

Aus der Abteilung für tropenmedizinische Grundlagenforschung des
Bernhard-Nocht-Instituts für Tropenmedizin

Prof. Dr. Rolf D. Horstmann

**Beziehung zwischen Malariaparasitämien
und Krankheitsepisoden bei Kindern in einem
Malariaendemiegebiet in Ghana**

Dissertation

zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin

dem Fachbereich Medizin der Universität Hamburg

vorgelegt von

Julia Lenzen

aus Homburg/Saar

Hamburg 2007

Angenommen von der Medizinischen Fakultät der Universität Hamburg am
20.06.2007.

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der Universität
Hamburg.

Prüfungsausschuss, der Vorsitzende: Prof. Dr. Rolf D. Horstmann

Prüfungsausschuss, 2. Gutachter: Prof. Dr. G.-D. Burchard

Prüfungsausschuss, 3. Gutachter: Prof. Dr. H.-J. Stellbrink

Inhaltsverzeichnis

1 Einleitung	1
1.1 Allgemeines	1
1.2 Zyklus von <i>Plasmodium falciparum</i>	1
1.3 Pathophysiologie der Malaria	2
1.4 Klinisches Bild der Malariainfektion und Problem der Diagnosestellung der leichten Malaria	3
1.5 Genetische Grundlagen	6
1.6 Entwicklung von Teilimmunität	6
1.7 Ziel der vorliegenden Arbeit	8
2 Material und Methoden	9
2.1 Studiengebiet	9
2.2 Studienteilnehmer	9
2.3 Durchführung und Art der Messungen	10
2.4 Bestimmung der Parasitendichte	10
2.5 Transformation der Parasitenwerte	11
2.6 Definition der leichten klinischen Malaria	11
2.7 Definition der asymptomatischen Parasitämie	11
2.8 Unterdrückung von Werten	12
2.9 Berechnung der individuellen Parameter	12
2.10 Gebrauch von Moskitonetzen und Moskitogittern	13
2.11 Statistische Methoden	13
2.12 Dateneingabe	13
3 Ergebnisse	14
3.1 Beschreibung der Kohorte	14
3.2 Anstieg der Parasitendichte zur Malariaepisode	16
3.3 Einfluss des Alters	17
3.3.1 Malariometrische Parameter im Altersverlauf	17
3.3.2 Periodenprävalenz der Malaria	19
3.3.3 Bildung von Altersgruppen	20
3.4 Dauer zwischen Nachweis einer Parasitämie und Diagnose einer Malariaepisode	21

3.5 Beziehung zwischen Malariaepisoden und Parametern der Parasitämie	22
3.5.1 Beziehung zwischen dem Auftreten mindestens einer Malariaepisode und Parametern der Parasitämie	22
3.5.2 Beziehung zwischen der Häufigkeit von Malariaepisoden und verschiedenen Parametern der Parasitämie	23
3.6 Nähere Charakterisierung der Varianz	24
4 Diskussion	25
4.1 Kohorte	25
4.2 Parasitendichte bei Malaria	28
4.3 Einfluss des Alters	28
4.3.1 Beziehung zwischen Parasitämie und Alter	29
4.3.2 Beziehung zwischen Parasitendichte und Alter	29
4.3.3 Beziehung zwischen Varianz der Parasitendichte und Alter	30
4.3.4 Beziehung zwischen Krankheitsepisoden und Alter	31
4.3.5 Beziehung zwischen einer pyrogenen Schwelle und Alter	32
4.3.6 Beziehung zwischen der Inkubationszeit und Alter	32
4.4 Beziehung zwischen Malariaepisoden und Parametern der Parasitämie	34
4.5 Schlussfolgerung und Ausblick	36
5 Zusammenfassung	38
6 Literaturverzeichnis	40
7 Danksagung	49
8 Lebenslauf	50

1 Einleitung

1.1 Allgemeines

Mehr als ein Drittel der Weltbevölkerung lebt in Malariagebieten. Jährlich erkranken etwa 400 bis 500 Millionen Menschen an Malaria (Snow et al. 2005), von denen cirka 1,5 bis 2,5 Millionen sterben, vor allem Kinder unter fünf Jahren. Am härtesten betroffen ist Afrika südlich der Sahara, denn über 90 Prozent aller Todesfälle treten dort auf (WHO Report 2003). Malaria kommt außerdem endemisch in Südostasien vor, Teilen Indiens sowie Teilen Mittel- und Südamerikas.

Nach wie vor also ist Malaria verantwortlich für ein globales Gesundheitsproblem mit darüber hinaus negativen Folgen für Entwicklung und Wirtschaft der betroffenen Länder (Konradsen et al. 1997, Sachs und Malaney 2002). Nachdem sich in den neunziger Jahren des letzten Jahrhunderts abzeichnete, dass mit einer Elimination der Malaria erst einmal nicht gerechnet werden konnte, wurden verschiedene Forschungsprogramme initiiert mit dem Ziel, Epidemiologie, Pathophysiologie, Genetik und Immunologie der Malaria besser zu untersuchen, um so neue Strategien zur Bekämpfung finden zu können (z.B. "Roll Back Malaria"-Programm der WHO 1998).

1.2 Zyklus von *Plasmodium falciparum*

Malaria wird durch Protozoen der Gattung Plasmodien verursacht. *Plasmodium falciparum*, Erreger der Malaria tropica oder Falciparum-Malaria, ist nahezu ausschließlich für die schwere Morbidität und Mortalität an Malaria verantwortlich. Die in der Regel mild verlaufenden Erkrankungen Malaria tertiana (*P. vivax*, *P. ovale*) und Malaria quartana (*P. malariae*) werden wie *P. falciparum* durch weibliche Stechmücken der Gattung Anopheles übertragen. In Westafrika ist dies vor allem *Anopheles gambiae*. Relevant unter gesundheitlichen, politisch-ökonomischen und wissenschaftlichen Aspekten ist die durch *P. falciparum* ausgelöste Erkrankung. Deshalb bezieht sich alles Folgende nur auf Malaria tropica und *P. falciparum*, wenn nicht ausdrücklich anders beschrieben.

Nach Inokulation infektiöser Sporozoiten in die Blutbahn des Menschen während der Blutmahlzeit einer Anophelesmücke, die Blut zur Entwicklung ihrer Eier

benötigt, dringen die Sporozoiten innerhalb von 5 bis 60 Minuten in Hepatozyten ein, wo die erste asexuelle Vermehrung stattfindet (extraerythrozytäre Schizogonie). Nach 5 bis 7 Tagen werden Merozoiten in die Blutbahn freigesetzt, die innerhalb kürzester Zeit (30 Sekunden bis 15 Minuten) Erythrozyten invadieren. Während des intrazellulären Stadiums befindet sich der Parasit in einer parasitophoren Vakuole, deren Membran sowohl aus Parasitenbestandteilen als auch Erythrozytenproteinen besteht und über die ein Austausch von Molekülen stattfindet. Der Parasit ernährt sich via Digestionsvakuolen vom Zytoplasma der Wirtszelle, hauptsächlich von Hämoglobin. Abfallprodukte wie toxisches Hämeisen werden in gesonderten Vakuolen in Form von Hämozoin gespeichert. In der erythrozytären Schizogonie werden über frühe und späte Trophozoiten (Ringformen) schließlich reife Schizonten gebildet. Durch Ruptur der infizierten Erythrozyten gelangen Merozoiten ins Blut und befallen weitere Erythrozyten. Ein Vermehrungszyklus bei *P. falciparum* dauert 48 Stunden, dabei werden 20 000 bis 500 000 Parasiten pro μl Blut freigesetzt. Im peripheren Blut des Wirts sind überwiegend junge Trophozoiten nachweisbar, späte Ringformen und Schizonten von *P. falciparum* finden sich fast ausschließlich im Gewebe und nicht im peripheren Blut. Ein Teil der Plasmodien entwickelt sich nach einigen Zyklen zu männlichen und weiblichen Gametozyten. Wenn diese beim Saugakt der Mücke aufgenommen werden, vermehren sie sich sexuell im Magen und reifen zu infektiösen Sporozoiten in den Speicheldrüsen der Mücke heran. Für diese Entwicklung ist für *P. falciparum* eine konstante Umgebungstemperatur von mindestens 16 °C erforderlich (Essential Malariology, Warrell & Gilles, S.25).

1.3 Pathophysiologie der Malaria

Fieberanfälle und andere milde Krankheitszeichen finden sich bei allen Formen der Malaria. Die besondere Virulenz von *P. falciparum* scheint im Wesentlichen darauf zu beruhen, dass infizierte Erythrozyten in der kapillären Endstrombahn sequestrieren, sich vermutlich so der Elimination durch die Milz entziehen und auf diese Weise eine starke Vermehrung der Parasiten ermöglicht wird (English und Newton 2002). Im Stadium der späten Schizonten treten auf der Zellmembran der infizierten Erythrozyten Plasmodienproteine auf, variant surface antigens (VSA). Zu ihnen gehört auch das Plasmodium falciparum

Erythrocyte Membrane Protein 1 (PfEMP1), das auf Protrusionen, knobs genannt, lokalisiert ist (Craig und Scherf 2001). PfEMP1 bindet an Adhäsionsmoleküle auf Endothelzellen, im zentralen Nervensystem vor allem an ICAM-1, ubiquitär an CD36 und weitere Zelloberflächenmoleküle und führt zur lokalen Adhäsion und Sequestration der Erythrozyten mit Störung der Mikrozirkulation. Dadurch kommt es unter anderem zur Hypoxie der betroffenen Organe.

Um dem Immunsystem des Wirtes zu entkommen, hat der Parasit effektive Methoden entwickelt. Ein solcher Mechanismus ist das rasche Wechseln der Antigene. PfEMP1s werden von circa 60 so genannten var(iant)-Genen kodiert. Da die Genexpression eines Plasmodienklons, also Transkription und Proteinbiosynthese, einer rapiden Variation unterliegen (Horrocks et al. 2004), können durch Infektion mit einem einzigen Plasmodienklon zeitlich sequentiell viele verschiedene Phänotypen exprimiert werden, die sich in ihrem Antigenmuster und in ihrer Funktion unterscheiden (Kyes et al. 2001).

1.4 Klinisches Bild der Malariainfektion und Probleme bei der Diagnosestellung der leichten Malaria

In Endemiegebieten unterscheidet man zwischen Malariainfektion und Erkrankung an Malaria. Infiziert sind je nach Endemie- und Transmissionsgrad mehr als 50 Prozent der Kinder und circa 20 Prozent der Erwachsenen, aber nur ein Teil von ihnen erkrankt, und nur ein Bruchteil erkrankt schwer (Snow und Marsh 1998).

Während der extraerythrozytären Schizogonie, solange sich die Parasiten also in Leberzellen befinden, bleibt der Wirt asymptomatisch. Erst nachdem Plasmodien in die Blutbahn freigesetzt worden sind (Parasitämie), ihre asexuelle Vermehrung dort begonnen hat und es zur Ruptur von parasitierten Erythrozyten kommt, in der Phase der erythrozytären Schizogonie, erkrankt der Wirt.

Leichte Malaria ist die am weitesten verbreitete klinische Manifestation der Infektion und macht den größten Teil der weltweiten Morbidität aus.

Unspezifische Zeichen und Befunde wie Fieber, Kopfschmerzen, leichte Anämie und Splenomegalie kennzeichnen das Bild. Fieber, das klassische Zeichen der

Malariaerkrankung, tritt im Rahmen der Ruptur der infizierten Erythrozyten auf. Oberflächenproteine der Merozoiten, Zelldetritus aus rupturierten Erythrozyten, Hämozoin und Antigen-Antikörperkomplexe führen zur Stimulierung des Monozyten-Makrophagen-Systems und des Endothels, so dass Zytokine freigesetzt werden. Als ein mögliches Plasmodientoxin, das die Zytokinfreisetzung maßgeblich stimuliert, werden Glykosylphosphatidylinositole diskutiert (Schofield und Hackett 1993). Stimulierte Makrophagen sezernieren unter anderem proinflammatorische Zytokine wie TNF- α , IL-1 und INF- γ . Vor allem TNF- α wirkt durch Hochregulation des Sollwertes im Hypothalamus Fieber auslösend. Dem Fieber wird ein direkt antiparasitärer Effekt zugeschrieben (Brandts et al. 1997). Man konnte zeigen, dass hohes Fieber über 40 ° C eine Hemmung später Trophozoiten bewirkt und anschließend dadurch eine Synchronisierung des Parasitenzyklus erzielt wird (Kwiatkowski 1989). Verlaufen die Vermehrungszyklen synchron, kommt es zu den klassischen Fieberschüben, bei *P. falciparum* verlaufen die Zyklen initial meistens unsynchronisiert.

In einem Malariaendemiegebiet sicher die Diagnose leichte Malaria zu stellen, ist aus folgenden Gründen problematisch:

- Die von der WHO vorgegebene Definition der leichten Malaria ist weit gefasst: Parasitämie und axilläre Temperatur höher als 37,5 °C. Da jedoch in einem hyperendemischen Gebiet mehr als die Hälfte der Kinder immer Parasiten hat und Fieber aus anderer Ursache vorliegen kann, ist die Spezifität dieser Diagnose gering, die Sensitivität sehr hoch.
- Durch die Entwicklung mathematischer Modelle kann man den Anteil Fieber in einer Population, der durch Plasmodien verursacht wird, berechnen (Smith et al. 1994). Diese Methode ist vor allem für Interventionsstudien geeignet, weil man das Fiebrisiko durch Malaria vor und nach Intervention in der Bevölkerung bestimmen und so einen möglichen Effekt messen kann (Armstrong Schellenberg et al. 1994b). Für eine individuelle Diagnosestellung ist dieser Ansatz jedoch weniger tauglich (Bouvier et al. 1997, Genton et al. 1995).
- Eine andere Möglichkeit ist die Ermittlung eines alters- und ortsabhängigen Schwellenwertes der Parasitämie, bei dessen Überschreiten von klinischer

Malaria ausgegangen wird, weil sich dann das Risiko, Fieber zu bekommen, stark erhöht (Rogier et al. 1996). Diesbezüglich konnte allerdings gezeigt werden, dass die Höhe der Parasitämie nur bei einem kleinen Anteil von Kindern zu Fieber prädisponiert (Bouvier et al. 1997).

- Es gibt Einschränkungen, die für alle genannten Definitionsansätze und die ihnen zugrunde liegenden Studien gelten. So konnte gezeigt werden, dass sowohl die gemessene Körpertemperatur im Laufe eines Tages schwankt und von der Außentemperatur abhängig ist (Armstrong Schellenberg et al. 1994a) als auch die Parasitendichte täglich fluktuiert (Färnert et al. 1997). Zusätzlich hängt die Diagnosestellung von der Genauigkeit und Erfahrung des Technischen Assistenten ab, der den Ausstrich beurteilt, und auch hinsichtlich der Diagnosesicherheit gibt es große Unterschiede (McKenzie et al. 2003).

Zu berücksichtigen ist außerdem, angesichts welcher Bedingungen die Definition der Malariadiagnose gewählt wird. Besteht im Rahmen einer Studie die Möglichkeit, permanent am Studienort anwesend zu sein, können strengere Kriterien angelegt werden, als wenn in einem ländlichen Gesundheitszentrum von weit her angereiste Kinder beurteilt werden müssen, deren intensive Observation unmöglich ist und für die eine Fehleinschätzung fatale Folgen haben kann (Bojang et al. 2000).

Trotz der genannten Einschränkungen entspricht die Malariadefinition, die in dieser Arbeit benutzt wird, weitgehend der Definition der WHO. Sie ermöglicht es, die Symptome, die durch Plasmodieninfektion verursacht wurden, zu erkennen; andererseits können Kinder, die dem Arzt als eventuell malariakrank erscheinen, es aber nicht sind, durch Ausschlussdiagnose identifiziert werden.

