patients are free to withdraw consent in part or in full at any time during hospitalization without giving reasons
   iv. The benefits and disadvantages of participation
   v. The incentives
b. Hand out Patient ID card to the patient
c. Record address and phone number for follow up!

11.9 Datenbank

Demographic, clinical and biochemical characteristics in children admitted with severe malaria (day 0; n = 183) versus follow-up (day 42, ±3; n = 135).

	Day 0 (admission)	**Day 42, ±3 (follow-up)**	***P*-value***
Age (median, ±IR)	36 (±26.5)	n.a.	-
Male sex, (%)	106/183 (58%)	n.a.	-
Temperature, °C	37.4 (±1.2)	36.2 (±.6)	***<.001***
GMPD, /µl	33.804 (±15.6)	0.6 (±9)	***<.001***
Respiratory rate, /min	45.5 (13.8)	31.3 (7.4)	***<.001***
pH	7.42 (±.1)	7.43 (±.1)	*.2*
pO_2, mmHg	25.7 (±6.0)	31.2 (±6.5)	***<.001***
Hb, g/l	7.4 (±2.9)	11.1 (±1.5)	***<.001***
Leukocytes, /µl	12.212 (±8.437)	9.090 (±3.753)	***<.001***
Lactate, mmol/l	5.2 (±4.2)	2.2 (±1.2)	***<.001***
Glucose, mg/dl	108.3 (±49.8)	94.0 (±18.2)	***<.001***
Creatinine, mg/dl	.7 (±1.1)	.4 (±.1)	***.001***

Mean (±SD) if not indicated otherwise

IR = interquartile range; n.a. = not applicable; GMPD = geometric mean parasite density; Hb = hemoglobin; SD = standard deviation.

*comparison between day 0 and day 42 (paired Student t-test or rank sum tests, as applicable)

Cardiac function parameters in children admitted with severe malaria (day 0) versus follow-up (day 42, ±3), n = 121.

	Day 0 (admission)	**Day 42, ±3 days (follow-up)**	***P*-value***
Heart rate, /min	141 (±22)	106 (±19)	***<.001***
MAP, mmHg	64.3 (±12)	73.3 (±8)	***<.001***
SAP, mm Hg	93.5 (±13)	90.8 (±10)	***.005***
SI, ml/m^2	40.8 (±10.5)	29.1 (±7.6)	***<.001***
CI, l/min/m^2	5.8 (±1.8)	4.7 (±1.4)	***<.001***
LV-ESVI, ml/m^2	21.7 (±7.1)	22.0 (±7.4)	*.68*
LV-EDDI, mm/m^2	53.15 (±.9)	53.20 (±.8)	***.028***
Ejection fraction	.66 (±.06)	0.67 (±.04)	***.008***
Fractional shortening	.35 (±.04)	0.36 (±.03)	***.004***

Mean (±SD)

MAP = mean arterial blood pressure; SAP = systolic arterial blood pressure; SI = stroke index; CI = cardiac index; LV-ESVI = left ventricular end-systolic volume index; LV-EDDI = Left ventricular end-diastolic diameter index; SD = standard deviation.

*Comparison between day 0 and day 42 (paired Student t-test or rank sum tests, as applicable)

Left ventricular end-diastolic diameter index, fractional shortening, and cardiac index in children with severe malaria stratified for severe malaria-defining signs and symptoms [WHO 2000. The clinical signs *abnormal bleeding* and *circulatory collapse* were not included as only one child showed abnormal bleeding and none presented with circulatory collapse (systolic blood pressure <80 mmHg).

		CI, l/min/m^2			**LV-EDDI, mm/m^2**			**FS**		
Clinical signs	**No. (%)**	**w/ (mean)**	**w/o (mean)**	***P*-value ***	**w/ (mean)**	**w/o (mean)**	***P*-value ***	**w/ (mean)**	**w/o (mean)**	***P*-value ***
Impaired consciousness / coma	51/183 (27.9)	5.6	5.8	*.44*	51.5	53.8	*.13*	.35	.35	*.79*
Prostration (inability to sit upright / breastfeed)	161/183 (88)	5.7	6.4	*.07*	52.7	56.3	*.09*	.35	.34	*.42*
Multiple convulsions / 24h	98/183 (54)	5.7	5.9	*.45*	53.3	52.9	*.76*	.35	.35	*.51*
Respiratory distress	23/183 (13)	6.0	5.7	*.44*	55.8	52.8	*.16*	.34	.35	*.33*
Jaundice	56/183 (31)	5.8	5.7	*.88*	52.4	53.6	*.26*	.34	.35	*.19*

