

UNIVERSITÄTSKLINIKUM HAMBURG-EPPENDORF

I. Medizinische Klinik und Poliklinik

Prof. Dr. med. Lohse

**Risikofaktoren afrikanischer Kinder für eine späte Anämie
nach mit Artesunat behandelter Malaria tropica**

Dissertation

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

vorgelegt von:

Svenja Fürst
aus Hamburg

Hamburg 2019

**Angenommen von der
Medizinischen Fakultät der Universität Hamburg am: 26.08.2019**

**Veröffentlicht mit Genehmigung der
Medizinischen Fakultät der Universität Hamburg.**

Prüfungsausschuss, der/die Vorsitzende: PD Dr. Jakob Cramer

Prüfungsausschuss, zweite/r Gutachter/in: Prof. Dr. Holger Rohde

Für meine Eltern und Großeltern

Inhaltsverzeichnis

I	Abkürzungsverzeichnis	6
II	Abbildungsverzeichnis	7
III	Tabellenverzeichnis	8
1	Einleitung	9
1.1	Epidemiologie der Malaria	10
1.2	Malaria	12
1.2.1	Entwicklungszyklus der Plasmodien	13
1.2.2	Klinik der Malaria tropica	14
1.3	Therapie der komplizierten Malaria tropica	17
1.3.1	Artemisinin	17
1.4	Bluttransfusionen bei Malaria	19
1.5	Zielsetzung	20
2	Material und Methoden	21
2.1	Studiengebiet Ghana	21
2.2	Ein- und Ausschlusskriterien der Studie	22
2.3	Rekrutierungsablauf	23
2.3.1	Anamnese	24
2.3.2	Klinik	25
2.4	Labor	25
2.4.1	Bestimmung der Parasitämien	25
2.5	Studienablauf	27
2.5.1	Follow-up der Kinder	27
2.6	Zusätzliche Daten	27
2.7	Datenanalyse	28
3	Ergebnisse	29
3.1	Charakteristika der eingeschlossenen Kinder	29
3.1.1	WHO-Kriterien einer schweren Malaria	31

3.1.2	Patientinnenausschlüsse	31
3.2	Verlauf der Anämie unter der Behandlung	32
3.2.1	Anteil der anämischen Kinder im Verlauf.....	32
3.2.2	Verlauf des mittleren Hb-Werts unter der Behandlung	34
3.3	Vergleichende Analysen von transfundierten und nicht-transfundierten Kindern	35
3.3.1	Kriterien für eine Transfusion.....	36
3.3.2	Risikofaktoren für eine Anämie an Tag 14.....	38
3.3.3	Nicht-transfundierte Kinder an Tag 14	39
3.3.4	Risikofaktoren für eine Anämie an Tag 28.....	42
3.3.5	Nicht-transfundierte Kinder an Tag 28	43
3.3.6	Transfundierte Kinder an Tag 28	45
3.4	Ergebnisse der multifaktoriellen Analyse.....	46
4	Diskussion	47
4.1.1	Rahmenbedingungen.....	47
4.2	Diskussion Ergebnisse	49
4.2.1	Bedeutung und Risikofaktoren von Malaria und Anämie	49
4.2.2	Ursachen Anämie	50
4.2.3	Risikofaktoren einer späten Anämie	51
4.2.4	Transfundierte und nicht-transfundierte Kinder im Vergleich.....	56
4.2.5	Artemisinin und späte Anämie	58
4.3	Schlussfolgerung	60
5	Zusammenfassung	61
6	Abstract.....	63
IV	Literaturverzeichnis.....	65
V	Danksagung.....	72
VI	Lebenslauf	73
VII	Eidesstattliche Versicherung	74

I **Abkürzungsverzeichnis**

ACT	–	Artemisinin-based combination therapy
BNITM	–	Bernhard-Nocht-Institut für Tropenmedizin
CRF	–	Case Report Form
DHA	–	Dihydroartemisinin
EDTA	–	Ethylendiamintetraessigsäure
EIR	–	entomologische Inokulationsrate
EVb	–	Erythrozytenverteilungsbreite
Hb	–	Hämoglobin
IQA	–	Interquartilsabstand
i.v.	–	intravenös
KATH	–	Komfo Anokye Teaching Hospital
KCCR	–	Kumasi Center for Collaborative Research in Tropical Medicine
KI	–	Konfidenzintervall
Mio.	–	Millionen
PADH	–	Post-Artemisinin Delayed Hemolysis
SD	–	Standardfehler

II Abbildungsverzeichnis

1. Kapitel

Grafik 1.1 Malariainzidenzen, World Bank (Stand: 2015) [1]

Grafik 1.2 Entwicklungszyklus der Plasmodien [2]

Grafik 1.3 Strukturformel Artemisinin [3]

Grafik 1.4 Strukturformel Artesunat [3]

Grafik 1.5 Strukturformel Artemether [3]

3. Kapitel

Grafik 3.1 Mittlere Hb-Werte im Verlauf der Tage mit Standardfehler

Grafik 3.2 Mittlere Hb-Werte von transfundierten und nicht-transfundierten Patientinnen im Verlauf der Tage mit Standardfehler

III Tabellenverzeichnis

2. Kapitel

Tab. 2.1 WHO-Kriterien einer schweren Malaria

3. Kapitel

Tab. 3.1 Kenndaten der eingeschlossenen Kinder

Tab. 3.2 WHO-Kriterien für schwere Malaria an Tag 0 bei den eingeschlossenen Kindern

Tab. 3.3 Anzahl der anämischen Kinder an den verschiedenen Tagen

Tab. 3.4 Anzahl der anämischen Kinder und ihr Hb an den verschiedenen Tagen

Tab. 3.5 Transfusionsfaktoren bei den eingeschlossenen Kindern

Tab. 3.6 Multifaktorielle Analyse der Indikationsfaktoren für eine Transfusion

Tab. 3.7 Anämie an Tag 14 bei transfundierten und nicht-transfundierten Kindern

Tab. 3.8 Vermeintliche Risikofaktoren für eine Anämie an Tag 14 bei nicht-transfundierten Kindern

Tab. 3.9 Vermeintliche Risikofaktoren für eine Anämie an Tag 14 bei transfundierten Kindern

Tab. 3.10 Anämie an Tag 28 bei transfundierten und nicht-transfundierten Kindern

Tab. 3.11 Vermeintliche Risikofaktoren für eine Anämie an Tag 28 bei nicht-transfundierten Kindern

Tab. 3.12 Vermeintliche Risikofaktoren für eine Anämie an Tag 28 bei transfundierten Kindern

Tab. 3.13 Multifaktorielle Analyse der Risikofaktoren

1 Einleitung

Mit 219 (KI: 203–262 Mio.) Millionen Krankheitsfällen 2017 weltweit ist Malaria eine der häufigsten Infektionskrankheiten [4]. Vor fast 200 Jahre wurde ihr Erreger in Constatine durch Alphonse Laveran 1880 entdeckt [5] und 18 Jahre später erstmalig der Zusammenhang des Malariaerregers und des Vectors Anopheles durch Ronald Ross [6] beschrieben. Zum aktuellen Zeitpunkt unterliegen laut World Malaria Report 2017, der von der Weltgesundheitsorganisation (WHO) herausgegeben wird, drei Milliarden Menschen auf der Welt dem Risiko an Malaria zu erkranken; 1,1 Milliarden sogar einem hohen Risiko [4]. Insgesamt starben 2017 ca. 451 000 Menschen weltweit an Malaria, 93% davon in der WHO Region Afrika [4]. Genaue Daten sind schwierig zu erheben, weil in vielen Endemieländern kein flächendeckendes Gesundheitssystem existiert und somit viele Krankheitsfälle nicht erfasst werden.