Im Gegensatz zur leichten Malaria ist die Diagnose der schweren Malaria strikt definiert (WHO) als komplexes Syndrom, bestehend aus schwerer Anämie, zerebraler Malaria, Hypoglykämie, Atemnotsyndrom, Hyperparasitämie, Azidose, Hyperlaktatämie, Ikterus, wobei eine Überlappung der einzelnen Symptome vorkommt. Bei Kindern äußert sich der lebensbedrohliche Verlauf der Erkrankung in den ersten Lebensjahren hauptsächlich als schwere Anämie und in den folgenden als zerebrale Malaria (Marsh et al. 1995). Dennoch erkranken

nur circa 1 bis 2 Prozent aller *P. falciparum* - Infizierten an schwerer Malaria, bei den allermeisten verursacht die Infektion nur leichte Krankheitsepisoden (Greenwood et al. 1987).

1.5 Genetische Grundlagen

Der Einfluss genetischer Varianten des Wirtes auf den Verlauf einer Malariainfektion und -erkrankung ist lange bekannt; gut untersucht sind vor allem die Anomalien der roten Blutzellen. Sichelzellanämie (HbS), HbC, α -Thalassämie und Glukose-6-Phosphat-Dehydrogenase-Mangel beeinflussen auf unterschiedliche Art den Verlauf einer Malariainfektion. Heterozygote HbS-Träger sind weitgehend vor den klinischen Malariamifestationen geschützt, jedoch nicht vor der Infektion an sich, und erkranken seltener an schwerer Malaria (Bayoumi 1987, Le Hesran et al. 1999). Für homo- und heterozygote HbC-Träger konnte eine Reduktion des Risikos, an schwerer Malaria zu erkranken, nachgewiesen werden (Modiano et al. 2001), und es zeigte sich auch ein protektiver Effekt gegenüber leichter Malaria (Rihet et al. 2004). Für α -Thalassämien konnte ein für schwere Malaria und andere Infektionskrankheiten protektiver Effekt nachgewiesen werden (Allen et al. 1997). Glukose-6-Phosphat-Dehydrogenase-Mangel (G6PD-Mangel) kann in seiner schwersten Ausprägung zu hämolytischer Anämie führen. Für die Variante G6PD-A⁻, bei der circa 12 % Enzymaktivität vorhanden sind und die häufig in Afrika vorkommt, wurde Schutz vor schwerer und leichter Malaria für heterozygote Mädchen und Schutz vor schwerer Malaria für hemizygoten Jungen gefunden (Ruwende et al. 1995). Die Häufigkeit und Intensität von Malariainfektionen und -erkrankungen hängt also von genetisch determinierten Eigenschaften des Wirtes ab. Zum Teil sind die gleichen Mechanismen für den Schutz vor schwerer wie auch leichter Malaria verantwortlich. Inzwischen werden Modelle favorisiert, in denen weitere, noch unbekannte genetische Einflüsse auf Malaria propagiert werden (Abel et al. 1992).

1.6 Entwicklung von Teilimmunität

Einen vollständigen immunologischen Schutz vor Malaria gibt es auch nach jahrelanger Exposition nicht (Trape et al. 1996), doch entwickelt sich durch kontinuierliche Reinfektionen eine sogenannte Teilimmunität. Für die humorale

Immunantwort des Menschen wird den PfEMP1s eine wichtige Rolle zugeschrieben (Ofori et al. 2002). Weit verbreitete PfEMP1s scheinen für die schweren Verläufe von Malaria verantwortlich zu sein und ein besonders hohes Vermögen zu Zytoadhärenz zu besitzen (Bull et al. 2000), gleichzeitig werden sie schon von Antikörpern sehr junger Kinder erkannt. Hviid (Hviid et al. 2003) stellte die Hypothese auf, dass schwere Malaria von weit verbreiteten PfEMP1-Molekülen mit konservierten stammspezifischen Antigenen ausgelöst wird und dass Antikörper gegen diese Antigene kreuzreagierend sind, somit kann sich die Krankheitsimmunität relativ schnell entwickeln. Ein bis zwei Malariainfektionen können ausreichen, um Immunität gegen schwere, nicht-zerebrale Malaria zu vermitteln (Gupta et al. 1999). Die Anzahl der Infektionen, nach denen ein Schutz vor schwerer Malaria vorhanden ist, steigt mit Abnahme der Transmissionsintensität, und so nimmt man im Allgemeinen an, dass ab dem fünften Lebensjahr der Aufbau der Teilimmunität so gut ist, dass ein effektiver Schutz gegen die schweren Verlaufsformen der Malaria besteht. Durch jahrelange Exposition wird sukzessiv ein Antikörperrepertoire aufgebaut, das gegen PfEMP1s gerichtet ist (Bull et al. 1998). Das Vorkommen von variantenspezifischen Antikörpern nimmt mit zunehmendem Alter zu, gleichzeitig nimmt die Häufigkeit von leichter Malaria ab (Piper et al. 1999), es kommt zur Reduktion der Parasitendichte, und so geht man davon aus, dass sequentiell neue Antikörper erworben werden und diese vor den klinischen Symptomen zu schützen vermögen. Seltener stammspezifische Antigene sind nicht kreuzreagierend, verursachen auch keine schwere Malaria und werden eher bei älteren Individuen gefunden (Nielsen et al. 2002).

Auf epidemiologischer Ebene untersucht man, wie sich das Verhältnis von Parasitendichte, Parasitämie und Malariaepisoden zueinander gestaltet, wie sich die Unterschiede hinsichtlich der Altersabhängigkeit der Teilimmunität darstellen und ob es Unterschiede in bestimmten Bevölkerungsgruppen gibt. Durch Langzeitbeobachtungen kann man Dynamik und Verlauf der Parasitendichten verfolgen, um die Merkmale der Entwicklung von Teilimmunität erkennen zu können.

Wie bereits dargestellt, unterteilt man klassischerweise die Teilimmunität in Krankheitsimmunität und Parasitenimmunität und bezeichnet damit die

Tatsache, dass ab einem gewissen Lebensalter einerseits Schutz vor den schweren Verlaufsformen der Malaria besteht, aber andererseits leichte Malaria und Malariainfektionen bis ins Erwachsenenalter hin vorkommen. Ab welchem Alter nur noch leichte Malaria oder nur noch asymptomatische Infektionen vorkommen, ist stark vom Grad der Transmission abhängig und es fehlt bislang an Daten, die einen Vergleich der Situation in verschiedenen afrikanischen Ländern erlauben. Vor allem das Auftreten von schwerer Malaria in Abhängigkeit vom Lebensalter in Gebieten unterschiedlicher Transmissionsintensität ist untersucht worden, und ältere Studien beschreiben das Verhältnis von Parasitämie und Parasitendichte in verschiedenen Populationen (Greenwood et al. 1987, Marsh 1992).

Leichter Malaria wird meistens ein geringerer Stellenwert zugeschrieben, da sie nicht lebensbedrohlich ist. Dennoch macht gerade sie den größten Teil der weltweiten Malariamorbidity aus und ist im Wesentlichen verantwortlich für den Gesundheitszustand der Gesamtbevölkerung. Ab wann tatsächlich ein nennenswerter Schutz gegen leichte Malaria besteht, ist bislang nicht explizit bekannt. Ob ältere Schulkinder (älter als fünf Jahre) ein Zwischenstadium zwischen Kind und Erwachsenen einnehmen oder vielleicht eine eigene Gruppe bilden, ist auch von der Transmission abhängig, doch im Übrigen nicht genau bekannt, da vor allem Kinder bis zu einem Alter von fünf Jahren aufgrund der hohen Belastung durch Malaria in Studien beobachtet wurden und weniger Daten zu älteren Kindern vorliegen.

Insgesamt ist das Resultat einer Infektion mit *P. falciparum* von vielen verschiedenen Faktoren abhängig: der Transmission und Virulenz des Erregers, der genetischen Ausgangslage des Wirtes, seines Immunsystems und der Anzahl durchgemachter Infektionen.

1.7 Ziel der vorliegenden Arbeit

Im Rahmen einer longitudinalen Studie zur Genetik der leichten Malaria wurden ausgewählte Kinder über einen Zeitraum von acht Monaten wöchentlich besucht und hinsichtlich Parasitämie und Auftreten klinischer Malaria untersucht.

Ziel dieser Arbeit ist es, einen Bezug zwischen dem Auftreten von Parasitämien, der Parasitendichte und dem Auftreten von Malariaepisoden herzustellen.

2 Material und Methoden

2.1 Studiengebiet

Die Studie wurde von Mai bis Dezember 2002 in 16 Dörfern der Distrikte Asante Akim North und Sekyere East in der Aschanti-Region, Ghana, durchgeführt. Die Aschanti-Region liegt im ehemaligen Regenwaldgürtel Westafrikas und wird durch feuchtes tropisches Klima mit einer Hauptregenzeit von Mai bis August und einer Nebenregenzeit von Oktober bis November geprägt. Die Tagestemperaturen schwanken zwischen 30 und 35 °C, nachts erfolgt eine Abkühlung auf etwa 24° C. Übertragung von *P. falciparum*, *P. malariae* und *P. ovale* hauptsächlich durch *Anopheles gambiae* findet das ganze Jahr hindurch statt. Der Grad der Malariaendemizität beträgt 50,72 % während der Trockenzeit (Browne et al. 2000). Der größte Teil der Bevölkerung bestreitet seinen Lebensunterhalt durch Subsistenzwirtschaft. Die medizinische Versorgung erfolgt durch Gesundheitszentren in den Dörfern oder durch Krankenhäuser in den Städten.

2.2 Studienteilnehmer

465 Kinder aus 128 Familien, die in 16 Dörfern der genannten Distrikte leben, nahmen teil. Da das Hauptziel der Studie die Bestimmung neuer genetischer Merkmale ist, die vor Malariainfektion bzw. -erkrankung schützen, waren durch eine Vorauswahl nur solche Familien ausgesucht worden, bei denen Mutter und Vater keines der klassischen genetischen Merkmale aufweisen, von denen bekannt ist, dass sie Einfluss auf Malaria haben (HbS, HbC, α -Thalassämie, G6PD A-). Bei 346 von 2551 untersuchten Familien wiesen jeweils Mutter und Vater den Wildtyp der untersuchten Gene auf. 128 Familien konnten erfolgreich in die Studie eingeschlossen werden. Mindestens drei Geschwisterkinder einer Familie nahmen teil, ihr Alter lag bei Studienbeginn zwischen 6 Monaten und 11 Jahren. Die Eltern hatten ihr schriftliches Einverständnis gegeben. Die Studie war von der Ethikkommission der School of Medical Sciences, University of Kumasi, Ghana, gebilligt worden.

2.3 Durchführung und Art der Messungen

Drei Teams, bestehend aus Arzt, Assistent, Doktorand und Fahrer, besuchten von Ende Mai bis Ende Dezember einmal wöchentlich alle Kinder in ihren Dörfern. Jedes Kind war einem Team zugeordnet. Insgesamt fanden pro Kind 31 Besuche statt.

Bei jedem Besuch wurde vom Arzt eine Anamnese über Vorfälle der vergangenen Woche erhoben, es wurde nach Malariaepisoden, der Einnahme von Medikamenten, speziell Malariamedikamenten, und dem Besuch eines Gesundheitszentrums oder Krankenhauses gefragt. Die Temperatur wurde aurikulär bestimmt (Braun Thermoscan Ohr-Thermometer), und es wurden ein Dicker Tropfen und ein Ausstrich aus Kapillarblut zur Malariadiagnostik angefertigt. Die Ausstriche und Dicken Tropfen wurden luftgetrocknet und am Nachmittag desselben Tages im Labor gefärbt.

War ein Kind krank, so stellte der Arzt klinisch die Diagnose und behandelte entsprechend. Zur Diagnosestellung Malaria untersuchte er das Kind gründlich, bezog die getastete Milzgröße und Blässe der Konjunktiven mit ein (Muhe et al. 1999) und schloss andere Ursachen von Fieber wie Pneumonie durch Auskultation oder Hautabszesse durch Inspektion aus.

Die Behandlung der Malariaerkrankung erfolgte in erster Linie mit Chloroquin in einer Gesamtdosis von 25 mg pro kg Körpergewicht, verteilt auf drei Tage (10-10-5 mg/kg KG pro Tag), oder mit Amodiaquin in derselben Dosierung.

2.4 Bestimmung der Parasitendichte

Die Dicken Tropfen wurden unfixiert mit dreiprozentiger Giemsa-Lösung gefärbt, die Ausstriche methanolfixiert, mit May-Grünwald und anschließend mit Giemsa gefärbt. Die Ausstriche und Dicken Tropfen wurden für jedes Team separat durch einen erfahrenen Technischen Assistenten ausgewertet.

Die Bestimmung der Parasitendichte erfolgte im Dicken Tropfen, in dem bei 1000facher Vergrößerung die Anzahl der Parasiten pro 200 Leukozyten gezählt wurde. Falls weniger als neun Parasiten gefunden wurden, wurde bis 500 Leukozyten weitergezählt. Erst nach Auszählen von 500 Leukozyten wurde ein Dicker Tropfen als negativ gewertet.

Die Umrechnung in die Anzahl Parasiten pro Mikroliter Blut erfolgte unter der Annahme von 8000 Leukozyten pro Mikroliter Blut (Greenwood und Armstrong 1985).

Bei Mischinfektionen fand die Speziesbestimmung im Ausstrich statt.

Für alle Berechnungen wurde der absolute Wert der Parasitendichte verwendet, unabhängig davon, welche Plasmodienart vorlag. An 96% aller Infektionen und an über 98% aller Malariaepisoden war *P. falciparum* beteiligt.

2.5 Transformation der Parasitenwerte

Zur Ermittlung der individuellen Parasitendichte wurde das geometrische Mittel aller gültigen Parasitendichten gebildet. Für negative Blutausstriche wurde die halbe Nachweisgrenze (8 Parasiten/ μ l Blut) angesetzt. Das geometrische Mittel ist der delogarithmierte Mittelwert der logarithmierten Einzelwerte.

Zusätzlich wurde die Varianz des geometrischen Mittels berechnet.

Der übersichtlichen Darstellung halber wurden die Parasitendichten logarithmisch aufgetragen.

2.6 Definition der leichten klinischen Malaria

Eine Episode leichter klinischer Malaria wurde folgendermaßen definiert:

1. positiver Malariaausstrich und Temperatur höher als 37,7 °C (Powell et al. 2001) oder anamnestic Angabe der Mutter über Fieber in der vergangenen Woche,
oder
2. negativer Ausstrich und Temperatur höher als 37,7 °C und Einnahme von Malariamedikamenten in der vergangenen Woche.

Fieber wurde als malariabedingt gewertet, wenn Befunde, die auf andere Ursachen hinwiesen, fehlten. Als andere mögliche Ursachen wurden Pneumonie, obere Atemwegsinfektion, Otitis, Hautabszesse und Durchfallerkrankungen angesehen.

2.7 Definition der asymptomatischen Parasitämie

Als asymptomatische Parasitämie wurde der Nachweis von Plasmodien im Blutausstrich ohne das gleichzeitige Vorliegen von Symptomen definiert.

2.8 Unterdrückung von Werten

Wurde ein Kind mit Chloroquin oder Amodiaquin behandelt, so wurden seine Parasitenwerte für die folgenden zwei Wochen unterdrückt. Dieser Zeitraum wurde empirisch ermittelt (siehe Abbildung 2.1). Wurde ein Kind als malariakrank diagnostiziert und erhielt Medikamente vom Arzt, so wurden weitere Malariadiagnosen innerhalb der folgenden zwei Wochen als Rekrudescenz und nicht als Neuinfektion gewertet.