Hemoglobinuria	38/180 (21)	5.7	5.8	*.70*	51.7	53.6	*.26*	.35	.35	*.65*
Laboratory sings										
Hypoglycemia (<40 mg/dl)	10/183 (5)	5.8	5.8	*.93*	57.1	52.9	*.18*	.33	.35	*.16*
Metabolic acidosis (base excess < -8 mmol/l)	53/169 (31)	5.8	5.7	*.89*	53.5	53.0	*.72*	.34	.35	*.19*
Severe anemia (Hb <5 g/dl)	41/170 (24)	6.5	5.4	***<.001***	57.0	51.5	***<.001***	.35	.35	*.93*
Hyperparasitemia (<250,000/µl)	53/180 (29)	5.5	5.9	*.24*	51.6	53.8	*.15*	.34	.35	*.18*
Hyperlactatemia (>5 mmol/l)	64/178 (36)	5.8	5.7	*.63*	52.9	53.2	*.82*	.34	.35	***.02***
Renal impairment (creatinine >3 mg/dl)	3/169 (2)	4.3	5.7	*.17*	44.0	53.0	*.09*	.32	.35	*.30*
Additional parameters										
Gender (male)	105/181 (58)	6.2	5.2	***<.001***	54.6	51.6	***.03***	.35	.35	*.88*
Capillary refill time ≥3 sec	17/183 (9)	5.8	5.7	*.86*	53.2	53.1	*.98*	.35	.35	*1.0*
Malnutrition	31/181 (17)	6.1	5.7	*.27*	57.4	52.2	***.005***	.35	.35	*.91*

LV-EDDI = left ventricular end-diastolic diameter index; FS = fractional shortening; CI = cardiac index, Hb = hemoglobin.

*Unpaired Student t-test

Clinical, laboratory and cardiac function parameters in severe malaria-children with and without metabolic acidosis upon admission (day 0).

	Non-acidotic (n = 119)	**Metabolic acidosis[$] (n = 55)**	***P*-value***
GMPD, /µl	18,309 (±15.7)	106,320 (±15.7)	***<.0001***
Hb, g/l	7.4 (±2.9)	7.3 (±3.0)	*.8*
Lactate, mmol/l	3.3 (±1.6)	9.2 (±5.1)	***<.0001***
Glucose, mg/dl	113.3 (±35.0)	95.8 (±68.6)	***.03***
Creatinine, mg/dl	.7 (±.9)	.8 (±1.4)	*.6*
Heart rate, /min	137 (±22)	147 (±23)	***.006***
MAP, mmHg	64 (±14)	64 (±16)	*.83*
SAP, mm Hg	94 (±14)	91 (±12)	*.2*
SI, ml/m^2	41.9 (±10.1)	39.1 (±11.2)	*.12*
CI, l/min/m^2	5.7 (±1.7)	5.8 (±1.9)	*.89*
LV-ESVI, ml/m^2	22.0 (±7.3)	21.3 (±6.8)	*.55*
LV-EDDI, mm/m^2	53.0 (±8.4)	53.5 (±10.1)	*.72*
Ejection fraction, %	.66 (±.06)	.65 (±.06)	*.30*
Fractional shortening, %	.35 (±.04)	.34 (±.04)	*.19*
BNP, mg/ml (median, IR)	57.0 (135.8)	52.0 (64.5)	*.58*
TnI, ng/ml	.02 (±.08)	.06 (±.2)	*.06*