Die wichtigste Maßnahme zur Malariabekämpfung stellt die Prävention dar. Da sich die Entwicklung eines effizienten Impfstoffes als schwierig herausgestellt hat [7] und auch eine Chemoprophylaxe bei afrikanischen Kindern nur in einigen Studien einen signifikanten Nutzen vorweisen konnte [8], bleiben mit Insektiziden behandelte Moskitonetze [9], das Versprühen von Insektiziden in Innenräumen [10] und die intermittierende vorbeugende Behandlung während der Schwangerschaft [11] die wichtigsten vorbeugenden Maßnahmen. Dennoch hatten 2013 33 % der Risikopopulation im subsaharischen Afrika keinen Zugang zu einem mit Insektiziden behandelten Moskitonetz und 43 Prozent aller schwangeren Frauen erhielten keine Malariaprophylaxe [12].

Das größte Risiko an Malaria zu erkranken und zu sterben besteht für Kinder unter fünf Jahren im subsaharischen Afrika [12]. 2017 machten Kinder unter fünf Jahren weltweit 61 Prozent der Malariatoten aus [4]. Dies liegt an ihrer noch nicht ausgebildeten malariaspezifischen Immunität, die sich erst im Laufe ihrer ersten Lebensjahre entwickelt und sie dann vor schweren Malariaerkrankungen schützt.

Trotz dieser Zahlen sind in den letzten Jahren auch Erfolge erkennbar. So sanken die die Fallzahlen von Malaria im subsaharischen Afrika von 2000 bis 2015 um 12 Prozent [12]. Auch die Sterberaten sind in diesem Zeitraum global um 60

Prozent gesunken; in der WHO Region Afrika sogar um 54 Prozent. Die Inzidenz konnte global in den letzten drei Jahren jedoch nicht reduziert werden [4].

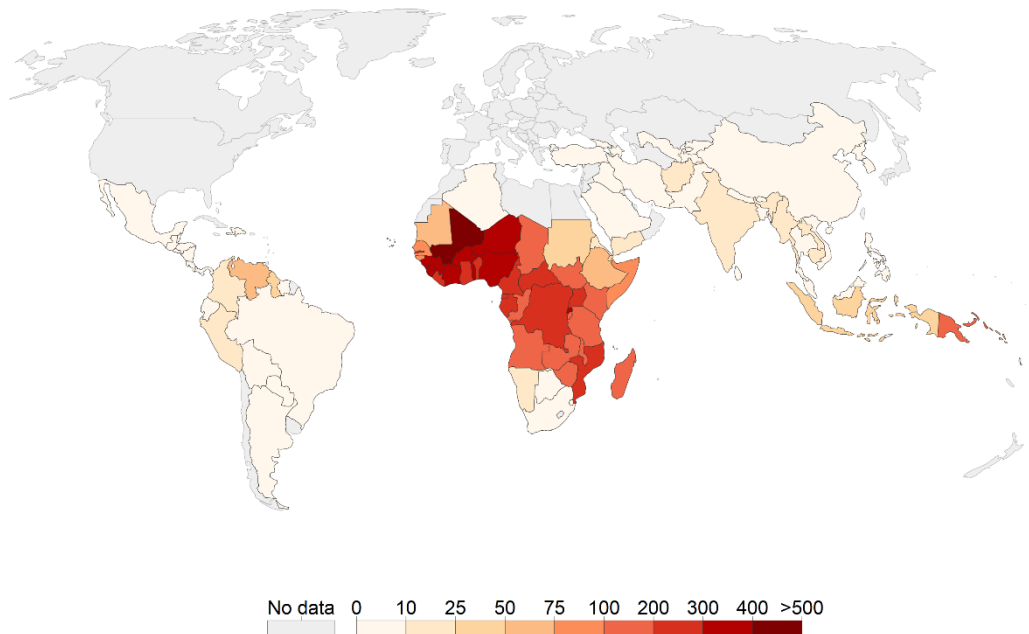
Ziel der WHO ist es bis 2020 die globalen Mortalitätsraten und die Inzidenz um mindestens 40 Prozent im Vergleich zu den Zahlen von 2015 zu senken [13]. Bis 2030 soll beides dann sogar um ≥ 90 Prozent gesunken sein. Zudem sollen 2020 mindestens zehn Länder malariafrei sein. Dies bedeutet, dass in der lokalen Bevölkerung eines Landes, in dem Malaria 2015 noch endemisch war, keine neuen Malariafälle auftreten.

Wie oben bereits erwähnt, sind die Mortalitätsraten besonders bei jungen Kindern hoch. Die Anämie stellt bei ihnen eine schwerwiegende und häufige Manifestation der schweren Malaria dar und kann auch nach erfolgreicher Behandlung weiter oder erneut auftreten [14, 15]. Ihre Ursachen sind noch nicht gänzlich erklärbar. Es ist jedoch wichtig diese Komplikation zu verhindern, da sie das Sterberisiko sowohl während der akuten Infektion, als auch noch ein bis zwei Monate nach dieser erhöht [16, 17]. Aus diesem Grund werden in der hier vorliegenden Studie Risikofaktoren afrikanischer Kinder für eine späte Anämie nach mit Artesunat behandelte Malaria tropica genauer untersucht. Es soll herausgefunden werden, welche Kinder genauer überwacht werden müssen um lebensbedrohliche späte Anämien zu entdecken und zu verhindern.

1.1 Epidemiologie der Malaria

Die Lokalisation der Malariaendemiegebiete ist eng an klimatische und geographische Bedingungen der Länder geknüpft. Konnte Malaria gegen Ende des zweiten Weltkriegs noch in Nordeuropa und –amerika gefunden werden, so ist sie heute besonders in den tropischen und subtropischen Regionen wie Afrika, Südamerika und Asien verbreitet [18].

Grafik 1.1 stellt grafisch die Malariainzidenzen der Kontinente Afrika, Amerika, Asien und Europa dar.



Source: World Bank – WDI

OurWorldInData.org/malaria/

Grafik 1.1 Inzidenz von Malaria (pro 1000 Risikopersonen) World Bank (Stand: 2015) [1]

Malariainzidenz bezeichnet die Anzahl an Neuerkrankungen mit Malaria pro Jahr und 1000 potentiell gefährdeter Personen

Ein enger Zusammenhang besteht ebenfalls zwischen der Malariaverbreitung und der Armut der jeweiligen Länder [19]. Eine schlechte Infrastruktur und eine nicht flächendeckende medizinische Versorgung erschweren sowohl die Prävention als auch die Behandlung von Malaria. Zudem sind Maßnahmen, wie zum Beispiel die Verteilung von mit Insektiziden behandelten Bettnetzen für die Risikobevölkerung, extrem teuer. Deshalb ist es für viele endemische Länder schwer diese Maßnahmen umzusetzen [20]. Ein weiteres Problem stellt das oft fehlende Bewusstsein der Menschen für die Wichtigkeit von Präventionsmaßnahmen gegen Malaria dar. So sind weit mehr Moskitonetze im Umlauf, als tatsächlich für den nächtlichen Mückenschutz genutzt werden [21].

Die Krankheit fordert besonders auf dem afrikanischen Kontinent weiterhin viele Leben. 90 Prozent aller Menschen, die an Malaria sterben, lebten in Afrika und 78 Prozent dieser Toten sind Kinder unter fünf Jahren [12]. Armut und Malariainfektionen bedingen sich gegenseitig [22]. Einerseits können sich viele Menschen in den subsaharischen afrikanischen Ländern aufgrund geringer durchschnittlicher Pro-Kopf-Einkommen nicht leisten, Geld für flächendeckende und suffiziente Präventionsmaßnahmen aufzubringen, wodurch es zu einer Zunahme der Malariainzidenz kommt. Andererseits verursachen

Malariainfektionen hohe Kosten für die einzelnen Länder und Privatpersonen und können so ihrerseits sowohl staatliche als auch private Armut bedingen.