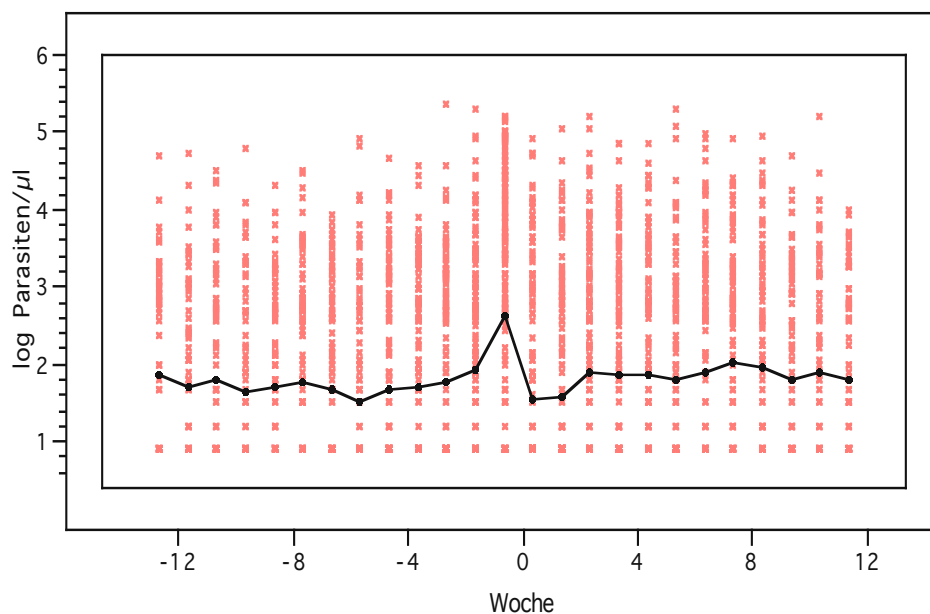


Abbildung 2.1 Wirkdauer von Chloroquin
rot: Parasitendichte, schwarz: geometrisches Mittel der Parasitendichte

Um herauszufinden, wie lange Chloroquin (CQ) wirksam ist, wurden alle vom Arzt verschriebenen Erstbehandlungen mit CQ herausgesucht. Kinder, die vorher oder gleichzeitig eine Selbstbehandlung oder Extrabehandlung mit CQ oder einem anderen Malariamedikament durchgeführt hatten, wurden ausgeschlossen. Der Behandlungsbeginn wurde als Woche 0 definiert, so dass alle bis dahin erhobenen Parasitenwerte auf der Zeitachse entsprechend verschoben wurden, und es wurden die Parasitenwerte bis zur nächsten Behandlung mit einem Malariamedikament betrachtet. Es zeigt sich, dass Chloroquin in dieser Population im Durchschnitt zwei Wochen lang die Parasitendichte senkt.

2.9 Berechnung der individuellen Parameter

Für jedes Kind wurde der Anteil positiver Ausstriche, der Anteil asymptomatischer Parasitämien und der Anteil von Malariaepisoden berechnet, nachdem die entsprechenden Werte unterdrückt worden waren.

2.10 Gebrauch von Moskitonetzen und Moskitogittern

Eigenen Angaben und den Angaben der Eltern zufolge schliefen 67 Kinder regelmäßig unter Bettnetzen, 73 wohnten in Häusern, die mit Moskitogittern an Fenstern und Türen ausgestattet waren.

Es stellte sich heraus, dass Moskitogitter im Gegensatz zu Moskitonetzen einen nachweisbaren Schutz vor der Plasmodieninfektion vermitteln (Median des Anteils positiver Ausstriche ohne Gitter 0,56 / mit Gittern 0,35; $p < 0,0001$).

Kinder aus Häusern mit Moskitogittern wurden aus der Analyse herausgenommen, weil sie durch die Expositionsprophylaxe gleichsam in ein Gebiet niedrigerer Endemizität transferiert worden waren und nicht bekannt ist, ob dadurch die Immunität gegenüber Plasmodien beeinflusst wurde und deshalb die Infektionsdynamik eine andere war.

2.11 Statistische Methoden

Zusammenhänge wurden mit Kendall-tau-b berechnet. Dies ist ein allgemeines nonparametrisches Maß, das den Zusammenhang zwischen zwei Variablen beschreibt. Es misst, bei wie vielen Paaren $(x_1, y_1; x_2, y_2; \dots; x_n, y_n)$ zutrifft, dass $x_1 < x_2$ und zugleich $y_1 < y_2$ ist.

Vergleiche zwischen zwei Gruppen wurden mit dem Test nach Wilcoxon, Vergleiche zwischen mehreren Gruppen nach Kruskal-Wallis durchgeführt.

Bei kategorischen Variablen wurde der Chi-Quadrat-Test benutzt.

Alle statistischen Berechnungen wurden mit dem Programm "jmp" von SAS durchgeführt.

2.12 Dateneingabe

Alle Daten, die bei den Felduntersuchungen erhoben worden waren, und die Laborbefunde über Malariaparasiten wurden jeweils von zwei verschiedenen Personen in die Datenbank (4D von SA, 1985 - 2002) eingegeben und anschließend von einer weiteren Person auf Unstimmigkeiten geprüft. Bei Nichtübereinstimmung wurde nach dem Originaldatenblatt korrigiert.

3 Ergebnisse

3.1 Beschreibung der Kohorte

465 Kinder aus 128 Familien nahmen teil. Von 392 Kindern aus 112 Familien konnten Daten ausgewertet werden, 73 Kinder waren wegen des Gebrauchs von Moskitogittern ausgeschlossen worden.

Von 12 152 durchgeführten Besuchen wurden insgesamt 127 versäumt, die Compliance betrug somit 99 %. 331 Kinder (84 %) waren bei allen 31 Besuchen anwesend, 55 fehlten bis zu dreimal und 6 Kinder mehr als dreimal.

Die Kinder waren zu Beginn der Studie zwischen 6 Monaten und 11 Jahren alt, der Median des Alters lag bei 6 Jahren (Interquartilenabstand 3-8). 205 der Kinder waren Jungen, 187 Mädchen. Hinsichtlich der Geschlechtsverteilung wurden keine Unterschiede gefunden (Median des Alters in Jahren: Jungen 6/ Mädchen 6, $p = 0,85$; Median des Anteils positiver Ausstriche: Jungen 0,54/ Mädchen 0,58, $p = 0,2$; Median des Anteils Malariaepisoden: Jungen 0,04/ Mädchen 0,04, $p = 0,53$).

Der Median der Anzahl auswertbarer Malariaausstriche pro Kind betrug 28 (Interquartilenabstand 25-30). Der Median der Punktprävalenz der Parasitämie betrug 51,5 % (Interquartilenabstand 47,98–55,82 %), d.h. zu einem beliebigen Zeitpunkt hatten 51,5 % der Kinder Parasiten im Blut. Die Periodenprävalenz betrug 98,5 %, d.h. im gesamten Beobachtungszeitraum wurden bei 98,5 % der Kinder mindestens einmal Parasiten nachgewiesen.

Bei 257 Kindern (65,6 %) wurde mindestens einmal die Diagnose Malaria gestellt, insgesamt wurden bei ihnen 549 Malariaepisoden festgestellt. Pro Kind wurden bis zu 6 Malariaepisoden diagnostiziert. Bei 135 Kindern (34,4 %) lag zu keinem Zeitpunkt eine klinische Malaria vor. Der Median der Punktprävalenz der Malariaepisoden betrug 4,3 % (Interquartilenabstand 3,2 - 6,2 %). Die kumulative Inzidenz der Malariaepisoden betrug für den untersuchten Zeitraum 1,4 pro Kind.

Die Verläufe der individuellen Parasitendichten über den Beobachtungszeitraum ließen sich nicht in Gruppen klassifizieren (siehe Abbildung 3.1a-d).

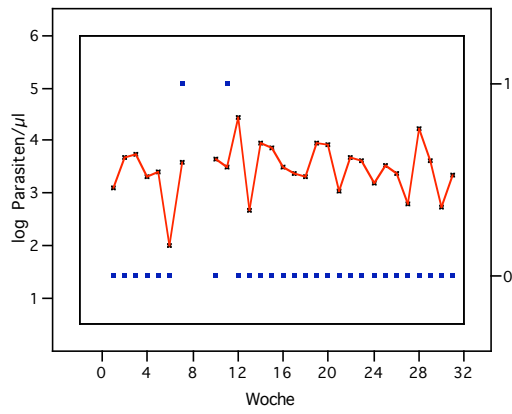


Abb. 3.1.a

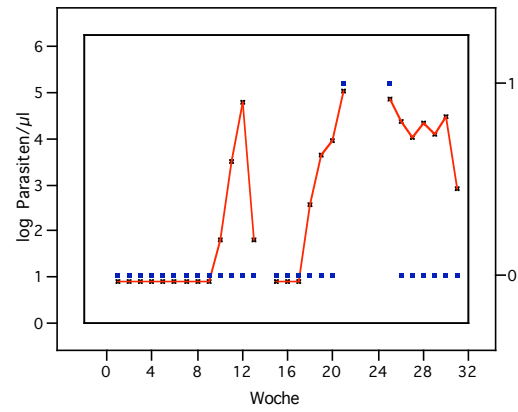


Abb.3.1.b

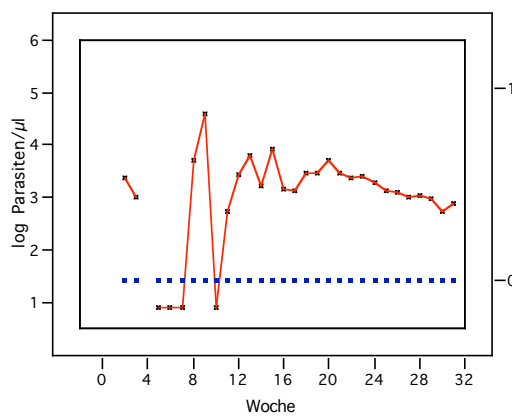


Abb. 3.1.c

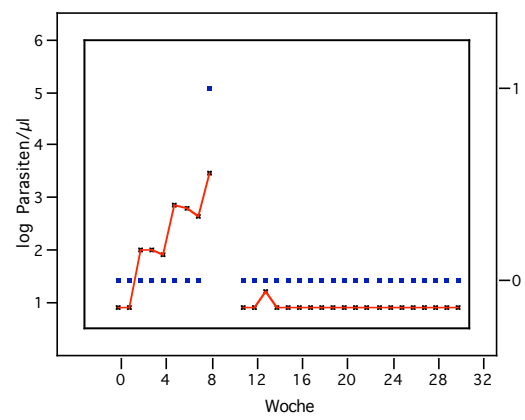


Abb. 3.1.d

Abbildung 3.1a-d Beispiele des Verlaufs der Parasitendichte über 31 Wochen bei vier Individuen

rot: log Parasiten pro μl Blut

blau: 0 = keine Malariaepisode

1 = Malariaepisode diagnostiziert und behandelt

3.2 Anstieg der Parasitendichte zur Malariaepisode

Die Parasitendichte der Woche(x-1) wurde von der der Woche(x) subtrahiert (mit $x = 2,3,\dots,31$), aufgetragen ist die Differenz. Dargestellt sind Fälle.

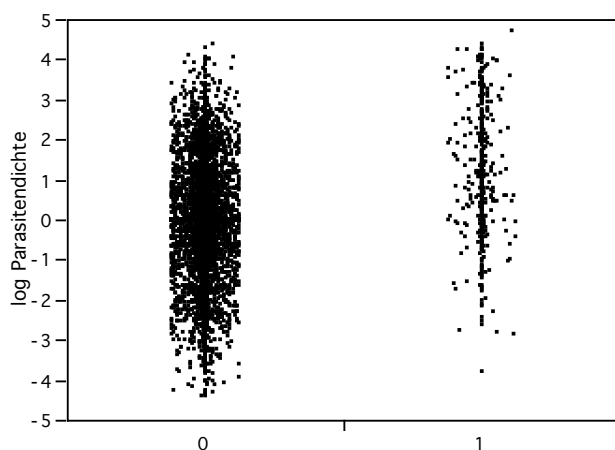


Abbildung 3.2 Wöchentliche Differenzen der Parasitendichte zu asymptomatischen Zeitpunkten und bei Malariaepisoden
0-keine Malariaepisode, 1- Malariaepisode

Der Median der Differenz, wenn nicht Malaria diagnostiziert wurde, betrug 0 Parasiten/ μl ($n = 9073$), und der Median der Differenz, wenn Malaria diagnostiziert wurde, 1440 Parasiten/ μl ($n = 373$); $p < 0,0001$. Für 176 Fälle konnte keine Untersuchung durchgeführt werden, da Malaria in Studienwoche 1 diagnostiziert wurde oder die Höhe der Parasitendichte zum Diagnosezeitpunkt unbekannt war.

Es zeigte sich also, dass beim Übergang von Symptomlosigkeit zu einer klinischen Malariaepisode hin die Parasitendichten eines Individuums signifikant anstiegen (Abb.3.2). In einigen Fällen fiel die Parasitendichte zur Malariaepisode hin ab. Insgesamt ist der Schwankungsbereich bei Malariaepisoden nach oben hin verschoben, d.h. die Parasitendichten sind häufiger gestiegen als gesunken. Liegt keine Malariaepisode vor, schwankt die Parasitendichte von Woche zu Woche, ohne Signifikanz zu erreichen. Es gibt auch Kinder, die einen deutlichen Anstieg ihrer Parasitendichte aufweisen, ohne zu diesem Zeitpunkt zu erkranken. Betrachtet man die Fälle, in denen die Parasitendichte um mehr als 50 000 Parasiten/ μl angestiegen war ($n = 77$), so liegt in 42 Fällen (54,5 %) Malaria vor und in 35 (45,5 %) keine. Von diesen 35 Fällen wurde bei 24 (31 %) auch in der Folgewoche keine Malaria diagnostiziert und in keinem Fall sind Malariamedikamente verabreicht worden.

3.3 Einfluss des Alters

3.3.1 Malariometrische Parameter im Altersverlauf

Der Anteil der Parasitämie, die Parasitendichte, die Varianz der Parasitendichte, der Anteil an Malariaepisoden sowie die Parasitendichte während Malariaepisoden und asymptomatischen Zeitpunkten wurde in Abhängigkeit vom Alter untersucht (Abbildungen 3.3.1a-e).