Mean (±SD) unless indicated differently

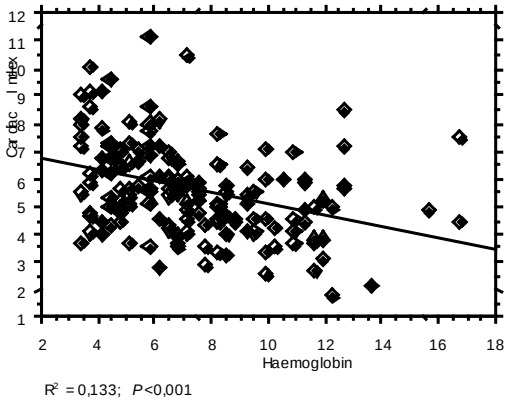
GMPD = geometric mean parasite density; Hb = hemoglobin; MAP = mean arterial blood pressure; SAP = systolic arterial blood pressure; SI = stroke index; CI = cardiac index; LV-ESVI = left ventricular end-systolic volume index; LV-EDDI = Left ventricular end-diastolic diameter index; BNP = brain natriuretic peptide; TnI = troponin I; SD = standard deviation; IR = interquartile range.

[$] Metabolic acidosis defined as base excess < -8 mmol/l.

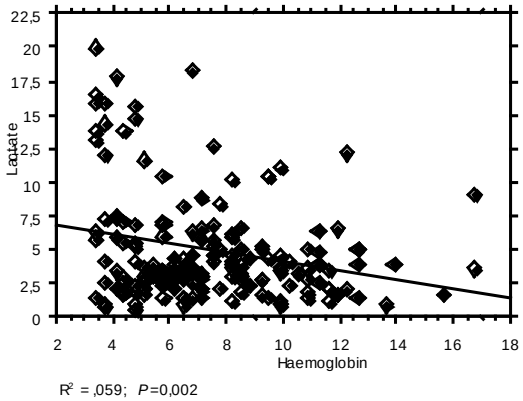
*Comparison between non-acidotic and acidotic cases (unpaired Student t-test after log-transformation for parameters with non-parametric distribution)

Regression analysis between haemoglobin levels and A) cardiac index, and B) lactate upon hospitalization (day 0).

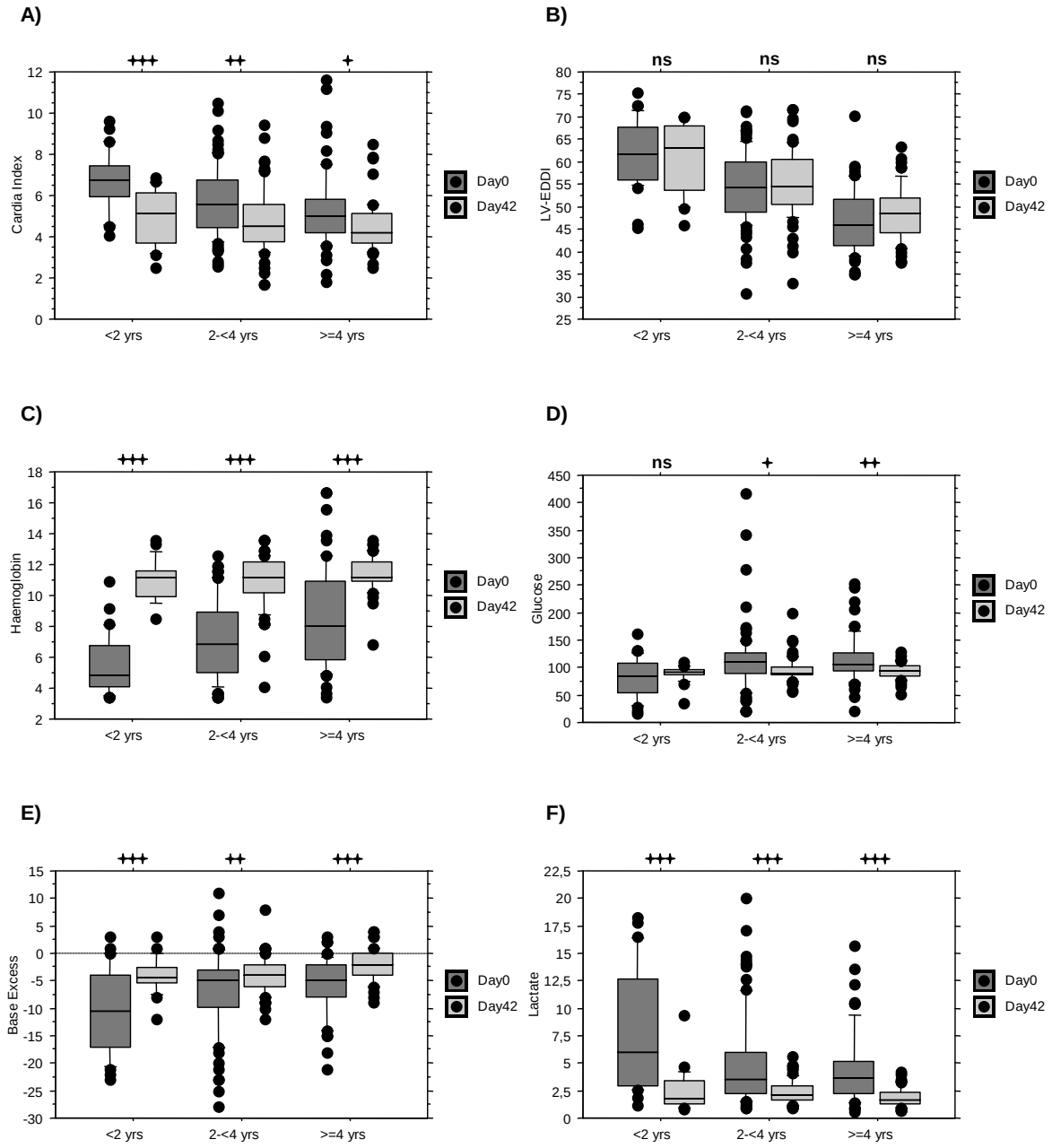
A)