In unserem Studiengebiet Ghana, welches im subsaharischen Afrika und damit im hochendemischen Malariagebiet liegt, wurden 2013 von der WHO 50 bis 100 Malariafälle pro 1000 dort lebenden Personen bestätigt [12]. Malaria kommt hier holoendemisch vor und ist nach wie vor eine der häufigsten Todesursachen [23]. Die meisten Toten fordert der Erreger *Plasmodium falciparum*, wobei 30 Prozent der zwei bis zehn jährigen ghanaischen Kinder mit diesem Erreger infiziert sind [12].

In der Ashanti Region, wo Kumasi liegt, herrscht ein tropisches Klima mit einer Durchschnittstemperatur von 26°C und zwei Regenzeiten, die zwischen Mai und Juli und im September auftreten [24]. Zwischen Dezember und April liegt die Trockenzeit oder der Harmattan, ein trockener und staubiger Wind aus den Wüsten nördlich von Ghana [25].

Es besteht ein enger zeitlicher Zusammenhang zwischen der Niederschlagsmenge und der Malariainzidenz, die nach vermehrtem Niederschlag mit einer Verzögerung von ca. 60 Tagen ansteigt. Dies entspricht ungefähr dem Zeitraum, in dem ein Vektor-Parasit-Wirt Zyklus theoretisch stattfinden kann. Natürlich ist der Zeitraum auch von der Anzahl der Anopheles Mücken, der Anzahl ihrer Brutplätze und ihrer Stechfrequenz abhängig [25].

Datenerhebungen im Mittleren Teil Ghanas aus den Jahren 2003 - 2005 zeigten eine Entomological Inoculation Rate (EIR) von 231 - 269 infektiösen Stichen pro Person pro Jahr [26]. Während der Hauptübertragungszeiten zwischen August und September sowie November und Dezember zeigte sich sogar ein Stich pro Tag pro Person (365 / Jahr) von einer mit *P. falciparum* infizierten Mücke [26].

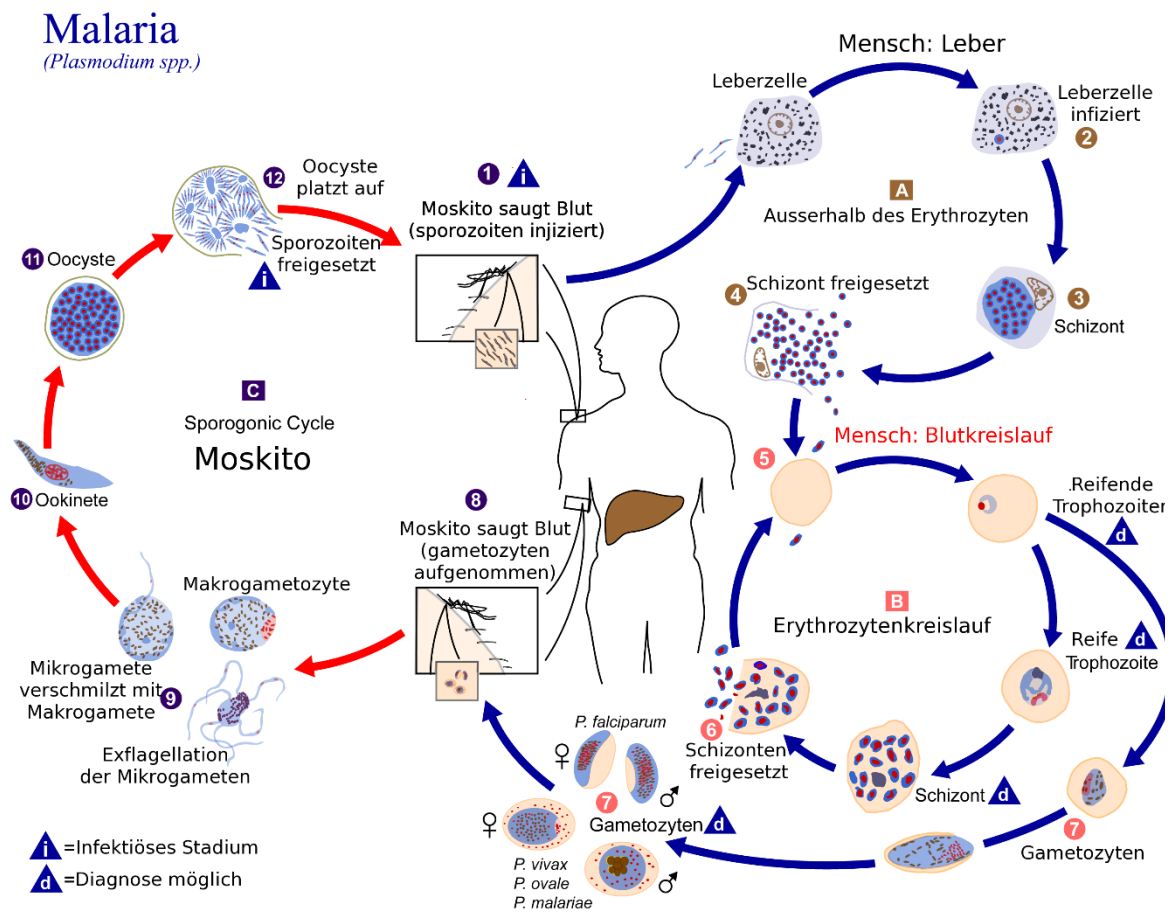
1.2 Malaria

Malaria ist eine parasitäre Erkrankung, die durch die Anopheles Mücke übertragen wird [27, 28]. Die Erreger sind Protozoen der Gattung Plasmodium. Es sind derzeit fünf humanpathogene Erreger bekannt: *Plasmodium vivax* und *Plasmodium ovale* (Malaria tertiana), *Plasmodium malariae* (Malaria Quartana), *Plasmodium knowlesi*

und *Plasmodium falciparum* (Malaria tropica). Das *P. ovale* unterteilt sich noch einmal in zwei genetisch unterschiedliche vom Krankheitsverlauf und Vorkommen aber ähnliche Subspezies; dem *P. ovale curtisi* und dem *P. ovale wallikeri* [29]. Die Malaria tropica ist mit Abstand die wichtigste, da sie die meisten Todesfälle und die schwersten Erkrankungen verursacht. Im Folgenden wird vermehrt auf sie eingegangen.

1.2.1 Entwicklungszyklus der Plasmodien

Wie in Grafik 1.2 dargestellt unterteilt sich der Entwicklungszyklus der Plasmodien in einen sexuellen Zyklus in der Mücke und einen asexuellen Zyklus im Menschen [27, 28].



Grafik 1.2 Entwicklungszyklus der Plasmodien [2]

Saugt die Mücke Blut eines infizierten Menschen, gelangen die männlichen und weiblichen Gametozyten aus den menschlichen Erythrozyten in ihren Magen. Dort werden sie zu Gameten, befruchten sich und wandern dann durch die Magenschleimwand in die Speicheldrüse der Mücke, um beim nächsten Saugakt

in Form von Sporozoiten in den Menschen zu gelangen. Dort wandern sie über das Blut in die Leber, wo jeweils ein Sporozoit in einen Hepatozyten eindringt, um sich dort fünf bis 14 Tage lang asexuell zu vermehren. Nach dieser Zeit platzt der Leberschizont und es werden Merozoiten frei, die nun Erythrozyten befallen. Dort reifen sie zu Schizonten heran, die Erythrozyten gehen zugrunde und eine neue Generation Merozoiten wird freigesetzt. Diese befällt anschließend weitere Erythrozyten. Einige wenige Merozoiten entwickeln sich in den Erythrozyten zu männlichen und weiblichen Gametozyten, die zur weiteren Entwicklung wieder in eine Anopheles Mücke gelangen müssen.