Die Einteilung nach Alter erfolgte entsprechend folgender Tabelle:

Tab. 3.3.1 Alter in Jahren

Alter	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
Alter in Monaten	6-11	12-23	24-35	36-47	48-59	60-71	72-83	84-95	96-107	108-119	120-131	132-143
Anzahl Kinder	13	30	36	35	38	40	35	40	39	29	36	21

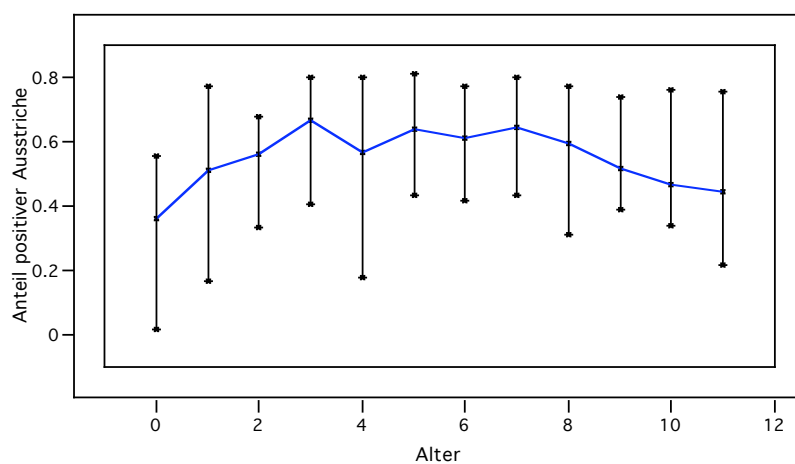


Abb.3.3.1.a Parasitämie zu allen Zeitpunkten

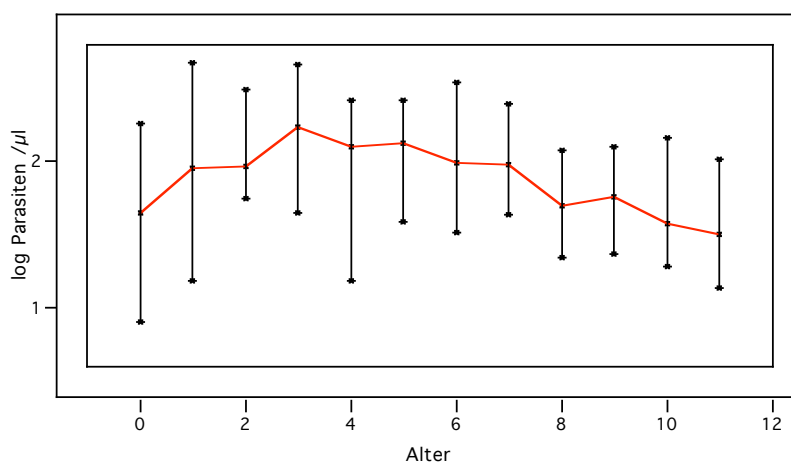


Abb.3.3.1.b Parasitendichte zu allen Zeitpunkten

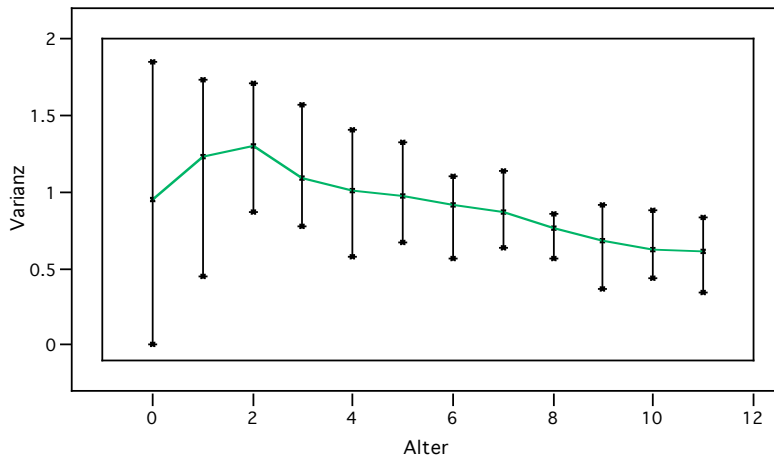


Abb.3.3.1c Varianz der Parasitendichte zu allen Zeitpunkten

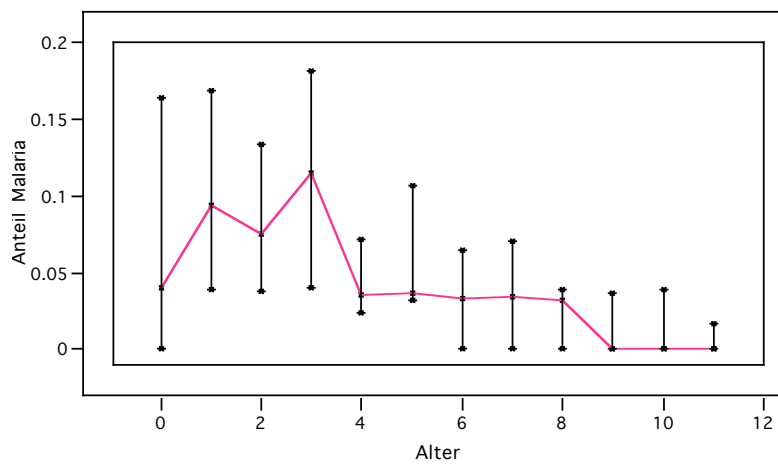


Abb.3.3.1d Malariaepisoden zu allen Zeitpunkten

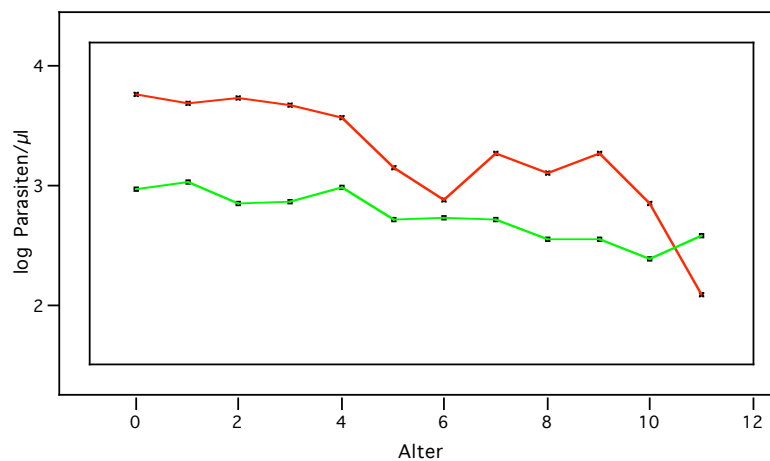


Abb.3.3.1e Parasitendichte zu Malariazeitpunkten (rot) und bei asymptomatischen Parasitämien (grün)

Abbildung 3.3.1 a-e malarimetrische Parameter im Altersverlauf

Dargestellt für jede Altersgruppe sind der Median (farbig verbunden) und bei Abb. a-d die 25. und 75. Perzentile.

Fast alle Merkmale zeigen eine signifikante Altersabhängigkeit:

Assoziation des Alters

- mit dem Anteil der Parasitämie τ (Kendal-tau-b) = 0,01, $p = 0,7$;
- mit der Parasitendichte τ -0,12, $p = 0,001$;
- mit der Varianz der Parasitendichte $\tau = -0,26$, $p < 0,0001$;
- mit dem Anteil Malariaepisoden $\tau = -0,36$, $p < 0,0001$.

Obwohl Säuglinge die niedrigste Parasitämie haben und ihre mittlere Parasitendichte vergleichbar ist mit der neun- bis zehnjähriger Kinder, weisen sie eine größere Anzahl Malariaepisoden als Neun- bis Zehnjährige auf. Vom 1. bis 3. Lebensjahr nehmen Parasitämie und mittlere Parasitendichte zu, jedoch bleibt der Anteil der Malariaepisoden im gleichen Intervall nahezu konstant. Die ein-, zwei- und dreijährigen Kinder der Studiengruppe erkrankten am häufigsten an Malaria, sie waren im Median bei 8-13 % der Besuche krank. Der Anteil der vier- bis achtjährigen Kinder, die Malariaepisoden erfahren, ist konstant bei etwa 4 % der Besuche, und Neun- bis Elfjährige liegen bei rund 1 %. Vom 4. bis 8. Lebensjahr verhält sich die Parasitämie nahezu gleichförmig, aber die Parasitendichte sinkt ab. Die Varianz sinkt mit zunehmendem Alter und zeigt eine abnehmende Schwankungsbreite. Sowohl zu symptomatischen als auch zu asymptomatischen Zeitpunkten nimmt die Parasitendichte mit zunehmendem Alter ab, so dass z. B. zehnjährige Kinder bereits bei wesentlich niedrigeren Parasitendichten Symptome aufweisen als jüngere Kinder.

3.3.2 Periodenprävalenz der Malariaepisoden

Die Periodenprävalenz gibt Auskunft darüber, bei wie vielen Individuen innerhalb des Beobachtungszeitraums mindestens eine Malariaepisode diagnostiziert wurde. Untersucht wurde der Zusammenhang zwischen Periodenprävalenz und Alter.

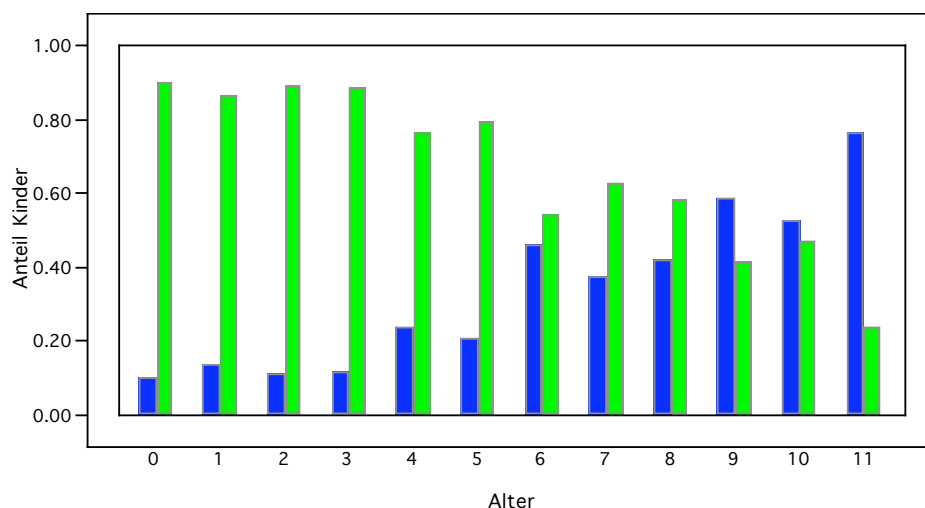


Abbildung 3.3.2 Periodenprävalenz

Anteil der Kinder in der jeweiligen Altersgruppe, bei denen

- mindestens einmal Parasiten aber keine Malariaepisode nachgewiesen wurde (blaue Säule)
- an einem oder mehreren Untersuchungszeitpunkten Malaria diagnostiziert wurde (grüne Säule).

Erst ab einem Lebensalter von neun Jahren ist innerhalb eines Altersjahrgangs die Zahl der Kinder, bei denen während des 31-wöchigen Beobachtungszeitraums kein Mal eine Malariaepisode festgestellt wurde, größer als die der Kinder, bei denen mindestens einmal Malaria diagnostiziert wurde. Bei mehr als 80% der Ein- bis Dreijährigen wurde mindestens einmal Malaria festgestellt.

3.3.3 Bildung von Altersgruppen

Aufgrund der deutlichen Abhängigkeit der Parasitämie, der Parasitendichte, der Varianz der Parasitendichte, der Malariaepisoden und der Periodenprävalenz vom Alter (vgl Abb. 3.3.1a-d und Abb. 3.3.2) wurde folgende Einteilung in Altersgruppen vorgenommen: Säuglinge (6-11 Monate), ein- bis dreijährige, vier- bis achtjährige und neun- bis elfjährige Kinder (Tabelle 3.3.3).

Tabelle 3.3.3 Anzahl (n) und Anteil der Kinder pro Altersgruppe, bei denen mindestens einmal Malaria diagnostiziert wurde

	< 1Jahr	1-3 Jahre	4-8 Jahre	9-11 Jahre
n Malaria /n total (Anteil Kinder mit Malaria)	9/13 (0,69)	88/101 (0,87)	126/192 (0,65)	34/86 (0,4)

3.4 Dauer zwischen Nachweis einer Parasitämie und Diagnose einer Malariaepisode

Bei allen Kindern, bei denen Malaria aufgetreten war, wurde untersucht, über welchen Zeitraum kontinuierlich Parasiten nachweisbar waren, bevor Malaria diagnostiziert wurde. Pro Kind wurde jeweils nur die erste Malariaepisode ausgewertet. Die Auswertung erfolgte ab Studienwoche 2. Hatte ein Kind in Studienwoche 31 einen positiven Ausstrich, so wurde dies als zensierter Wert betrachtet.

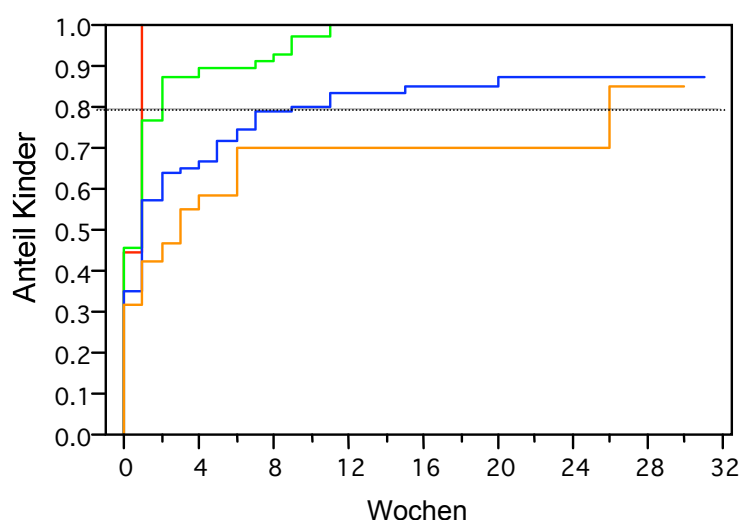


Abbildung 3.4 Zeitraum zwischen Parasitennachweis und Malariaepisode

Mittlere Zeit der Parasitämie in Wochen bis Diagnosestellung Malaria :

<1Jahr (rot): 1 Woche (25.Perzentile: 0; 75.Perzentile: 1), erkrankt 9, zensiert 0;

1-3 J. (grün): 1 Woche (25.Perzentile: 0; 75.Perzentile: 1), erkrankt 86, zensiert 4;

4-8 J. (blau): 1 Woche (25.Perzentile: 0; 75.Perzentile: 7), erkrankt 118, zensiert 3 8;

9-11 J. (braun): 3 Wochen(25.Perzentile: 0; 75.Perzentile: 26), erkrankt 34, zensiert 23.

10 Kinder mit Diagnose Malaria in Studienwoche 1 wurden nicht berücksichtigt.

Wilcoxon Chi-Quadrat 28,35 ; $p < 0,0001$

Untersucht man die Dauer der Parasitämie vor Diagnose einer Malariaepisode, zeigt sich ein signifikanter Einfluss des Alters. Aus der Kaplan-Meier-Kurve (Abbildung 3.4) wurde die 80. Perzentile als Vergleichsparameter mit dem höchsten Informationsgehalt ausgewählt. Während bei 80 % der unter Einjährigen die Zeit von Parasitennachweis bis Malariaepisode eine Woche betrug, lag sie bei Ein- bis Dreijährigen bei zwei Wochen, bei Vier- bis Achtjährigen bei 9 Wochen und bei Neun- bis Elfjährigen bei 26 Wochen.

Von den Kindern, bei denen die Diagnose Malaria gestellt wurde, erlitten ihre erste Malariaepisode zugleich mit dem Nachweis von Plasmodien 44 % der Säuglinge, 46 % der Ein- bis Dreijährigen, 35 % der Vier- bis Achtjährigen und 32 % der Neun- bis Elfjährigen. Die übrigen Kinder hatten mindestens eine Woche oder wesentlich länger Parasiten im Blut, ohne zu erkranken.

3.5 Beziehung zwischen Malariaepisoden und Parametern der Parasitämie

3.5.1 Beziehung zwischen dem Auftreten mindestens einer Malariaepisode und Parametern der Parasitämie

Es wurde mit dem nicht-parametrischen Test nach Wilcoxon untersucht, inwiefern Unterschiede zwischen den Kindern, bei denen mindestens eine Malariaepisode diagnostiziert worden war, und denen, die niemals erkrankt waren, hinsichtlich der anderen Parasitenparameter bestehen.