B)



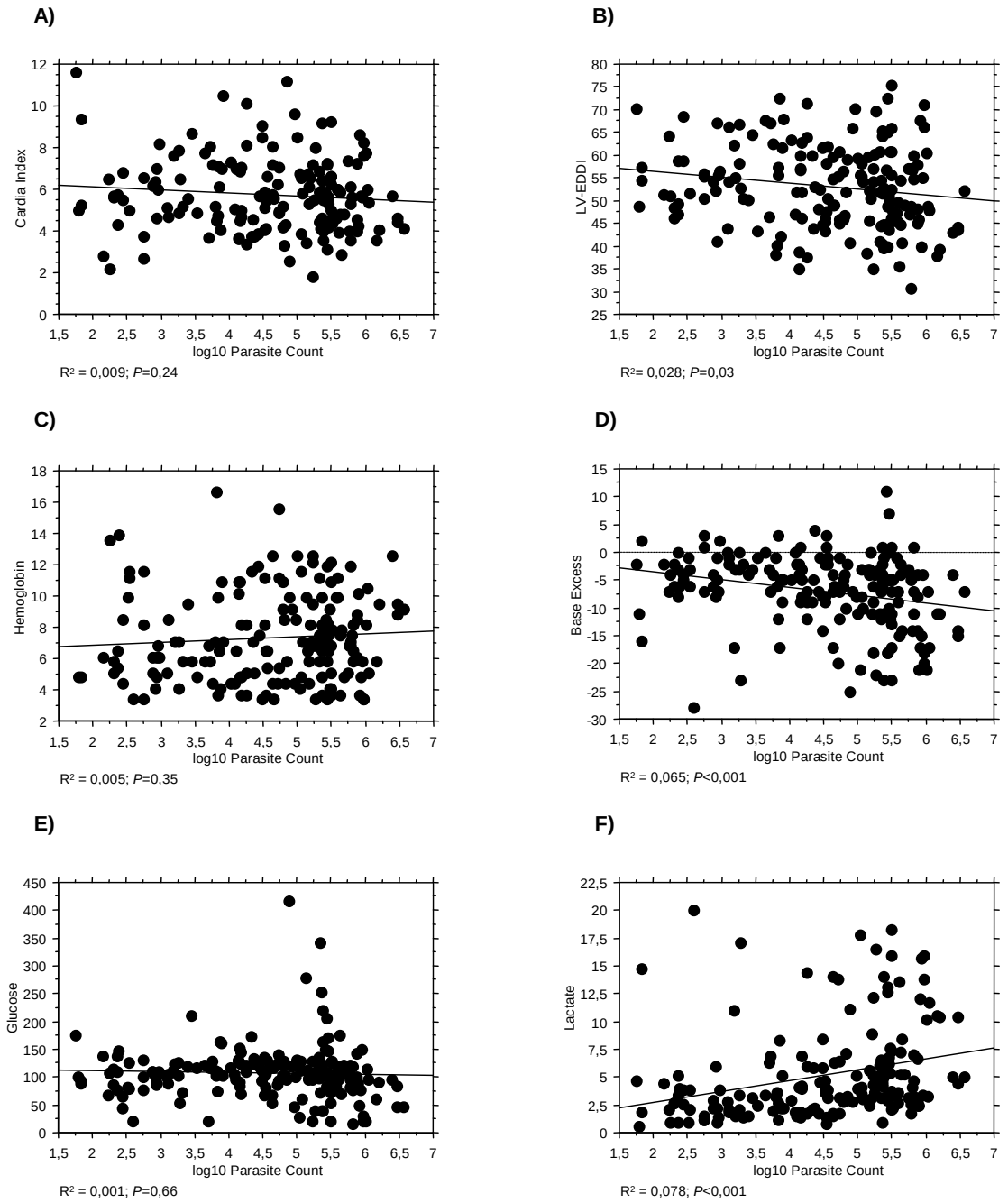
Cardiac function and biochemical measurements stratified by age groups (<2 years; 2 to <4 years; ≥4 years) upon hospitalisation versus day 42: A) cardiac index, B) left ventricular end-diastolic diameter index (LV-EDDI), C) hemoglobin, D) glucose, E) base excess, F) lactate.