1.2.2 Klinik der Malaria tropica

Die Inkubationszeit der Malaria tropica beträgt in etwa zwei Wochen [28]. Die klinische Manifestation der Infektion hängt sehr stark von dem Immunstatus des Patienten ab. So kommt es in Hochendemiegebieten häufig vor, dass asymptomatische Erwachsene Malariaparasiten im Blut tragen. Wenn Symptome auftreten, sind sie meist unspezifisch und grippeähnlich. Glieder- und Kopfschmerzen, abdominelles Unwohlsein, Fieber, Schüttelfrost und Appetitlosigkeit sind häufig. Bei ständigen Reinfektionen und vorhandener Teilimmunität in Endemiegebieten, kann es zu einer chronischen Form der Malaria mit massiver Splenomegalie kommen [30]. Eine komplizierte Malaria kommt bei Erwachsenen, die in Endemiegebieten aufgewachsen sind, nur selten vor, da sie die erworbene Teilimmunität davor schützt [27]. Sie sorgt für eine Reduktion der Parasitämie auf ein oft mikroskopisch nicht mehr nachweisbares Niveau. Durch die Teilimmunität verlaufen Infektionen mit *P. falciparum* bei vielen Kindern in Endemiegebieten bereits ab einem Alter von fünf bis zehn Jahren milder und im Erwachsenenalter dann oft asymptomatisch.

Kommt es bei Kindern zu einer schweren Malaria (siehe Tab. 2.1), ist die Mortalität hoch. Erleiden die Kinder Atemstörungen oder Koma, sterben 14 Prozent beziehungsweise 12 Prozent der Kinder [31]. Jüngere Kinder leiden häufiger unter einer schweren Anämie, während es bei den Älteren eher zu einer zerebralen Beteiligung kommt [32]. 68 Prozent der Kinder mit einer schweren Anämie, waren unter 24 Monate alt, während 65 Prozent der Fälle mit zerebraler Malaria zwischen zwölf und 48 Monate alt waren.

1.2.2.1 Anämie

Unter einer Malariainfektion kommt es häufig zu einer Anämie, die sehr unterschiedlich ausgeprägt sein kann und besonders bei jungen Kindern auftritt [28]. Bei den unter zwei-jährigen stellt sie die häufigste Todesursache im Zusammenhang mit einer *P. falciparum* Infektion dar. Bei Kindern mit einer unkomplizierten Malaria tropica in Nigeria zeigten sich folgende Risikofaktoren für eine Anämie zum Zeitpunkt der Präsentation im Krankenhaus: ein Alter unter fünf Jahren, eine Krankheitsgeschichte von mehr als drei Tagen, Fieber, eine palpable Leber, eine Parasitämie über 10 000/μl Blut und die Anwesenheit von Gametozyten im Blut [33]. Bei Kinder, die zu Beginn der Infektion bereits anämisch waren oder bei denen die Malariatherapie keinen Erfolg hatte, dauerte die Normalisierung der Blutwerte und vor allem die des Hämoglobin (Hb) länger als den durchschnittlichen Zeitraum von vier bis fünf Wochen.

Oft besteht bei Kindern in Endemiegebieten schon vor der Malariainfektion eine Anämie, die durch verschiedene Faktoren bedingt sein kann [15, 34, 35]. In Westafrika stellen Eisenmangel, Schistosomiasis, Hakenwurmbefall und Hämoglobinopathien neben Malaria die häufigsten Ursachen dar.

Die malariabedingte Anämie entsteht durch verschiedene Mechanismen [36]. Zum einen spielt der vermehrte Abbau von Erythrozyten sowohl während, als auch nach der Malariainfektion, in der Entstehung der Anämie eine wichtige Rolle [28]. Es kommt durch die Vermehrung der Merozoiten in den Erythrozyten zu einem Platzen und somit zu einem Untergang der infizierten Erythrozyten [37]. Dies führt vor allem zu einer Anämie im frühen Krankheitsverlauf, die abhängig von der Höhe der Parasitämie ist. Zusätzlich kommt es durch die Malariainfektion zu einer geringeren Verformbarkeit sowohl infizierter als auch nicht infizierter Erythrozyten, wodurch es zu einer vermehrten Phagozytose und einem vermehrten Abbau infizierter und nicht-infizierter Erythrozyten in der Milz kommt [38-40].

Zum anderen führt eine verminderte Produktion von Erythrozyten, die auf eine Hemmung der Erythropoese durch *P. falciparum* zurück zu führen ist, zu einer Anämie bei Malariainfektion [37, 41]. So konnten bei mit *P. falciparum* infizierten Personen in Ghana, die über drei Jahre alt waren, an Tag 0 im Krankenhaus erhöhte Erythropoetinwerte trotz normaler Erythrozytenverteilungsbreite (EVB) festgestellt werden. Tag 0 bezeichnet hier und im Folgenden den Tag der

Diagnosestellung und des Therapiebeginns. Nach initialer Behandlung mit Chloroquin und Beseitigung der Parasiten zeigte sich ab Tag 7 ein Anstieg der EVB bei fallenden Erythropoetinwerten. Hierbei entsprach der höchste EVB-Wert dem anfänglichen Erythropoetinwert. Dies deutet auf eine reversible Knochenmarkssuppression durch die Malariainfektion hin, durch die es zu einer Anämie kommen kann [41]. Das von den Plasmodien produzierte Hämозoin, welches durch den Abbau von Hb durch die Parasiten entsteht, stellt eine Ursache für die Hemmung der Erythropoese dar. So hatten Kinder mit einer schweren Anämie aufgrund von Malaria im Alter von ein bis 13 Jahren höhere Hämозoinwerte als Kinder mit einer unkomplizierten Malaria [42]. Ein ebenfalls wichtiger Faktor für den Hb-Abfall scheint der Abbau von infizierten und gesunden Erythrozyten in der Milz zu sein [40]. Die malariabedingte Anämie ist meist normochrom und normozytär [27].

Teilweise entsteht oder besteht eine Anämie auch nach erfolgreicher Therapie [27, 33, 43]. Besteht sie über 14 Tage nach Diagnosestellung hinaus, wird sie im Folgenden als späte Anämie bezeichnet. Die ursächlichen Pathomechanismen hierfür sind noch nicht hinreichend geklärt. In zahlreichen Studien ist jedoch ein Zusammenhang mit der Therapie mit Artemisinin-Derivaten beschrieben worden [44, 45]. Besonders die Therapie mit intravenösem (i.v.) Artesunat scheint mit einer folgenden hämolytischen Anämie assoziiert zu sein [46-49]. Diese ist durch die Koexistenz von niedrigem Haptoglobin ($< 0,30$ mg/dL) an Tag 14, einem Hb-Abfall zwischen dem 7 und dem 14 Tag und einem Anstieg der Laktatdehydrogenase zwischen dem 7 und dem 14 Tag (an Tag 14: > 350 U/L) definiert und als „Post-Artemisinin Delayed Hemolysis“ bezeichnet (PADH) [49].

Bisher wurde die hämolytische Anämie nach intravenöser Artesunattherapie vor allem bei europäischen Reisenden mit schwerer Malaria beschrieben [44, 50-52]. In afrikanischen Kindern scheint die späte hämolytische Anämie nach schwerer Malaria tropica keine so große Rolle zu spielen [53]. Der Pathomechanismus könnte in einer kürzeren Lebensspanne von „gepitteten“ Erythrozyten begründet sein [39]. „Gepittete“ Erythrozyten sind Erythrozyten, die zu Beginn der Malariainfektion von Plasmodien infiziert sind und im Verlauf durch die medikamentöse Therapie der Malaria und einem Prozess in der Milz wieder von den Plasmodien befreit werden. Diese „gepitteten“ Erythrozyten zeigen eine

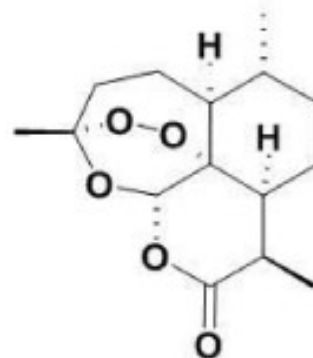
kürzere Lebensspanne als Erythrozyten, die nie infiziert waren [50, 54]. Die meist verbreitete Hypothese zur Ursache der späten hämolytischen Anämie nach i.v. Artesunat Therapie geht von einer gleichzeitigen Zerstörung dieser einmal infiziert gewesenen Erythrozyten aus. Bei Patientinnen¹, bei denen es zu einer solchen Anämie gekommen ist, konnte im Vorfeld eine höhere Anzahl an „gepitteten“ Erythrozyten nachgewiesen werden als bei jenen, ohne hämolytische Anämie [50].