Tabelle 3.5.1 Qualitative Unterschiede verschiedener parasitologischer Parameter bei Kindern mit und ohne Malariaepisoden, stratifiziert nach Alter

	< 1 Jahr	1-3 Jahre	4-8Jahre	9-11Jahre
Zahl der Kinder mit/ohne Malaria	9 / 4	88 / 13	126 / 66	34 / 52
jeweiliger Anteil der Kinder mit Parasitämie	0,42 / 0 p = 0,005 *	0,6 / 0,15 p = 0,001 *	0,57 / 0,66 p = 0,1	0,48 / 0,47 p = 0,29
jeweiliger Anteil der Kinder mit asymptomatischer Parasitämie	0,31 / 0 p = 0,005 *	0,48 / 0,15 p = 0,02 *	0,49 / 0,66 p = 0,002 *	0,43 / 0,47 p = 0,07
Median der Höhe der Parasitendichte (log Parasiten/ μ l)	2,1 / 0,9 p = 0,005 *	2,16 / 1,08 p = 0,0002 *	1,98 / 2,04 p = 0,52	1,65 / 1,60 p = 0,91
Median der Varianz der Parasitendichte	1,47 / 0 p = 0,005 *	1,28 / 0,57 p = 0,0004 *	0,95 / 0,74 p = 0,0002 *	0,81 / 0,59 p = 0,016 *

* = signifikant

Es wird deutlich, dass die Parasitämie, die asymptomatische Parasitämie sowie die Parasitendichte bei unter Einjährigen und ein- bis dreijährigen Kindern mit Malariaepisoden signifikant erhöht sind. Auch hatten in diesen Altersgruppen

die Kinder, bei denen mindestens eine Malariaepisode festgestellt wurde, häufiger Parasiten als die Kinder, die nie erkrankten (asymptomatische Parasitämie). Bei vier- bis achtjährigen und neun- bis elfjährigen Kindern zeigt sich kein relevanter Unterschied. Allein die Varianz der Parasitendichte ist in allen Altersgruppen signifikant höher bei den Kindern mit mindestens einer Malariaepisode als bei den Kindern, bei denen niemals eine Malariaepisode diagnostiziert wurde.

3.5.2 Beziehung zwischen der Häufigkeit von Malariaepisoden und Parametern der Parasitämie

Im nächsten Schritt sollte herausgefunden werden, wie ausgeprägt die qualitativen Unterschiede sind. Das Auftreten von Malariaepisoden bei einem Kind wurde in Beziehung gesetzt zu Häufigkeit der Parasitämien und Höhe und Varianz seiner Parasitendichten (Tabelle 3.5.2). Die Stärke der Assoziation zwischen den genannten Parametern und der Häufigkeit von Malariaepisoden wurde mit einer nonparametrischen Multivarianzanalyse gemessen.

Tabelle 3.5.2 Assoziation parasitologischer Parameter mit der Anzahl Malariaepisoden (Multivarianzanalyse)

	<1Jahr (n = 13)		1-3 Jahre (n = 101)		4-8 Jahre (n = 192)		>=9 Jahre (n =86)	
	K τ b	p	K τ b	p	K τ b	p	K τ b	p
Parasitämie	0,86	=<0,01*	0,24	=<0,01*	- 0,10	<0,05*	- 0,11	0,19
asymptomatische Parasitämie	0,81	=<0,01*	0,07	0,3	- 0,21	=<0,01*	- 0,18	<0,05*
Parasitendichte	0,84	=<0,01*	0,26	=<0,01*	- 0,02	0,64	- 0,02	0,81
Varianz der Parasitendichte	0,55	<0,05*	0,28	=<0,01*	0,24	=<0,01*	0,21	=<0,01*

K τ b = Kendall tau b, * = signifikant

Stratifiziert man für Alter, so sieht man, dass sich der Zusammenhang zwischen dem Vorhandensein von Parasiten und der Anzahl der Malariaepisoden mit zunehmendem Alter verschiebt. Es zeigt sich, dass Kleinkinder eine positive Assoziation zwischen Parasitämie und Parasitendichte und Häufigkeit von Malariaepisoden haben, während sich die Beziehung zwischen Parasitämie und Häufigkeit von Malariaepisoden bei älteren Kindern (4 bis 8 Jahre) umgekehrt

darstellt. Das heißt, je seltener bei älteren Kinder Parasiten im Blut nachweisbar sind, desto öfter haben sie Malariaepisoden; allerdings ist diese Assoziation nur schwach ausgeprägt (Korrelationskoeffizient -0,1). Diese Assoziation gilt auch für Parasitämien zu einem Zeitpunkt, an dem keine Malariaepisode festgestellt wurde (vier- bis achtjährige und neun- bis elfjährige Kinder), und hier ist sie stärker ausgeprägt (τ -0,21, τ -0,18). Hervorzuheben ist, dass eine positive Assoziation zwischen dem Auftreten von Malariaepisoden und der Varianz der Parasitendichten für alle Altersgruppen signifikant nachzuweisen war.

3.6 Nähere Charakterisierung der Varianz

Man kann vermuten, dass die Varianz bei Kindern mit Malariaepisoden auf zweierlei Weise beeinflusst wird, erstens durch höhere Parasitendichten bei Malariaepisoden und zweitens durch Absenken der Parasitendichte durch Einnahme von Malariamedikamenten.

Deshalb wurde untersucht, ob die unter 3.5.2 gefundene Assoziation auch besteht, wenn man die Varianz der Parasitendichten zu Nicht-Malariazeitpunkten betrachtet.

Tabelle 3.6 Assoziation der Anzahl von Malariaepisoden mit der Varianz der Parasitendichte zu Nicht-Malariazeitpunkten

	<1Jahr (n = 13)		1-3 Jahre (n = 101)		4-8Jahre (n = 192)		9-11 Jahre (n = 86)	
	K	p	K	p	K	p	K	p
Varianz der Parasitendichte zu Nicht-Malariazeitpunkten	0,52	0,017	0,2	0,004	0,13	0,009	0,14	0,09

Es zeigt sich, dass ebenfalls eine Assoziation zwischen der Häufigkeit von Malariaepisoden und der Varianz der Parasitämie zu Nicht-Malariazeitpunkten besteht. Diese Assoziation ist in allen Altersgruppen zwar schwächer als die unter 5.2, aber dennoch signifikant, außer bei den neun- bis elfjährigen Kindern.

4 Diskussion

4.1 Kohorte

Die Verlaufsbeobachtung der vorliegenden Studie wurde durchgeführt, um Geschwisterkinder hinsichtlich ihrer Empfänglichkeit oder Resistenz gegenüber Malariaparasitämien und klinischen Malariaepisoden zu charakterisieren. Das Hauptziel der Studie ist die Identifikation bislang nicht bekannter genetischer Faktoren, die diese Empfänglichkeit beeinflussen.

Das Vorhandensein von genetischen Faktoren der Sichelzell-Anlage Hämoglobin S (Fleming 1979), Hämoglobin C (Modiano et al. 2001, Rihet et al. 2004), α -Thalassämie (Flint et al. 1986) und G6PD (Ruwende et al. 1995), von denen zum Teil seit vielen Jahren bekannt ist, dass sie Einfluss auf die Empfänglichkeit für Malaria haben, hätten in diesem Studienplan gestört. Deshalb wurden sie in einer Voruntersuchung bestimmt, und Familien, in denen solche Faktoren vorkamen, wurden nicht in die Studie aufgenommen. Die in der Vorauswahl ermittelte Höhe der Allelfrequenzen für Erythrozytenanomalien und die sich daraus ergebende begrenzte Auswahl möglicher Teilnehmer, nämlich nur 346 der 2551 untersuchten Familien, zeigt, wie weit verbreitet genetische Schutzmechanismen gegen Malariainfektion und -erkrankung sind, oder anders ausgedrückt, wie selektiert die vorliegende Studienpopulation ist. Bisherige Studien zur Epidemiologie oder Immunitätsentwicklung (Bloland et al. 1999, Cox et al. 1994, Trape et al. 1994, Genton et al. 1995, Quaki et al. 2000) untersuchten nicht den Genotyp der Kinder, obwohl dessen Einfluss auf das Auftreten von Malaria bekannt war oder zumindest schon vermutet wurde. Zum Beispiel liegen Allelfrequenzen für HbS in Afrika bei bis zu 20 % (Essential Malariology 2002, S. 253), was einer Heterozygotenhäufigkeit von etwa 10 – 40 % entspricht. Bei den genannten Studien können die epidemiologischen Ergebnisse durch bekannte, aber nicht untersuchte genetische Varianten beeinflusst worden sein.

In dieser Studie wurde zum ersten Mal in einem sehr großen Umfang in engen, nämlich wöchentlichen Abständen eine detaillierte Beobachtung der Studienteilnehmer hinsichtlich verschiedener malariolometrischer Parameter durchgeführt. Die Compliance in der Studiengruppe war sehr gut, und die hohe

Anzahl der auswertbaren Malariaausstriche pro Kind erlaubt es, die Daten als repräsentativ anzusehen.

Geschlechtsspezifische Unterschiede hinsichtlich Höhe der Parasitämie oder Häufigkeit von Malariaepisoden fanden sich erwartungsgemäß nicht. Die Distrikte Asante Akim North und Sekyere East sind Hyperendemiegebiete der Malaria, die Prävalenz der Parasitämie ist größer als 50 % (vgl. Browne et al. 2000). Nahezu alle Kinder (98 %) akquirierten Parasiten während des Untersuchungszeitraums; das heißt, die Möglichkeit, an Malaria zu erkranken, war für den allergrößten Teil der Kinder gegeben.

Die mittlere Prävalenz der leichten Malaria liegt bei 4,3 % in dieser Population. Eine Einordnung der von uns ermittelten Prävalenz fällt schwer, da es so gut wie keine Vergleichsdaten aus anderen Studien gibt, was durch die Schwierigkeit der Diagnosestellung bedingt sein kann oder auf einen Mangel an sicheren epidemiologischen Daten zurückzuführen ist.

Unsere Untersuchung basiert auf Ausstrich und Krankheitsdefinition, und diesbezüglich können Einwände erhoben werden. Die Bestimmung der Parasitendichte im Ausstrich ist nicht eindeutig, denn mehrmaliges Auszählen des gleichen Ausstriches kann Differenzen hervorbringen, wobei ein Unterschied bis zum 1,5fachen Logarithmus als tolerabel angesehen wird (D'Alessandro et al. 1995). Dies hebt die Unzulänglichkeit eines einzigen Malariaausstriches zur Diagnosestellung hervor und zeigt, dass die Bestimmung der Parasitendichte mit großen Unsicherheiten behaftet ist. Dennoch ist der Ausstrich nach wie vor Goldstandard aus Mangel an genauso einfachen, auch in nicht laborreiner Umgebung durchführbaren Verfahren, und serielle Ausstriche eines Kindes innerhalb weniger Stunden sind meist aus logistischen Gründen nicht zu erhalten.

Durch die Verteilung aller Kinder auf drei Teams, die immer demselben Arzt zugewiesen waren, können Erfahrungsunterschiede zwischen den einzelnen Ärzten hinsichtlich der Beurteilung des klinischen Zustands eines Kindes relevant werden. Unterschiedliche klinische Kompetenz kann zu Übersehen oder Überinterpretation klinischer Befunde führen. Begleiterkrankungen wurden unter Umständen in unterschiedlichem Ausmaß erkannt, was gegebenenfalls zu Unterschieden bei der Zuordnung einer Fieberepisode zu einer Malariadiagnose

führte. Auch kannte der Arzt den Parasitenbefund des Kindes nicht, sondern stellte nur klinisch die Diagnose Malaria. Auf diese Art kann es zu einer Über- oder Unterdiagnostizierung von Malariafällen durch den Arzt gekommen sein mit folgender Über- und Unterbehandlung, wobei eine Überdiagnostizierung wahrscheinlicher ist (Rooth et al. 1992). Es wurde jedoch versucht, diese Verzerrung durch die Art der Definition einer klinischen Malariaepisode auszugleichen.

Ob in verschiedenen Dörfern, Familien und über den Studienzeitraum hinweg unterschiedliche Malariatransmission und -exposition vorlagen, können wir nicht beurteilen, da Daten zur entomologischen Inokulationsrate in der vorliegenden Studie nicht erhoben wurden. In zahlreichen Studien konnte ein direkter Zusammenhang zwischen der Höhe der entomologischen Inokulationsrate und der Höhe der Parasitämie (McElroy et al. 1997) bzw. dem Auftreten schwerer Malaria festgestellt werden (zusammengefasst von Snow und Marsh 2002). Das gilt unter epidemiologischen Aspekten und ist essentiell, um einen Zusammenhang zwischen Exposition und Morbidität und Mortalität der Gesamtbevölkerung erkennen zu können. Die individuelle Exposition der Kinder ist jedoch nur schwer oder gar nicht zu erfassen. Erkannt werden konnte auf jeden Fall die durch die Anwendung von Bettnetzen oder Fenstergittern bewirkte unterschiedliche Häufigkeit der Parasitämie, und damit war es möglich, eine Art Confounder auszuschließen.

Weitere Unterschiede zwischen einzelnen Dörfern hinsichtlich der Malariamorbidität können durch äußere Einflussfaktoren wie Ernährungszustand der Bevölkerung, Entfernung zum Gesundheitszentrum und Einnahme von Malariamedikamenten in Eigenregie verursacht werden (Greenwood 1989) und sind nur schwer zu erfassen. Da in manchen Dörfern nur wenige Familien oder sogar nur eine einzige rekrutiert wurden, können mögliche Dorfunterschiede nicht eindeutig von möglichen Familieneinflüssen getrennt werden. Bei der Phänotypisierung für die Kopplungsanalyse müssen diese Faktoren berücksichtigt werden. Allerdings basiert die genetische Untersuchung der Kinder auf intrafamiliären Vergleichen, so dass das eben Genannte relativiert wird.

4.2 Parasitendichte bei Malaria

Es konnte gezeigt werden, dass in der Studiengruppe ein Anstieg der Parasitendichte zu einer Malariaepisode hin erfolgte, zu anderen Zeitpunkten sind wöchentliche Schwankungen der Parasitendichte nachzuweisen, die jedoch kein Signifikanzniveau erreichen (siehe Abbildung 3.2; vgl. Cox et al. 1994). Allerdings findet im Zusammenhang mit einer diagnostizierten Malariaepisode nicht immer eine Erhöhung der Parasitendichte statt. Ein Absinken oder Nichtansteigen der Parasitämie kann möglicherweise durch eine Selbstbehandlung mit Chloroquin verursacht worden sein, wenn sie zwischen zwei Besuchen erfolgte und nicht erfasst wurde. Es gibt Fälle, bei denen eine hohe Parasitämie nicht mit Symptomen verknüpft war. Immerhin wurde bei 45% der Fälle, bei denen ein Anstieg um mehr als 50 000 Parasiten stattgefunden hatte, nicht gleichzeitig Malaria diagnostiziert, und auch in der Folgewoche wurde nur in fünf zusätzlichen Fällen eine Malariaepisode festgestellt. In keinem Fall wurde mit einem Malariamedikament behandelt. Diese Beobachtung steht im Gegensatz zu anderen Studien (Rogier et al. 1996, Missinou et al. 2003), in denen die Autoren ausschließen, dass es hohe asymptomatische Parasitämien geben kann. Die hier vorgelegten Daten sprechen dafür, dass es, wenngleich auch selten, asymptomatische Parasitämien mit einer hohen Parasitenzahl geben kann und dass diese asymptomatischen Parasitämien sich selbst terminieren.