Box plots displaying median as well as interquartile range.

Age groups compared by Student t-test, significance level: ✧ = $P < .05$; ✧✧ = $P < .005$; ✧✧✧ = $P < .0005$; ns = not significant

Regression analysis between parasite levels (log_{10}-transformed) and A) cardiac index, B) left ventricular end-diastolic diameter index (LV-EDDI), C) hemoglobin, D) base excess, E) glucose, F) lactate upon hospitalization (day 0).



12 Danksagung

Bedanken möchte ich mich besonders bei den Kindern, die mich ihren Krankheitsverlauf beobachten und alle Untersuchungen über sich ergehen ließen.
Außerdem danke ich den Sorgeberechtigten für Ihre Hilfsbereitschaft und Offenheit.

Herrn Prof. Dr. Burchard und Herrn Dr. Cramer danke ich für ihre hilfreichen Ratschläge und ihre freundliche Unterstützung bei der Bearbeitung der vorliegenden Arbeit.

Den Ärzten und dem Pflegepersonal auf der PEU, sowie den Mitarbeitern des Malaria Labors im KATH, danke ich dafür, dass sie mir bei der Durchführung der Studie stets zur Seite standen.

Frau Parisa Merfahr danke ich für Ihre statistische Unterstützung, den Mitarbeitern der CFiSM-Studie Herrn Dr. Ansong, Herrn Dr. Samuel BlayNguah, Herrn Dr. Frank Hünger und Herrn Dr. Torsten Feldt, sowie meinen Eltern danke ich für wertvolle Betreuung, Hilfe bei Unsicherheiten, und Korrekturlesen.

13 Eidesstattliche Versicherung

Ich versichere ausdrücklich, dass ich die Arbeit selbständig und ohne fremde Hilfe verfasst, andere als die von mir angegebenen Quellen und Hilfsmittel nicht benutzt und die aus den benutzten Werken wörtlich oder inhaltlich entnommenen Stellen einzeln nach Ausgabe (Auflage und Jahr des Erscheinens), Band und Seite des benutzten Werkes kenntlich gemacht habe.
Ferner versichere ich, dass ich die Dissertation bisher nicht einem Fachvertreter an einer anderen Hochschule zur Überprüfung vorgelegt oder mich anderweitig um Zulassung zur Promotion beworben habe.
Ich erkläre mich einverstanden, dass meine Dissertation vom Dekanat der Medizinischen Fakultät mit einer gängigen Software zur Erkennung von Plagiaten überprüft werden kann.

Unterschrift: S. Hoffmann