1.3 Therapie der komplizierten Malaria tropica

Während die Therapie der unkomplizierten Malaria tropica ambulant durchgeführt werden kann, müssen Patientinnen mit einem komplizierten Verlauf immer stationär aufgenommen werden [55]. Laut WHO-Leitlinien sollten diese Patientinnen mindestens 24 Stunden mit intravenösem oder intramuskulärem Artesunat behandelt werden. Darüber hinaus wird die parenterale Therapie so lange fortgesetzt bis eine orale Medikation toleriert wird [56]. Kinder, die weniger als 20 kg wiegen, sollten pro Dosis 3 mg/kg Artesunat erhalten; schwerere Kinder und Erwachsene 2,4 mg/kg. Im Anschluss wird eine Therapie mit Artemisinin-basierte Kombinationstherapie (ACT) für drei Tage empfohlen.

1.3.1 Artemisinin

Artemisinin wurde in den 1970er Jahren in China entdeckt [3]. Es ist ein Sesquiterpenlactone mit einer Endoperoxidbrücke (siehe Grafik 1.3), die für seine Wirkung gegen Malaria verantwortlich gemacht wird. Es wirkt sowohl gegen die Ringstadien als auch gegen die Schizonten von *P. falciparum* und hemmt deren Wachstum zu 100 Prozent innerhalb von sechs bis acht Stunden. Außerdem senkt es die Dichte und Infektiosität der



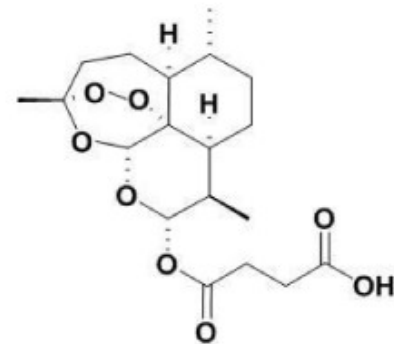
Grafik 1.3 Strukturformel Artemisinin

¹ Aus Gründen der Lesbarkeit verwende ich hier und im Folgenden in generischen Zusammenhängen ausschließlich die feminine Form; das männliche Geschlecht ist dabei selbstverständlich mit gemeint.

Gametozyten schon nach vier Tagen, was sich positiv auf die Senkung der Transmissionsraten der Malaria auswirkt [57-59]. Somit ist Artemisinin einer der potentesten Wirkstoffe gegen Malaria [60]. Zusätzlich erschwert seine kurze Halbwertszeit die Entwicklung von Resistenzen. Sie sorgt jedoch auch dafür, dass es bei einer Monotherapie von drei bis fünf Tagen oft zu Rekrudescenzen (in über 25 Prozent der Fälle) kommt, weshalb eine Kombinationstherapie empfohlen wird [60-62]. Der genaue Wirkmechanismus von Artemisinin wird noch diskutiert. Es wird davon ausgegangen, dass toxische Sauerstoffradikale, die die Toleranz der Parasiten gegenüber oxidativem Stress reduzieren, eisenabhängig gebildet werden [3, 63]. Trotz weitläufiger Anwendung, sind bis dato keine schwerwiegende Nebenwirkungen beim Menschen aufgetreten [64]. Es konnte jedoch ein Zusammenhang zwischen der Therapie mit Artemisininderivaten und einer späten Hämolyse oder Anämie hergestellt werden, die noch genauer zu untersuchen ist [44, 45].

1.3.1.1 Artesunat

Da Artemisinin nicht wasser- oder fettlöslich ist und somit bei parenteraler Verabreichung keine gute Bioverfügbarkeit erreicht, wurde seine Carbonyl-Gruppe reduziert, um Dihydroartemisinin (DHA) zu erhalten [3]. Das wasserlösliche Artesunat, welches in Grafik 1.4 abgebildet ist, ist ein DHA Derivat. In zahlreichen



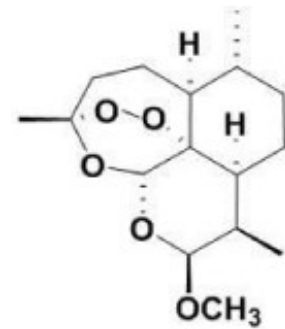
Grafik 1.4 Strukturformel Artesunat

Studien konnte gezeigt werden, dass eine Behandlung mit i.v. Artesunat einer Behandlung mit i.v. Chinin überlegen ist [65-67]. In der AQUAMAT-Studie, die von 2005 bis 2010 in elf verschiedenen Zentren in neun afrikanischen Ländern (Mosambik, Gambia, Ghana, Kenia, Tansania, Nigeria, Uganda, Rwanda und die Demokratische Republik Kongo) durchgeführt wurde, lag die Mortalitätsrate bei 22 Prozent, wenn mit i.v. Chinin behandelt wurde und bei 15 Prozent, wenn mit Artesunat behandelt wurde [65]. In die Studie wurden Kinder unter 15 Jahren eingeschlossen, die Zeichen einer schweren Malaria zeigten und einen positiven Malariaschnelltest auf *P. falciparum* zeigten. Außerdem wurden in einer Metaanalyse für Artesunat ein deutlich besseres Nebenwirkungsprofil beschrieben als für Chinin [67]. Die Effektivität von Artesunat ist durch eine Wirkung gegen alle

Parasitenstadien bedingt, deren Wachstum es innerhalb von zwei bis vier Stunden vollständig verhindert [68]. Es wurde jedoch beobachtet, dass es sowohl bei Reiserückkehrerinnen [48] als auch bei afrikanischen Kindern [49] nach einer Therapie mit Artesunat teilweise zu einer späten hämolytischen Anämie gekommen ist.

1.3.1.2 Artemether-Lumefantrin

Artemether-Lumefantrin (Coartem) war die erste ACT mit einer fixen Dosis (20 mg Artemether und 120 mg Lumefantrin), die von der WHO empfohlen wurde [69]. Es hat eine gute Wirksamkeit gegen *P. falciparum* [70]. Artemether, abgebildet in Grafik 1.5, besitzt die Eigenschaften eines Artemisinins (siehe 1.3.1) während Lumefantrin langsam absorbiert wird und erst nach ungefähr zehn Stunden seine Höchstkonzentration im Blut



Grafik 1.5 Strukturformel Artemether

erreicht. Die Halbwertszeit von Lumefantrin beträgt ungefähr vier bis fünf Tage. Also verbleibt es wesentlich länger im Körper als das Artemether und soll somit Rekrudeszenzen verhindern.