4.3 Einfluss des Alters

Die Entwicklung von Teilimmunität in Malariaendemiegebieten, die bewirkt, dass die meisten Episoden klinischer Malaria und die höchsten Parasitendichten bei Kindern unter fünf Jahren erreicht werden, ist seit langem bekannt (Wilson et al. 1950, Williamson und Gillies 1978, Molineaux und Gramiccia 1980, vgl. Genton et al. 1995). In dieses Bild fügen sich auch die erhobenen Daten unserer Studienpopulation. Durch die Darstellung des Anteils der Parasitämie, der Parasitendichte, der Varianz der Parasitendichte, des Anteils der Malariaepisoden und der Parasitendichte zu Malariaepisoden und zu asymptomatischen Zeitpunkten (siehe Abbildung 3.3.1 a - e) in der jeweiligen Alterskohorte wird illustriert, wie sich die einzelnen malariometrischen Parameter mit zunehmendem Lebensalter verändern. Es wird deutlich, dass eine Einteilung in Altersgruppen (siehe Tabelle 3.3.3) unumgänglich ist: Säuglinge,

die aufgrund ihres Alters und noch am wenigsten entwickelten Immunsystems eine Sonderstellung einnehmen, Kinder zwischen ein und drei Jahren, die am stärksten unter Malaria leiden, ältere Kinder (4-8 Jahre), bei denen die Belastung durch klinische Symptome schon stark zurückgegangen ist und schließlich große Kinder (9-11 Jahre), die sich hauptsächlich durch asymptomatische Parasitämien auszeichnen. Erst in dieser Altersgruppe überwiegen Kinder, die nur asymptomatische Parasitämien haben.

4.3.1 Beziehung zwischen Parasitämie und Alter

Die Beobachtung, dass bei kleinen Kindern die meisten Parasitämien angetroffen werden, und diese dann mit zunehmendem Alter abfallen, ist seit langem bekannt und schon oft beschrieben (Bloland et al. 1999, Genton et al. 1995). Die in dieser Studie erhobenen Daten (vgl. Abbildung 3.3.1 a) verhalten sich erwartungsgemäß genauso.

4.3.2 Beziehung zwischen Parasitendichte und Alter

Auch der Verlauf der Parasitendichte im Altersgang ist schon wiederholt, wenn auch nicht so oft wie der der Parasitämie, beschrieben worden und findet sich bei uns genauso wieder. Die höchsten Parasitendichten werden wiederum bei dreijährigen Kindern gefunden; danach fallen die Parasitendichten jedoch schneller als die Parasitämien ab. Obwohl die Parasitämie eigentlich eine definierte, durch die mikroskopische Nachweisgrenze bedingte Parasitendichte ist, verhalten sich diese beiden Parameter unterschiedlich: Die Form der Teilimmunität, die sich gegen höhere Parasitendichten richtet, entwickelt sich früher als die Form der Teilimmunität, welche sich gegen niedrigere, aber mikroskopisch noch nachweisbare Parasitendichten (also Parasitämie) richtet. Vorstellbar könnte eine immunologische Toleranz von niedrigen Parasitendichten in der Größenordnung der mikroskopischen Nachweisbarkeit sein. Niedrige Parasitämien könnten auch ohne Adhärenz der infizierten Erythrozyten an Endothelzellen auftreten (vgl. *P. vivax*). Also wäre denkbar, dass eine Form der Immunität, bei welcher Antikörpern gegen Adhäsine von *P. falciparum* gebildet werden, eher auftritt als eine andere Form der Immunität, welche niedrige, aber noch mikroskopisch nachweisbare Parasitendichten (hier Parasitämien) verhindert.

4.3.3 Beziehung zwischen Varianz der Parasitendichte und Alter

Bei Inspektion der individuellen Parasitendichten über den gesamten Beobachtungszeitraum war aufgefallen, dass es Kinder gab, die kontinuierlich viele Parasiten hatten, solche, die wenige hatten mit mehrfachen Spitzen, manche, die fast nie Parasiten, aber einzelne Spitzen zeigten, und viele, die sich keinem Muster eindeutig zuordnen ließen (siehe Abbildung 3.1a - d). Eine optische Unterteilung war einerseits wegen der großen Fallzahl und andererseits wegen großer Variabilität nicht möglich, so dass letztendlich die Varianz am besten geeignet schien, um auf individueller Ebene das Schwanken der Parasitendichte zu erfassen. Eigentlich ist die Varianz ein mathematischer Parameter, der die Streuung einer Verteilung beschreibt. Hier wurde die Varianz als eigenständiger Wert behandelt, und die Streuung wurde als Ausdruck der Schwankungsstärke, der Dynamik der Parasitendichte, interpretiert.

Die Wahl dieses Parameters kann bezüglich seiner Zuverlässigkeit in Frage gestellt werden. Delley (Delley et al. 2000) hat in einer in Mali durchgeführten Studie herausgefunden, dass bei serieller Bestimmung der Parasitendichte diese innerhalb eines Individuums enorm schwankt und Unterschiede bis zum Faktor 1000 innerhalb von sechs Stunden auftreten können. Auch bestehe eine Abhängigkeit von Tages- und Jahreszeit. Der Einfluss der Tageszeit ist in der vorliegenden Studie als gering einzustufen, weil alle Messungen etwa zur gleichen Uhrzeit (innerhalb eines Zeitraums von zwei Stunden) stattfanden, bei den meisten Kindern morgens und nur bei manchen zur Mittagszeit.

Einschränkungen hinsichtlich der Übertragbarkeit der Studienergebnisse aus Mali bestehen darin, dass die Studiengruppe aus erwachsenen Männern bestand, die eine andere Teilimmunität aufweisen als Kinder, und dass dadurch die Dynamik der Parasitendichte beeinflusst sein kann. Ähnliche Ergebnisse für asymptomatische Infektionen bei Kindern findet man bei Färnert (Färnert et al. 1997), wo bei einigen Kindern täglich Unterschiede in der Parasitendichte und im Genotyp der Parasiten auftraten. In unserer Studie ist die Varianz aus allen gültigen, d.h. nicht unter Medikamenteneinfluss stehenden Messungen berechnet worden. Wegen der relativ großen Anzahl von Messwerten pro Kind (Median der auswertbaren Ausstriche = 28) kann davon ausgegangen werden,

dass alle Parasitendaten in ähnlichem Maße von Ungenauigkeit betroffen sind und somit trotz Vorbehalt Aussagen gemacht werden können.

Betrachtet man den Verlauf der Varianz im Altersgang (siehe Abbildung 3.3.1.c), so sieht man im Vergleich zu Malariaepisoden, Parasitendichte und Parasitämie einen neuen Verlauf: die Varianz nimmt nur bis zum zweiten Lebensjahr zu und fällt dann kontinuierlich ab, ein richtiges Plateau ist nicht erkennbar. Die Varianz ist gegebenermaßen vom geometrischen Mittelwert der Parasitendichte abhängig, deswegen auch höher bei kleinen Kindern als bei größeren, bietet aber Zusatzinformationen: Durch sie ist es nämlich möglich, das Schwanken der Parasitendichte zu erfassen, während andere, übliche malariometrische Parameter nicht in der Lage sind, eine Dynamik widerzuspiegeln.

4.3.4 Beziehung zwischen Krankheitsepisoden und Alter

Die Form der Teilimmunität, die sich als erste entwickelt, ist gegen die klinischen Symptome der Plasmodieninfektion gerichtet. Besonders gut untersucht ist dieser Zusammenhang für das Auftreten von schwerer Malaria (Snow et al. 1998). Säuglinge nehmen eine Sonderstellung ein. Sie sind durch maternale Antikörper und HbF während der ersten drei Lebensmonate hochgradig geschützt. Mit sechs Lebensmonaten ist im Allgemeinen die physiologische Adaptation an das Leben ex uteri abgeschlossen. Statt des fetalen Hämoglobins, dem ein protektiver Effekt gegen Parasitämie zugeschrieben wird (Pasvol et al. 1976), wird adultes Hämoglobin gebildet, und maternale Antikörper, die ebenso vor Parasitämie schützen können, sind abgebaut (Deloron et al. 1997). Die Entwicklung von Teilimmunität gegen klinische Episoden beginnt, nachdem der Nestschutz abgeklungen ist. Der immunologische Hintergrund besteht in der schrittweisen Akquisition von Antikörpern, die gegen Oberflächenproteine von Plasmodien gerichtet sind. Von schwerer Malaria weiß man, dass krankheitsverursachende Antigene weit verbreitet sind und sich gegen sie zuerst ein Antikörperrepertoire aufbaut. In wiefern diese Ergebnisse auf leichte Malaria übertragbar sind, ist nicht bekannt. In der vorliegenden Studie scheint der Erwerb von Krankheitsimmunität hauptsächlich bis zum vierten Lebensjahr abgeschlossen zu sein (vgl. Abbildung 3.3.1d). Vier- bis achtjährige Kinder weisen zwar einen deutlich niedrigeren Anteil an Malariaepisoden als unter Einjährige und Ein- bis Dreijährige auf, aber die Malariamorbidity ist in den

jeweiligen Altersjahrgängen immer noch höher als das alleinige Vorkommen von asymptomatischer Parasitämie (vgl. Abbildung 3.3.2). Hier wird deutlich, dass leichte Malaria durchaus auch eine Krankheit der älteren Kinder ist. Bei dieser Studie kann zum ersten Mal gezeigt werden, wie der Verlauf der Teilimmunität gegen leichte Malariaepisoden in einer Population, die frei von bekannten genetischen Schutzmechanismen ist, aussieht. Eine gewisse Parallelität zum Erwerben von Schutz gegen schwere Malaria ist zu erkennen, denn es sind die jungen Kinder, die am stärksten betroffen sind. Doch die Krankheitsimmunität gegen leichte Malaria ist nicht so ausgeprägt wie die gegen schwere und daher kann beobachtet werden, dass bei älteren Kindern noch Malariaepisoden in bedeutendem Ausmaß vorkommen.

4.3.5 Beziehung zwischen pyrogener Schwelle und Alter

Erwartungsgemäß wurden bei Malariaepisoden höhere Parasitendichten gemessen als zu nicht fieberhaften Zeitpunkten (siehe Abbildung 3.2). Auch hier zeigte sich ein Alterseffekt (siehe Abbildung 3.3.1e). Beachtenswert ist, dass bei jüngeren Kindern dieselbe Parasitendichte, die toleriert wird, bei älteren Kindern schon längst zum Auslösen von Fieber führt. Ältere Kinder tolerieren also nur weitaus geringere Parasitendichten als jüngere Kinder. Dieses an sich schon bekannte Phänomen (Rogier et al. 1996) zeigte sich auch in der hier vorgestellten Studie.

4.3.6 Beziehung zwischen Inkubationszeit und Alter

Betrachtet man, über welchen Zeitraum hinweg bei einem Kind vor der Ausprägung von Symptomen schon Parasiten im Blut nachweisbar waren (siehe Abbildung 3.4), so wird deutlich, dass viele Kinder kurze Zeit nach Parasitennachweis erkrankten. Die mittlere Krankheitsdauer von einer Woche, die sich bei den Kindern bis acht Jahre findet, entspricht weitgehend der Inkubationszeit und stellt den am kürzesten zu messenden Zeitraum dieser Studie dar (abgesehen von sofort). Ein Übergang von einer lange andauernden asymptomatischen Phase in Krankheit kommt überwiegend bei Kindern vor, die älter als vier Jahre sind. Hinsichtlich der Fälle, bei denen der Zeitraum zwischen Auftreten von Parasiten im Blut und Malariadiagnose mehr als zwei Wochen umfasste, kann vermutet werden, dass entweder eine Neuinfektion stattgefunden

hat oder dass ein scheinbarer Effekt vorliegt, der darauf beruht, dass ältere Kinder statistisch einfach häufiger asymptomatische Parasitämien haben, oder aber, dass es in der Tat bei älteren Kindern länger zwischen Infektionsbeginn und Symptomatik dauern kann. Der Grund hierfür könnte die zunehmende Teilimmunität sein. Wenn, wie behauptet wird, die Teilimmunität auf Antikörpern gegen variable Malariaproteine auf der Oberfläche infizierter Erythrozyten, die für die Adhärenz von parasitierten Erythrozyten an Endothelien verantwortlich sind, beruht, und diese Adhärenz wichtig für die Vermehrung des Parasiten ist, könnte man indirekt schlussfolgern, dass ältere Kinder, die ein größeres Repertoire an solchen spezifischen Antikörpern besitzen, länger imstande sind, die Vermehrung des Parasitenklons zu kontrollieren. Erst wenn ein neues, dem Wirt unbekanntes Oberflächenantigen exprimiert und präsentiert wird und das Kind dagegen keine Antikörper hat, kann sich der Parasit sehr stark vermehren und es kommt zu klinischen Symptomen. Das bedeutet also, dass für kleinere Kinder, die noch nicht so viele Antikörper gegen verschiedene Oberflächenantigene haben, eine höhere Wahrscheinlichkeit besteht, von einem neuen, ihnen unbekanntem Isolat infiziert zu werden, das sich schnell vermehren kann und zu klinischen Symptomen führt. Werden hingegen ältere Kinder, die eine Vielzahl an Antikörpern besitzen, infiziert, muss der Parasit erst eine Reihe verschiedener Oberflächenmoleküle exprimieren, bis er eines gefunden hat, gegen das noch keine Antikörper vorhanden sind. Dieses sequenzielle Testen dauert länger, als wenn er sich direkt stark vermehren kann und somit könnte man erklären, weshalb die Inkubationszeit für Malaria bei älteren Kindern länger ist (Kun et al. 2002). Um diese Annahme bestätigen zu können, müssten serielle Bestimmungen gegen Plasmodienoberflächenproteine mit den Proben der betroffenen Kinder durchgeführt werden.

Kinder, bei denen zu keinem Zeitpunkt die Diagnose Malaria gestellt wurde, wurden bei dieser Untersuchung nicht berücksichtigt. Es ist anzunehmen, dass sie sporadische Parasitämien oder Perioden asymptomatischer Parasitämie von unbekannter Dauer hatten, die eben nicht zu Symptomen führten. Bruce (Bruce et al. 2000) fand bei jüngeren Kindern in Papua Neuguinea eine längere Dauer von asymptomatischer Parasitämie als bei älteren und erklärt den Unterschied mit dem Vermögen der älteren Kinder, die Parasitämie besser kontrollieren und

beenden zu können aufgrund ihres besser ausgeprägten Immunsystems. Krankheit war jedoch kein Endpoint der Studie in Papua Neuguinea, sondern führte sogar zum Ausschluss, so dass kein direkter Vergleich mit unseren Daten aus Ghana gezogen werden kann.

4.4 Beziehung zwischen Malariaepisoden und Parametern der Parasitämie

Die Untersuchung der Frage, ob es ein oder mehrere Merkmale gibt, die während des Beobachtungszeitraums in Zusammenhang stehen mit Auftreten und Häufigkeit von Malariaepisoden, ergab, dass in unterschiedlichen Altersgruppen verschiedene parasitologische Merkmale mit der Diagnose Malaria verknüpft sind. Im Folgenden wird im Einzelnen auf diese Merkmale und ihre Beziehung zu Malariaepisoden eingegangen.

Untersucht man die Abhängigkeit zwischen Parasitämie und Auftreten und Häufigkeit von Malariaepisoden, so sieht man, dass ein Zusammenhang nur bei unter einjährigen und ein- bis dreijährigen Kindern gegeben ist (siehe Tabelle 3.5.1 und 3.5.2). Bei vier- bis achtjährigen Kindern findet sich eine relativ schwache negative Assoziation zu der Häufigkeit von Malariaepisoden (siehe Tabelle 3.5.2). Das entspricht, allerdings in umgekehrter Assoziation, dem Ergebnis von Färnert, die bei einer Studie an 21 Kindern in Tansania zeigen konnten, dass in der Gruppe der älteren Kinder diejenigen, die öfter Parasiten haben, seltener Malariasymptome aufweisen (Färnert et al. 1999). Dieses bestätigt den in unseren Ergebnissen gefundenen Trend. Der beschriebene Zusammenhang scheint sich noch zu verstärken, wenn man nur asymptomatische Parasitämien betrachtet. Hier tritt allerdings ein Effekt auf, der vermeintlich darstellt, dass ältere Kinder (4-8 und >9 Jahre), die nie an Malaria erkrankten, öfter asymptomatische Parasitämien hatten als ihre Altersgenossen, die an Malaria erkrankten (siehe Tabelle 3.5.2). Dieses kommt allerdings dadurch zustande, dass bei Betrachtung der asymptomatischen Parasitämien alle Zeitpunkte, an denen Malaria auftrat und Parasiten vorlagen, in der Gruppe der erkrankten Kinder herausgenommen wurden, sich so ihr Gesamtanteil der positiven Malariaausstriche verringerte (vgl. Tabelle 3.5.1) und es im Folgenden zu einer scheinbaren negativen Assoziation zwischen asymptomatischer Parasitämie und Häufigkeit von Malaria gekommen ist.

Bemerkenswert ist außerdem, dass unter einjährige und ein- bis dreijährige Kinder, bei denen zu irgendeinem Untersuchungstermin Malaria diagnostiziert wurde, häufiger asymptomatische Parasitämien hatten als die Kinder, die zu keinem Mal als malariakrank beurteilt wurden (siehe Tabelle 3.5.1). Diese Ergebnisse können so gedeutet werden, dass ältere Kinder durch Parasitämien eine kontinuierliche Stimulation ihres Immunsystems erhalten und sie dies vor klinischer Malaria schützt (Druilhe und Perignon 1994), wohingegen jüngere Kinder eine größere Wahrscheinlichkeit besitzen, zu erkranken, je häufiger sie Parasiten im Blut haben.

Die mittlere Parasitendichte verhält sich genauso wie die Parasitämie, ist allerdings nur bei unter einjährigen und ein- bis dreijährigen Kindern positiv mit dem Auftreten (siehe Tabelle 3.5.1) und der Häufigkeit (siehe Tabelle 3.5.2) von Malariaepisoden verbunden. Eine negative signifikante Assoziation findet sich nicht. Die mittlere Höhe der Parasitendichte während des Beobachtungszeitraums bietet also keinerlei Information darüber, ob und wie sehr ein älteres Kind (>4 Jahre) an leichter Malaria erkrankt.

Die Varianz ist der einzige Parameter, der sowohl bei der qualitativen als auch quantitativen Beobachtung (Tabelle 3.5.1 und 3.5.2) - wo untersucht wird, welche Parameter in welcher Altersgruppe mit dem Auftreten oder der Häufigkeit von Malariaepisoden verknüpft sind - zwar mit abnehmender Stärke, aber dennoch in allen Altersgruppen, signifikant mit dem Anteil an Malariaepisoden assoziiert ist. Der Erwartung hätte es dagegen entsprochen, wenn die Höhe der mittleren Parasitendichte oder die Parasitämie mit Vorkommen und Häufigkeit der Malariaepisoden verbunden wäre.

Bemerkenswert ist, dass auch die Varianz, die aus allen Messwerten außer denen, die einer Malariaepisode zugeordnet werden können, berechnet wurde, doch deutlich, wenngleich schwächer, in den meisten Altersgruppen mit dem Anteil an Malariaepisoden assoziiert ist (siehe Tabelle 3.6.1). Einzuwenden ist, dass bei jüngeren Kindern häufiger Malaria diagnostiziert wurde als bei älteren und somit weniger Parasitenwerte zur Varianzberechnung zu Nicht-Malariazeitpunkten bei den jüngeren Kindern zur Verfügung standen, was zu einem stärkeren Effekt der Erhöhung beigetragen haben kann.

Durch den Vergleich der Gesamtvarianz mit der Varianz zu Nicht-Malariazeitpunkten lässt sich ein Teil der Frage, in welchem zeitlichen Verhältnis

das Schwanken der Parasitendichte zur klinischen Episode steht, klären. Offensichtlich schlägt sich der Anstieg der Parasitendichte bei einer Malariaepisode in der Varianz nieder, andererseits aber besteht auch eine Bewegung in der Parasitendichte bei den Kindern, bei denen Malaria diagnostiziert wurde, ohne dass man diese Bewegung der Malariasymptomatik zeitlich zuordnen kann. Die Varianz setzt sich also aus zwei Komponenten zusammen, einerseits spiegelt sie den Anstieg der Parasitendichte bei Malaria wider, andererseits scheint es eine Hintergrundbewegung der Parasitendichte zu geben.

Zusammenfassend lässt sich also sagen, dass keiner der üblichen epidemiologischen Parameter in allen Altersgruppen sinnvoll mit der Häufigkeit von Malariaepisoden assoziiert ist. Als einziger Messwert ist die Varianz, die als neu eingeführter Parameter die Dynamik der Plasmodieninfektion berücksichtigen soll, in allen Altersgruppen mit der Diagnose Malaria verbunden.

4.5 Schlussfolgerung und Ausblick

Wie kompliziert die Entwicklung von Immunität gegen Malaria ist und welche Faktoren hierfür eine Rolle spielen, wird erst allmählich immer deutlicher. Die Entwicklung von Teilimmunität ist bereits seit den Anfängen der Malariaforschung beschrieben worden. Im Laufe der Jahre sind doch immer neue Aspekte hinzugekommen. Die Rolle der erworbenen Immunität wird im Rahmen der Impfstoffsuche immer weiter erforscht. Auch wird, ausgehend von Entdeckungen bei schwerer Malaria, die Rolle der angeborenen Immunität auch bei leichter Malaria weiter untersucht. Dass der Regulation der Parasitendichte im Gesamtbild der Pathophysiologie der Malaria eine wichtige Rolle zukommt, ist mittlerweile unumstritten. Doch wie diese Regulation im Einzelnen funktioniert, ist noch nicht genau bekannt. Inzwischen ist es möglich geworden, Studien großen Umfangs durchführen und diese Ergebnisse auch verarbeiten zu können, wobei durch die dabei gewonnene Datenmenge eine höhere Genauigkeit erzielt und die Aussagefähigkeit der Ergebnisse verbessert werden. In diesem Sinne sind auch die hier präsentierten Ergebnisse zu sehen.

Das an sich überraschendste Ergebnis unserer Studie ist, dass es einen Parameter zu geben scheint, die Varianz, mit dem sich die Kontrolle der

Parasitendichte quali- und quantifizieren lässt, dass dieser Parameter deutlich in allen Altersgruppen mit der Ausprägung von klinischen Symptomen verbunden ist und dass folglich eine Verbindung zwischen Parasitämie und Klinik auch bei älteren Kindern hergestellt werden kann. Dadurch wird deutlich, dass die Kinder, die nicht an Malaria erkrankten, sich außer diesem Merkmal durch ein weiteres von den Kindern, die erkrankten, unterscheiden: sie zeigen ein anderes Vermögen, die Parasitämie kontrollieren zu können. Worauf dieses Vermögen beruht, ist noch herauszufinden. Es gibt jedoch Ergebnisse von Geschwisterstudien, in denen Hinweise für eine genetisch bedingte Regulation der Parasitämie gefunden werden. Garcia (Garcia et al. 1998) konnte zeigen, dass es Hinweise auf ein komplex genetisches Modell gibt, das nicht einfachen mendelschen Erbgängen folgt, wodurch die Höhe der Parasitämie reguliert wird. In der gleichen Studie wurde deutlich, dass die genetische Kontrolle der Parasitämie bei Kindern im Gegensatz zu Erwachsenen eine viel größere Rolle spielt; denn bei Kindern, deren antikörpervermittelte Immunität gegen *P. falciparum* über Jahre hinweg aufgebaut wird, kommen genetisch determinierte Mechanismen der angeborenen Immunität deutlicher zutage als bei Erwachsenen. Es bleibt also abzuwarten, welche Erkenntnisse aus der Kopplungsanalyse unserer Studie gewonnen werden.

5 Zusammenfassung

Auch zu Beginn des 21. Jahrhunderts erkrankten weltweit jährlich 400-500 Millionen Menschen an der Infektionskrankheit Malaria, und für cirka 2 Millionen, vor allem Kinder, endet die Infektion tödlich. *Plasmodium falciparum* ist hauptverantwortlich für die schweren Verlaufsformen der Malaria, macht aber auch den größten Teil der leichten klinischen Malaria aus. Im Rahmen einer in Ghana durchgeführten Studie, die zum Ziel hatte, bisher unbekannte Empfänglichkeits- und Resistenzgene des Menschen für Plasmodieninfektion und leichte klinische Malaria zu beschreiben, ergab sich die Möglichkeit, den Zusammenhang zwischen klinischen Malariaepisoden und Malariaparasitämien zu untersuchen. Durch Voruntersuchungen wurden Familien ausgewählt, in denen keines der Elternteile genetische Varianten aufwies, von denen ein protektiver Effekt auf Malaria bekannt ist. 465 Kinder aus 128 Familien, die zwischen sechs Monate und elf Jahre alt waren, wurden in wöchentlichen Abständen über acht Monate hinweg hinsichtlich Parasitämie und Malariaepisoden untersucht.

Während einer Malariaepisode wurden signifikant höhere Parasitendichten gefunden als zu asymptomatischen Zeitpunkten. Parasitämie, Parasitendichte und Malariaepisoden ließen eine deutliche Altersabhängigkeit erkennen. Während Kinder bis drei Jahre den größten Anteil an Malaria und auch die höchsten Parasitendichten aufwiesen, hatten vier bis achtjährige Kinder trotz nahezu gleich hoher Parasitendichten weniger Malariaepisoden. Neun bis elfjährige Kinder hatten seltener und weniger Parasiten als jüngere Kinder und erkrankten kaum noch an Malaria. Erst ab dem neunten Lebensjahr blieben innerhalb einer Altersgruppe mehr Kinder gesund, als an Malaria erkrankten. Die Dauer der Parasitämie vor Auftreten klinischer Symptome war bei Säuglingen und kleinen Kindern am kürzesten, nahm mit steigendem Alter zu und betrug bei neun bis elfjährigen Kindern im Median drei Wochen. Keiner der üblichen malariologischen Parameter wie Parasitämie, asymptomatische Parasitämie oder Parasitendichte war in allen Altersgruppen signifikant mit Auftreten und Häufigkeit von Malariaepisoden assoziiert. Jedoch war die Varianz der Parasitendichte, die in dieser Arbeit eingeführt wurde, um das wöchentliche Schwanken der Parasitendichte zu erfassen, in allen Altersgruppen bei den

Kindern, die erkrankten, höher als bei Kindern, die nicht erkrankten. Zudem korrelierte die Varianz auch in allen Altersgruppen mit der Anzahl der Malariaepisoden. Neben der bekannten Abhängigkeit der leichten Malaria vom Lebensalter bestand also auch eine Abhängigkeit vom Schwanken der Parasitendichte.

6 Literaturverzeichnis

Abel L, Cot M, Mulder L, Carnevale P, Feingold J. Segregation analysis detects a major gene controlling blood infection levels in human malaria. *Am J Hum Genet* 1992; 50: 1308-1317

Allen SJ, O'Donnell A, Alexander NDE, Alpers MP, Peto TEA, Clegg JB, Weatherall DJ. α -Thalasaemia protects children against disease caused by other infections as well as malaria. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997; 94: 14736-14741

Armstrong Schellenberg JRM, Greenwood BM, Gomez P, Menendez C, Alonso PL. Diurnal variation in body temperature of Gambian children. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1994; 88: 429-431 (a)

Armstrong Schellenberg JRM, Smith T, Alonso PL, Hayes RJ. What is clinical malaria? Finding case definitions for field research in highly endemic areas. *Parasit Today* 1994; 10: 439-442 (b)

Baird JK. Age-dependent characteristics of protection v. susceptibility to *Plasmodium falciparum*. *Ann Trop Med Parasitol* 1998; 92: 367-390

Bayoumi RA. The sickle-cell trait modifies the intensity and specificity of the immune response against *P. falciparum* malaria and leads to acquired protective immunity. *Med Hypotheses* 1987; 22: 287-98

Bloland PB, Ruebush TK, McCormick JB, Ayisi J, Borgia DA, Oloo AJ, Beach R, Haweley W, Lal A, Nahlen B, Udhayakumar V, Campbell CC. Longitudinal cohort study of the epidemiology of malaria infections in an area of intense malaria transmission I. Description of study site, general methodology and study population. *Am J Trop Med Hyg* 1999; 60(4): 635-640

Bojang KA, Obaro S, Morison LA, Greenwood BM. A prospective evaluation of a clinical algorithm for the diagnosis of malaria in Gambian children. *Trop Med Int Health* 2000; 5: 231-236

Bouvier P, Rougemont A, Breslow N, Doumbo O, Delley V, Dicko A, Diakite M, Mauris A, Robert CF. Seasonality and malaria in an West African village: does high parasite density predict fever incidence? *Am J Epidemiol* 1997; 145:850-857

Brandts CH, Ndjave M, Graninger W, Kremsner PG. Effect of paracetamol on parasite clearance time in *Plasmodium falciparum* malaria. *Lancet* 1997; 350: 704-709

Bull PC, Lowe BS, Kortok M, Molyneux CS, Newbold CI, Marsh K. Parasite antigens on the infected red cell surface are targets for naturally acquired immunity to malaria. *Nat Med.* 1998; 4: 358-360

Bull PC, Kortok M, Kai O, Ndungu F, Ross A, Lowe BS, Newbold CI, Marsh K. *Plasmodium falciparum*-infected erythrocytes: agglutination by diverse Kenyan plasma is associated with severe disease and young host age. *J Infect Dis* 2000; 182: 252-259

Bull PC, Marsh K. The role of antibodies to *Plasmodium falciparum*-infected erythrocyte surface antigens in naturally acquired immunity to malaria. *Trends Microbiol* 2002; 10: 55-58

Browne ENL, Frimpong E, Sievertsen J, Hagen J, Hamekmann C, Dietz K, Horstmann RD, Burchard GD. Malariometric update for the rainforest and savanna of Ashanti region, Ghana. *Ann Trop Med & Parasit* 2000; 94: 15-22

Bruce MC, Donnelly CA, Packer M, Lagog M, Gibson N, Narara A, Walliker D, Alpers MP, Day KP. Age- and species-specific duration of infection in asymptomatic malaria infections in Papua New Guinea. *Parasitology* 2000; 121: 247-256

Chandramohan D, Jaffar S, Greenwood B. Use of clinical algorithms for diagnosing malaria. *Trop Med Int Health* 2002; 7: 45-52

Cox MJ, Kum DE, Tavul L, Narara A, Raiko A, Baisor M, Alpers MP, Medley GF, Day KP. Dynamics of malaria parasitaemia associated with febrile illness in children from a rural area of Madang, Papua New Guinea. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1994; 88: 191-197

Craig A, Scherf A. Molecules on the surface of the *Plasmodium falciparum* infected erythrocyte and their role in malaria pathogenesis and immune evasion. *Mol Biochem Parasitol*. 2001; 115(2): 129-43

D'Alessandro U, Leach A, Drakely CJ, Bennett S, Olaleye BO, Fegan GW, Jawara M, Langerock P, George MO Targett GAT, Greenwood BM. Efficacy trial of malaria vaccine SPf66 in Gambian infants. *Lancet* 1995; 346: 462-467

Delly V, Bouvier P, Breslow N, Doumbo O, Sagara I, Diakite M, Mauris A, Dolo A, Rougemont A. What does a single determination of malaria parasite density mean? A longitudinal survey in Mali. *Trop Med Int Health* 2000; 5: 404-412

Deloron P, Dubois B, Le Hesran JY, Riche D, Fievet N, Cornet M, Ringwald P, Cot M. Isotypic analysis of maternally transmitted *Plasmodium falciparum*-specific antibodies in Cameroon, and relationship with risk of *Plasmodium falciparum* infection. *Clin Exp Immunol* 1997; 110: 212-218