1.4 Bluttransfusionen bei Malaria

Der Nutzen von Bluttransfusionen bei einer Malariainfektion ist umstritten. Obonyo et al. beschrieben 1998, dass der Nutzen einer Bluttransfusion stark davon abhängt, ob diese vorher auf parenteral übertragbare Infektionskrankheiten geprüft wurden [71]. Eine geprüfte Bluttransfusion bringt für Kinder unter fünf Jahren mit einer schweren Anämie durch eine Malariainfektion ein Überlebensvorteil von fünf Prozent. English et al. beschreiben ebenfalls, dass eine Transfusion einen protektiven Faktor darstellt [72]. 89 Prozent der Kinder mit einer Malaria oder einer Anämie und Prostration, Atemstörungen und einem Hb von unter 40 g/L sterben. Bei den Kindern mit gleichen Krankheitsbildern, die eine Bluttransfusion erhalten haben, waren es nur 23 Prozent. Es wurde im Rahmen der Studie jedoch diskutiert, welchen Kindern genau wie viel Blut gegeben werden sollte, da eine Transfusion bei 25 Prozent der Kinder nur zu einem Hb-Anstieg von 20 g/L geführt hatte und 25 Prozent der schwer anämischen Kinder nach der

Transfusion immer noch einen Hb-Wert unter 50 g/L hatten. Ein Review von 2007 kritisierte, dass es zu wenig Studien mit zu wenig Probandinnen gäbe, als das eine fundierte Aussage über den Nutzen von Bluttransfusionen bei der Behandlung von Anämie aufgrund einer Malariainfektion, getroffen werden könnte [73]. So kam in einem Review von 2000, welches zwei randomisierte kontrollierte Studien mit insgesamt 230 Kindern eingeschlossen hatte, heraus, dass Kinder, die eine Bluttransfusion erhalten hatten keinen signifikanten Überlebensvorteil gegenüber den nicht-transfunden Kindern hatten [74]. Insgesamt lässt sich jedoch erkennen, dass zumindest Kinder und Schwangere von frühen Bluttransfusionen profitieren [75]. Aus diesem Grund empfiehlt die WHO eine Bluttransfusion bei Kindern in Hochendemiegebieten ab einem Hb-Wert unter 5 mg/dL [56].

1.5 Zielsetzung

Es existieren einige Studien, die Risikofaktoren für eine späte Anämie nach unkomplizierter *Malaria tropica* untersuchen oder sich mit der späten hämolytischen Anämie nach komplizierter *Malaria* und der Therapie mit Artesunat beschäftigen. Über die Risikofaktoren für eine späte Anämie nach schwerer *Malaria* ist jedoch wenig bekannt. Deshalb soll das Ziel der hier vorliegenden Studie sein, Risikofaktoren für eine späte Anämie bei Kindern nach mit intravenösem Artesunat behandelter schwerer *Malaria tropica* zu finden.

Neben diesem primären Endpunkt der Risikofaktoren, sollen als sekundäre Endpunkte ein Vergleich der transfunden und nicht-transfunden Kinder aufgestellt werden und eine Analyse erfolgen, wie viele Kinder überhaupt von einer späten Anämie betroffen sind. Des Weiteren sollen Ursachen von Anämie und der Nutzen von Bluttransfusionen untersucht werden.

2 Material und Methoden

Im ersten Teil dieses Kapitels wird es um das Studiengebiet Ghana und seine Gegebenheiten gehen. Im zweiten Teil werden dann die Ein- und Ausschlusskriterien beschrieben, während es in dem dritten Teil um den Rekrutierungsablauf geht. Im vierten Abschnitt werden die Abläufe im Labor beschrieben und im fünften Abschnitt der weitere Verlauf der Studie. In dem sechsten Teil des Kapitels geht es um die Übernahme von Daten aus einer anderen Studie und abschließend im letzten Abschnitt um die statistische Auswertung der erhobenen Daten.

2.1 Studiengebiet Ghana

Die ART-FU Studie fand von Januar bis Juli 2015 in der Ashanti Region Ghanas stand. Es ist ein Kooperationsstudie zwischen dem Universitätsklinikum Hamburg Eppendorf (UKE), dem Bernhard-Nocht-Institut (BNI), der Kwame Nkrumah University of Science and Technology (KNUST), Kumasi, dem Komfo Anokye Teaching Hospital, Kumasi und dem St. Michael's Hospital, Jachie-Pramso.

Das Studiengebiet liegt in der Ashanti Region in Ghana mit der Regionalhauptstadt Kumasi. Dort lebt etwa ein Drittel der 5.162.000 Einwohnerinnen der Region.

Mit einer Luftfeuchtigkeit von 85 Prozent in den Waldgebieten und 65 Prozent im Savannengürtel, ist die Ashanti Region relativ feucht. Der jährlich durchschnittliche Niederschlag beträgt 1402 mm und es gibt zwei Regenzeiten: eine zwischen März und Juli, die andere von September bis November. Die Durchschnittstemperatur beträgt in der Region zwischen 22 und 27°C [76].

Malaria kommt in Ghana hyperendemisch vor [12, 77]. In einer Studie von Owusu-Agyei et al. in der Brong-Ahafo Region Ghanas, die im Osten an die Ashanti Region angrenzt, ließen sich in einem Zeitraum von 12 Monaten und in einer Kohorte, die alle Altersgruppen umfasste, im Durchschnitt bei 58 Prozent der Bewohnerinnen der Region Malariaparasiten mikroskopisch im Blut nachweisen [78]. Bei Kindern unter fünf Jahren waren es sogar 64 Prozent.

Die vorliegende Studie wurde in der Hauptstadt der Ashanti Region, Kumasi, und in dem Dorf Pramso durchgeführt. Das Komfo-Anokye Teaching Hospital (KATH) ist mit seinen 1200 Betten das zweitgrößte Krankenhaus Ghanas und ein Krankenhaus der Maximalversorgung. Dementsprechend werden viele Patientinnen aus anderen Krankenhäusern und Regionen dorthin überwiesen. Das St. Michael's Hospital in Pramso ist mit 99 Betten ein mittelgroßes Distrikt-Krankenhaus. Hier arbeiten fünf Ärztinnen auf Stationen für Innere Medizin, Chirurgie, Pädiatrie, Gynäkologie, Entbindung und Ophthalmologie. Außerdem gibt es viele Programme, wie zum Beispiel mobile Kliniken, um auch umliegenden Dörfern medizinische Versorgung zukommen zu lassen. Das kleine Blutbild, die mikroskopische Auszählung des dicken Tropfens und die Zwischenlagerung der Vollblut- und Serumproben der eingeschlossenen Kinder wurden in dem Labor des jeweiligen Krankenhauses gemacht.

2.2 Ein- und Ausschlusskriterien der Studie

Einschlusskriterien:

- ein Alter von 6 – 120 Monate
- Verdacht auf Malaria ohne andere schwerwiegende fieberhafte Erkrankung wie z.B. Pneumonie, Otitis media, Tonsillitis
- schriftliche Einverständniserklärung der Erziehungsberechtigten
- Wohnsitz in einem Umkreis von 30 km um das Krankenhaus
- Diagnose einer schweren Malaria entsprechend der behandelnden Ärztin

Ausschlusskriterien:

- Teilnahme an anderen Medikamentenstudien in den letzten 30 Tagen
- bekannte Hypersensibilität gegenüber Artemisinin Derivaten
- Malariamedikamenteneinnahme in den letzten 7 Tagen

2.3 Rekrutierungsablauf

Kinder, die sich in einem der beiden Krankenhäuser mit dem Verdacht auf eine Malariainfektion vorstellten, wurden für die Studie untersucht. Bei einem positiven Plasmodiennachweis im Labor wurden die Ein- und Ausschlusskriterien durch ein Mitglied des Teams geprüft. Stellte sich ein Kind hiernach als geeignet für die Studie heraus, klärte ebenfalls ein Mitglied des Teams die Erziehungsberechtigten über diese auf und erläuterte Ziele und Nutzen der Studie, Folgeuntersuchungen und -blutentnahmen. Bei Einwilligung zur Teilnahme an der Studie wurden folgende Parameter innerhalb eines CRFs erhoben:

- Name des Kindes und des Erziehungsberechtigten
- Alter und wenn bekannt das Geburtsdatum
- Geschlecht
- Gewicht (mit Hilfe einer manuellen Waage)
- Größe (je nach Alter mit einem Maßband oder einer fix stehenden Messlatte)
- Blutdruck (mit Hilfe einer manuellen Blutdruckmanschette), Atemfrequenz, Herzfrequenz und axilläre Körpertemperatur (mit Hilfe eines Quecksilberthermometers)
- Kopf- und Oberarmumfang

Anschließend wurden vor allem die klinischen Zeichen einer schwere Malaria überprüft, die in der Tabelle 2.1 genauer erläutert werden [79]. Hierbei konnten jedoch nicht alle Kriterien berücksichtigt werden. So waren z.B. eine radiologische Kontrolle der Lunge, sowie eine Blutgasanalyse auf Grund begrenzter Kapazitäten der Krankenhäuser nicht möglich.