Druilhe P, Perignon JL. Mechanisms of defence against *P. falciparum* asexual blood stages in humans. *Immunol Lett* 1994; 41: 115-120

English M, Newton CRJC. Malaria: pathogenicity and disease in Perlmann P, Troye-Blomberg M, *Malaria Immunology*, Basel, Karger 2002, S. 50-64

Färnert A, Snounou G, Rooth I, Bjorkman A. Daily dynamics of *Plasmodium falciparum* subpopulations in asymptomatic children in a holoendemic area. *Am J Trop Med Hyg* 1997; 56: 538-547

Färnert A, Rooth I, Svensson Å, Snounou G, Björkman A. Complexity of *Plasmodium falciparum* infections is consistent over time and protects against clinical disease in Tanzanian children, *J Inf Dis* 1999; 179: 989-995

Fleming AF, Storey J, Molineaux L, Iroko EA, Attai ED. Abnormal haemoglobins in the Sudan savanna of Nigeria. I. Prevalence of haemoglobins and relationships between sickle cell trait, malaria and survival. *Ann Trop Med Parasitol.* 1979; 73: 161-172

Flint J, Hill AV, Bowden DK, Oppenheimer SJ, Sill PR, Serjeatson SW, Bana-Koiri J, Bhatia K, Alpers MP, Boyce AJ. High frequencies of alpha-thalassaemia are the result of natural selection by malaria. *Nature* 1986; 321: 744-750

Garcia A, Cot M, Chippaux JP, Ranque S, Feingold J, Demenais F, Avel L. Genetic control of blood infection levels in human malaria: Evidence for a complex genetic model. *Am J Trop Med Hyg* 1998; 58: 480-488

Genton B, Al-Yaman F, Beck HP, Hii J, Mellor S, Narara A, Gibson N, Smith T, Alpers MP. The epidemiology of malaria in the Wosera area, East Sepik Province, Papua New Guinea, in preparation for vaccine trials. I. Malario-metric indices and immunity. *Ann Trop Med Para* 1995; 89: 359-376

Gupta S, Snow RW, Donnelly CA, Marsh K, Newbold CI. Immunity to non-cerebral severe malaria is acquired after one or two infections. *Nature Medicine* 1999; 5: 340-343

Greenwood BM, Armstrong JR. Comparison of two simple methods for determining malaria parasite density. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1985; 85: 186-188

Greenwood BM, Bradley AK, Greenwood AM, Byass P, Jammeh K, Marsh K, Tulloch S, Oldfield FSJ, Hayes R. Mortality and morbidity from

malaria among children in a rural area of The Gambia, West Africa. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1987; 81: 478-486

Greenwood BM. The microepidemiology of malaria and its importance to malaria control. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1989; 83: Suppl 25-29

Horrocks P, Pinches R, Christodoulou Z, Kyes SA, Newbold CI: Variable var gene transition rates underline antigenic variation in malaria, *Proc Natl Acad Sci USA* 2004; 101: 11 129-11 134

Hviid L, Staasloe T, Nielsen MA, Theander TG. Specificity and cross-reactivity of *Plasmodium falciparum* variant surface antigen-specific antibody responses. *Infect Immun* 2003; 71: 2296

Konradsen F, van der Hoek W, Amerasinghe P, Amerasinghe F. Measuring the economic costs of malaria to households in Sri Lanka. *Am J Trop Med Hyg* 1997; 56: 656-660

Kun F, Missinou MA, Lell B, Sovric M, Knoop H, Bojowald B, Dangelmaier O, Kremsner PG. New emerging *Plasmodium falciparum* genotypes in children during the transition phase from asymptomatic parasitaemia to malaria. *Am J Trop Med Hyg* 2002; 66: 653-658

Kwiatkowski D. Febrile temperatures can synchronize the growth of *Plasmodium falciparum* *in vitro*. *J. Exp Med* 1989; 169: 357-361

Kyes S, Horrocks P, Newbold C. Antigenic variation at the infected red cell surface in malaria. *Annu Rev Microbiol.* 2001; 55: 673-707

Le Hesran JY, Personne I, Personne P, Fievet N, Dubois B, Beyemé M, Boudin C, Cot M, Deloron P. Longitudinal study of *Plasmodium falciparum* infection and immune responses in infants with or without the sickle cell trait. *Int J Epidemi* 1999; 28: 793-798

Marsh K, Forster D, Waruiru C, Mwangi I, Winstanley M, Marsh V, Newton C, Winstanley P, Warn P, Peshu N, et al. Indicators of life-threatening malaria in African children. *N Engl J Med*. 1995; 332: 1399-1404

Marsh K. Malaria- a neglected disease? *Parasitology* 1992; 104: S52-S69

May J, Meyer CG, Kun JFJ, Lell B, Luckner D, Dippmann AK, Biezele U, Kremsner PG. HLA class II factors are associated with *Plasmodium falciparum* merozoite surface antigen allele families. *J Inf Dis* 1999; 179: 1042-1045

McElroy PD, Beir JC, Oster CN, Onyango FK, Oloo AJ, Lin X, Beadle C, Hoffman SL. Dose- and time-dependent relations between infective *Anopheles* inoculation and outcomes of *Plasmodium falciparum* parasitemia among children in Western Kenya. *Am J Epi* 1997; 145: 945-955

McKenzie FE, Sirichaisinthop J, Scott Miller R, Gasser Jr RA, Wongsrichanalai C. Dependence of malaria detection and species diagnosis by microscopy on parasite density. *Am J Trop Med Hyg* 2003; 69: 372-376

Missinou MA, Lell B, Kremsner PG. Uncommon asymptomatic *Plasmodium falciparum* infections in Gabonese children. *CID* 2003; 36: 1198-1202

Modiano D, Luoni G, Sirima BS, Simporé J, Verra F, Konaté A, Rastrelli E, Olivieri A, Calissano C, Paganotti GM, D'Urbano L, Sanou I, Sawadogo A, Modiano G, Coluzzi M. Haemoglobin C protects against clinical *Plasmodium falciparum* malaria. *Nature* 2001; 414: 305-308

Molineaux L, Gramiccia G. The Garki project. Geneva: World Health Organisation 1980

Muhe L, Oljira B, Degefu H, Enquesellassie F, Weber MW. Clinical algorithm for malaria during low and high transmission seasons. *Arch Dis Child* 1999; 81: 216-220

Nielsen MA, Stassloe T, Kurtzhals JAL, Goka BQ, Dodoo D, Alifrangis M, Theander TG, Akanmori BD, Hviid L. *Plasmodium falciparum* variant surface antigen expression varies between isolates causing severe and non-severe malaria and is modified by acquired immunity. *Infect Immun* 2002; 70: 2982-2988

Ofori MF, Dodoo D, Staasloe T, Kurtzhals JAL, Koram K, Theander TG, Akanmori BD, Hviid L. Malaria-induced acquisition of antibodies to *Plasmodium falciparum* variant surface antigens. *Infect Immun* 2002; 70: 2982-2988

Pasvol G, Weatherall DJ, Wilson RJ, Smith DH, Gilles HM. Fetal haemoglobin and malaria. *Lancet* 1976; 12: 1269-1272

Piper KP, Hayward RE, Cox MJ, Day KP. Malaria transmission and naturally acquired immunity to PfEMP-1. *Infect Immun* 1999; 67: 6369-6374

Powell KR, Smith K, Eberly SW. Ear temperature measurements in healthy children using the arterial heart balance method. *Clin pediatri* 2001; 40: 333-336

Quaki I, Leke R, Befidi-Mengue R, Tsafack M, Bomba-Nkolo D, Manga L, Tchinda V, Njeungue E, Kouontchou S, Fogako J, Nyonglema P, Thuita L, Djokam R, Sama G, Eno A, Megnekou R, Metenou S, Ndoutse L, Same-Ekobo A, Alake G, Meli J, Ngu J, Tietche F, Lohoue J, Mvono JL Wansi E, Leke R, Folefack A, Bigoda J, Bomba-nkolo C, Titanji V, Walker-Abbey A, Hickey MA, Johnson AH, Wallace Taylor D. The epidemiology of *Plasmodium falciparum* malaria in two Cameroonian villages: Simbok and Etoa. *Am J Trop Med Hyg* 2000; 63: 222-230

Rihet P, Flori L, Tall F, Traoré AS, Fumoux F. Haemoglobin C is associated with reduced *Plasmodium falciparum* parasitaemia and low risk of mild malaria attack. *Hum Mol Gen* 2004; 13: 1-6

- Rogier C, Commenges D, Trape JF.** Evidence for an age-dependent pyrogenic threshold of *Plasmodium falciparum* parasitaemia in highly endemic populations. *Am J Trop Med Hyg* 1996; 54: 613-619
- Rooth I, Bjorkman A.** Fever episodes in a holoendemic malaria area in Tanzania: parasitological and clinical findings and diagnostic aspects related to malaria. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1992; 86: 479-482
- Ruwende C, Khoo SC, Snow RW, Yates SNR, Kwiatkowski D, Gupta S, Warn P, Allsopp CEM, Gilbert SC, Peschu N, Newbold CI, Greenwood BM, Marsh K, Hill AVS.** Natural selection of hemi- and heterozygotes for G6PD deficiency in Africa by resistance to severe malaria. *Nature* 1995; 376: 246-249
- Sachs J, Malaney P.** The economic and social burden of malaria. *Nature* 2002; 415: 680-685
- Schofield L, Hackett F.** Signal transduction in host cells by a glycosyl-phosphatidylinositol toxin of malaria parasites. *J Exp Med* 1993; 177: 145-153
- Smith T, Armstrong Schellenberg JRM, Hayes R.** Attributable fraction estimates and case definitions for malaria in endemic areas. *Stat Med* 1994; 13: 2345-2358
- Smith T, Beck H-P, Kitua A, Mwankusye S, Felger I, Fraser-Hurt N, Irion A, Alonso P, Teuscher T, Tanner M:** Age dependence of the multiplicity of *Plasmodium falciparum* infections and of other malariological indices in an area of high endemicity, *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1999; 93 (Supplement): S1/15-S1/20
- Snow RW, Nahlen B, Palmer A, Donnelly CA, Gupta S, Marsh K.** Risk of severe malaria among African infants: direct evidence of clinical protection during early infancy. *J Infect Dis* 1998; 177: 819-822

Snow RW, Marsh K. New insights into the epidemiology of malaria relevant for disease control. *Brit Med Bull* 1998; 54: 293-309

Snow RW, Marsh K. The consequences of reducing transmission of *Plasmodium falciparum* in Africa. *Adv Parasitol* 2002; 52: 235-264

Snow RW, Guerra CA, Noor AM, Myint HY, Hay SI: The global distribution of clinical episodes of *Plasmodium falciparum* malaria, *Nature* 2005; 434: 214-217

Trape JF, Rogier C, Konate L, Diagne N, Bouganali H, Canque B, Legros F, Badji A, Ndiaye G, Ndiaye P, Brahimi K, Faye O, Druilhe P, Da Silva LP. The Dielmo project: a longitudinal study of natural malaria infection and the mechanisms of protective immunity in a community living in a holoendemic area of Senegal. *Am J Trop Med Hyg* 1994; 51: 123-137

Trape JF, Rogier C. Combating malaria morbidity and mortality by reducing transmission. *Parasitol Today* 1996; 12: 236-240

Warrell DA, Gilles HM: *Essential Malariology*, fourth edition, Arnold 2002

White NJ, Chapman D, Watt G. The effects of multiplication and synchronicity on the vascular distribution of parasites in falciparum malaria. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1992; 86: 590-597

Wilson DB, Garnham PC, Swellengrebel NH. A review of hyperendemic malaria. *Trop Dis Bull* 1950; 47: 677-698

WHO/UNICEF. The Africa malaria report 2003. WHO/CDS/MAL/2003.1093

Williamson WA, Gilles HM. Malumfashi endemic diseases research project. II Malariometry in Malumfashi, Northern Nigeria. *Ann Trop Med Para* 1978;72: 323-328

Danksagung

Den Kindern aus Agogo, Kumawu und Umgebung gebührt größter Dank für ihre Tapferkeit und ihre Bereitschaft, jede Woche wiederzukommen.

Bei Herrn Professor Dr. Horstmann bedanke ich mich ausdrücklich für die Bereitstellung des Themas, die gute Betreuung und die Möglichkeit, unvergessliche Erfahrungen sammeln zu können.

Frau Dr. Jennifer Evans danke ich für die herzliche Betreuung in Kumasi und Hamburg und die anregenden Diskussionen.

Weiterhin bedanke ich mich bei den anderen Mitarbeitern des Tropeninstitutes, vor allem Dr. Christian Timmann und PD Dr. Jürgen May, die mir durch Diskussionen und Computerkniffe weitergeholfen haben.

Den KCCR - Mitarbeitern und Dr. Thomas Kruppa danke ich für die freundliche Aufnahme in Ghana.

Toni, Claudius und Bianca sei gedankt für die schöne spannende gemeinsame Zeit in Ghana und all die aufmunternden Gespräche.

Bei Jörn Friedrichs bedanke ich mich für die großartige Computerhilfe.

Verständnis und Unterstützung jeglicher Art, die ich von Mika und meinen Eltern erfahren habe, sind in Worten nicht aufzuwiegen.

Lebenslauf

Persönliche Daten

Julia Lenzen, geboren am 28.10.1975 in Homburg/Saar als Tochter von Marion und Peter Lenzen

Schule

1986 - 1992 Besuch des Albert-Schweitzer-Gymnasiums in Kaiserslautern
 1992 - 93 Schüleraustausch mit Youth for Understanding in Neuseeland,
 Besuch des Wairoa College
 1993 - 1995 Albert-Schweitzer-Gymnasium, Abitur

Studium

1995 - 1997 Studium der Medizin an der Ernst-Moritz-Arndt-Universität
 Greifswald, Physikum
 1997 - 2002 Studium der Medizin an der Technischen Universität Dresden
 SS 1999 Erasmusaustausch an die Universität Lund, Schweden
 5. Mai 2002 3. Staatsexamen

Famulaturen

03/1998 Innere Medizin am Missionsärztlichen Krankenhaus, Würzburg
 08/1999 Allgemeinmedizin, Gemeinschaftspraxis Dr. Bamberger,
 Kaiserslautern
 03/2000 Pädiatrie am Hobart General Hospital, Hobart, Tasmanien,
 Australien
 08/2000 Herz- und Thoraxchirurgie am Universitetssukehus Tromsø,
 Norwegen
 09/2000 Neurologie an der Universitätsklinik der TU Dresden

Praktisches Jahr

04 - 08/2001 Innere Medizin an der Universitätsklinik der TU Dresden
 08 - 12/2001 Chirurgie am Kantonsspital Stans, Nidwalden, Schweiz
 12 - 03/2002 Pädiatrie am Sligo General Hospital, Sligo, Irland

Promotion

05/2002 – 12/2002 Forschungsaufenthalt in Ghana für den praktischen Teil der
Doktorarbeit

02/2003 – 12/2003 Auswertung am Bernhard-Nocht-Institut für Tropenmedizin
Hamburg

Ärztliche Tätigkeit

2/2004 – 11/2005 Allmän Tjänstgöring (AiP) am Kärnsjukhuset Skövde,
Schweden

seit November 2005 Facharztausbildung an der Infektionsklinik am
Kärnsjukhuset Skövde, Schweden

Bisherige Publikation

"Genome-wide linkage analysis of malaria infection intensity and mild disease"
Timmann C, Evans JA, König IR, Kleensang A, Rüschemdorf F, Lenzen J,
Sievertsen J, Becker C, Enuameh Y, Kwakye K, Opoku E, Browne ENL, Ziegler A,
Nürnberg P, Horstmann RD; eingereicht bei PLoS Genetics 2006

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.