Zeichen für schwere Malaria
Bewusstseinsstörungen: Blantyre Coma Score < 3
Prostration: generelle Schwäche, sodass das Kind nicht ohne Hilfe sitzen oder stehen kann
Multiple Krämpfe: mehr als 2 in 24 h
Azidose / Respiratorische Insuffizienz: Bikarbonat im Plasma < 15 mmol/L oder Laktat im Plasma ≥ 5 mmol/L
Hypoglykämie: Blut- oder Plasmaglucose < 2,2 mmol/L (40 mg/dL)
Schwere malariabedingte Anämie: Hb-Konzentration ≤ 5 g/dl oder Hämatokrit ≤ 15 % bei Kindern < 12 Jahren
Nierenversagen: Plasma- oder Serumkreatinin > 265 µmol/L (3 mg/dl) oder Blutharnstoff > 20 mmol/L
Ikterus: Plasma- oder Serumbilirubin > 50 µmol/L (3 mg/dL) mit ausgezählten Parasiten von > 10 000/µL
Lungenödem: radiologisch bestätigt oder Sauerstoffsättigung < 92 % bei Raumluft mit einer Atemfrequenz von > 30/min, oft mit Krepitationen bei Auskultation
Signifikante Blutungen: Epistaxis, Zahnfleischbluten oder vermehrtes Bluten bei Venenpunktion, Hämatemesis oder Meläna
Schock: Kompensierter Schock bei Rekapillarisierungszeit ≥ 3 s oder Temperaturabstieg an unterer Extremität ohne Hypotension. Dekompensierter Schock bei systolischem Blutdruck < 70 mmHg bei Kindern mit Zeichen der Minderdurchblutung (Kalte Extremitäten oder verlängerte Rekapillarisierungszeit)
Hyperparasitämie: <i>P. falciparum</i> Parasitämie > 10%

Tab 2.1: WHO-Kriterien einer schweren Malaria [80]

Die Behandlung wurde (unabhängig von der Studie) schnellstmöglich entsprechend der nationalen Leitlinie mit Artesunat eingeleitet [81]. Eine Anschlussbehandlung wurde mit Artemether/Lumefantrin gewichtsadaptiert und in oraler Verabreichung durchgeführt. Zusätzlich erhielten die Kinder Paracetamol rectal (bei einer Körpertemperatur > 37°C) oder oral für fünf Tage.

2.3.1 Anamnese

Die Anamnese war speziell auf die Studie abgestimmt und wurde im Studienfragebogen dementsprechend festgehalten. Mit Hilfe der Krankenschwester vor Ort wurden die in Tab 2.1 genannten Kriterien für schwere

Malaria, vorausgegangene Medikamenteneinnahme und Medikamentenallergien erfragt, wobei der Fokus hier auf Artemisinin Derivaten lag. Keines der eingeschlossenen Kinder gab dies an und auch während der Studie traten keinerlei allergische Reaktionen auf.

2.3.2 Klinik

In der körperlichen Untersuchung wurde ebenfalls besonderen Wert auf die in Tab. 2.1 genannten Symptome gelegt. Kinder mit einer Sepsis wurden nach den lokalen Standards zusätzlich mit Ceftriaxon, Kinder mit Diarrhoen mit Metronidazol und diejenigen mit einer Atemwegsinfektion mit Amoxicillin behandelt. Außerdem bekamen alle eine Dextrose/Saline Infusion von 500 mL, Paracetamol und bei einem Hb-Wert unter 10 mg/dL wurde Eisen supplementiert.

2.4 Labor

Den eingeschlossenen Kindern wurde sowohl ein EDTA- als auch ein Serumröhrchen Blut abgenommen. Die Parasitämien wurden je nach Lokalisation von der Verfasserin am Kumasi Centre for Collaborative Research (KCCR) oder am BNI oder von einem Mitarbeiter im KATH bestimmt. Ein kleines Blutbild wurde außerdem erstellt. Ebenfalls standen uns im Labor sowohl ein -20°C kalter Gefrierschrank für die Lagerung der Serumproben, sowie ein Kühlschranks (8°C) für die Lagerung der EDTA Proben bis zum Transport zur Verfügung. Die Serumproben wurden mit Hilfe einer Zentrifuge mit 2000 g fünf Minuten abzentrifugiert und danach zwei Aliquots von mindestens 500 µL für spätere Untersuchungen aufbewahrt. Für die Laborarbeit wurden uns Räumlichkeiten und Gerätschaften des KCCR zur Verfügung gestellt.

2.4.1 Bestimmung der Parasitämien

Die Parasitämien der Kinder wurden schon nach der ersten Untersuchung durch eine Ärztin in der Notaufnahme grob-orientierend im Labor des jeweiligen Krankenhauses ermittelt. Die genauen Parasitämien der im dem St. Michael's

Catholic Hospital rekrutierten Kinder bestimmte die Verfasserin dieser Arbeit danach im Labor am KCCR oder am BNI in Hamburg. Als Grundlage dienten dabei die zuvor in Pramso angefertigten Objektträger mit jeweils einem dicken und einem dünnen Blutaussstrich. Die Parasitämien der am KATH rekrutierten Kinder wurden von einem Mitarbeiter des KATHs bestimmt, der vorher die Objektträger vor Ort anfertigte. Die Parasitämien wurden nur an Tag 0 ermittelt.

2.4.1.1 Dicker Blutaussstrich

Es wurde ein Tropfen EDTA Blut auf einen Objektträger gebracht und auf ca. 1 cm² so verteilt, dass man gerade noch hindurch schauen konnte. Anschließend wurde der Objektträger mindestens 20 Minuten zum Trocknen beiseitegelegt und nicht fixiert. Nach Ablauf dieser Zeit wurde der Tropfen 40 Minuten mit Giemsa-Gebrauchslösung angefärbt, welche danach vorsichtig mit Leitungswasser wieder abgespült wurde. Der getrocknete Dicke Tropfen wurde dann unter dem Öl-immersions-Mikroskop ausgezählt, wobei so viele Gesichtsfelder bei 1000-facher Vergrößerung ausgezählt wurden, bis 200 Leukozyten erreicht waren. Danach wurde mit dieser Formel die Parasitämie errechnet:

Anzahl der Parasiten/ μ = (Anzahl der Parasiten x WBC/ μ L) / 200 Leukozyten [82]

2.4.1.2 Dünner Blutaussstrich:

Es wurden 3 μ L EDTA Blut auf einem Objektträger ausgestrichen, kurz trocknen gelassen und dann mit absolutem Methanol mindestens eine Minute fixiert. Sobald dieser getrocknet war, wurde er, genauso wie der Dicke Blutaussstrich, 40 Minuten mit Giemsa-Gebrauchslösung fixiert und anschließend mit Leitungswasser abgewaschen und unter dem Öl-Immersion-Mikroskop ausgezählt. Hier wurden so viele Gesichtsfelder bei 1000-facher Vergrößerung gezählt, bis 1000 Erythrozyten erreicht waren. Danach wurde mit folgender Formel die Parasitämie berechnet:

Anzahl der Parasiten / μ = (Anzahl der Parasiten x RBC / μ L) / 1000 Erythrozyten

2.5 Studienablauf

Die eingeschlossenen Kinder wurden im Studienverlauf an den Tagen 0, 2, 7 (+/- 24 h), 14 (+/- 48 h), 21 (+/- 48 h) und 28 (+/- 48 h) gesehen und ihnen wurde jeweils ein Serum und ein EDTA Röhrchen Blut abgenommen. An Tag 1 wurde, wie oben schon erwähnt, zusätzlich eine ausführliche Anamnese und körperliche Untersuchung erhoben. An den Follow-up Tagen wurde nur Temperatur, Blutdruck, Atemfrequenz und Puls gemessen und nach Blässe, Prostration, Erschöpfung oder anderen schwerwiegenden Symptomen geschaut. Alle Kinder erhielten, der WHO Empfehlung folgend, drei Dosen (je 2,4 mg / kg) Artesunat i.v. (nach 0, 12 und 24 h). Danach wurden sie auf Artemether/Lumefantrin (20 mg / 120 mg) in oraler Verabreichung umgestellt. Je nach Gewicht bekamen die Kinder entweder eine (5 kg - 15 kg), zwei (15 kg - 25 kg) oder drei (> 25 kg) Tabletten morgens und abends für drei Tage.

2.5.1 Follow-up der Kinder

An Tag 2 nach Erhalt der intravenösen Therapie und den ersten zwei oralen Verabreichungen von Artemether/Lumefantrin wurden die meisten behandelten Kinder entlassen. Lediglich die Kinder, deren Hb-Wert oder Allgemeinzustand zu diesem Zeitpunkt noch zu schlecht war, blieben länger als zwei Tage im Krankenhaus. Die eingeschlossenen Kinder mussten zu den Follow-up Untersuchungen also entweder zurück ins Krankenhaus kommen oder sie wurden zu Hause aufgesucht. Dafür standen uns ein Auto, ein Motorrad und die öffentlichen Verkehrsmittel zur Verfügung. Durch regelmäßigen telefonischen Kontakt der Studienmitarbeiterinnen mit den Angehörigen wurde die Studientreue optimiert und fast alle eingeschlossenen Kinder konnten bis zum Tag 28 nachverfolgt werden.

2.6 Zusätzliche Daten

Zur Analyse wurden zusätzliche Daten aus der Studie „Delayed hemolysis after treatment with parenteral artesunate in African children with severe malaria--a

double-center prospective study“ von 2012 verwendet [49]. Sowohl die Ein- und Ausschlusskriterien, als auch das Behandlungsschema mit Artesunat waren in dieser Studie identisch. Ebenso waren die Follow-up Tage an Tag 7,14 und 28, weshalb sich die Datenerhebung mit der der ART-FU Studie deckte.

2.7 Datenanalyse

Die Datenanalyse erfolgte mit Hilfe von Stata 13.1. Es wurden die Daten derjenigen Kinder in die Auswertung eingeschlossen, die zum jeweiligen Zeitpunkt noch in der Studie eingeschlossen waren. Für deskriptive Darstellungen wurden Häufigkeitsangaben (Mittelwert, Median) errechnet. Der Median wurde immer dann bestimmt, wenn keine Normalverteilung eines Parameters vorlag und um eventuelle Ausreißer des Patientinnenkollektivs besser zu relativieren.

Nachfolgend wurden verschiedene Analysen durchgeführt, um Risikofaktoren für eine Anämie an Tag 14 oder 28 herauszufiltern. Hierbei wurden die Kinder aufgeteilt, je nachdem ob sie eine Bluttransfusion erhalten haben oder nicht. Der Zusammenhang zwischen dem Grad der Anämie und dem Transfusionsstatus wurde mit Hilfe des Chi-Quadrat-Testes, bzw. 95%-Konfidenzintervallen, geprüft.

Unterschiede zwischen zwei Gruppen wurden für kontinuierliche Variablen mit dem unverbundenen T-Test (bei Normalverteilung) bzw. dem Mann-Whitney U Test (bei Nicht-Normalverteilung) auf statistische Signifikanz getestet.

Faktoren, die in der univariaten Analyse einen Zusammenhang mit einer späten Anämie und einen P-Wert von unter 0,1 aufwiesen, wurden in die multifaktorielle logistische Regressionsanalyse einbezogen.

3 Ergebnisse

Der Ergebnisteil dieser Dissertation ist in vier Abschnitte untergliedert. Im ersten Abschnitt werden die Charakteristika, der in dieser Studie analysierten Kinder genauer beschrieben. Der zweite Abschnitt befasst sich mit dem Schweregrad und Verlauf der Anämie unter der Behandlung. Im dritten Abschnitt werden vergleichende Analysen zwischen transfundierten und nicht-transfundierten Kindern bezüglich der untersuchten Risikofaktoren (Alter, Geschlecht, Hb, Temperatur, Parasitämie, Anzahl der Leukozyten) für eine späte Anämie durchgeführt. Im letzten Abschnitt werden die Ergebnisse der multifaktoriellen logistischen Regressionsanalyse vorgestellt.

3.1 Charakteristika der eingeschlossenen Kinder

Insgesamt wurden 179 Kinder in die Studie eingeschlossen. Vier mussten jedoch wegen fehlerhafter Datenübertragung aus der Auswertung ausgeschlossen werden. Von den verbleibenden 175 Kindern wurden 77 (davon 27 in Kumasi, Ghana und 50 in Pramso, Ghana) 2015 während der ART-FU Studie und 103 (davon 50 in Lambaréné, Gabun und 53 in Kumasi, Ghana) 2012 während der Studie „Delayed hemolysis after treatment with parenteral artesunate in African children with severe malaria - a double-center prospective study“ [49] eingeschlossen.

Die Tabelle 3.1 beschreibt die wesentlichen Kenndaten der 175 in die Auswertung eingeschlossenen Kinder.

Studienteilnehmerinnen	
Zahl	175
Anzahl Mädchen (%)	69 (39)
Altersmedian in Monaten (IQA)	42 (24 – 62)
Gewichtsmedian in kg (IQA)	14 (10 – 18)
Mittlere Temperatur an Tag 0 in °C (95% Konfidenz Intervall)	38,2 (38,0 – 38,4)
Parasitämiemedian/μL an Tag 0 (IQA)	82583 (40144 - 256900)
Mittlerer Hb-Wert an Tag 0 in g/dL (95% Konfidenz Intervall)	8,75 (8,35 – 9,16)
Bluttransfusion innerhalb der ersten Woche erhalten (%)	43 (27)

Tab. 3.1 Kenndaten der eingeschlossenen Kinder

Der Tabelle kann man entnehmen, dass 69 (39 %) der 175 Kinder weiblich waren und der Altersmedian bei 42 (IQA: 24 – 62) Monaten lag. Außerdem betrug der Gewichtsmedian an Tag 0 14 (IQA: 10 – 18) kg, die mittlere axillär gemessene Temperatur 38,20 (KI: 38,03 – 38,35) °C und die mediane Parasitämie 82583 (IQA: 40144 – 256900) pro μ L. Der mittlere Hb-Wert an Tag 0 lag bei 8,75 (KI: 8,35 – 9,16) g/dL und 43 Kinder (27,04 %) erhielten eine Bluttransfusion in der ersten Woche. Somit waren unter den eingeschlossenen Kindern über 50 Prozent

3.1.1 WHO-Kriterien einer schweren Malaria

In der Tabelle 3.2 wird die Anzahl der eingeschlossenen Kinder ermittelt, die mindestens ein WHO-Kriterium für schwere Malaria an Tag 0 erfüllten und die Verteilung der Kriterien aufgeschlüsselt.

Kriterien für eine schwere Malaria mit <i>P. falciparum</i>	Anzahl der Studienteilnehmerinnen absolut	Anzahl der Studienteilnehmerinnen in %
Mind. ein WHO-Kriterium für schwere Malaria	102	58
Prostration	89	52
Atemstörung	7	5
Spontanblutungen	2	1
Kreislaufversagen/Schock	3	2
Krämpfe	26	16
Hyperparasitämie	36	25
Schwere Anämie	18	11

Tab. 3.2 WHO-Kriterien für schwere Malaria an Tag 0 bei den eingeschlossenen Kindern

Der Tabelle 3.2 kann man entnehmen, dass 102 der 175 in die Studie eingeschlossenen Kinder mindestens ein WHO-Kriterium für schwere Malaria erfüllten. Zudem ist erkennbar, wie viele jeweils von einem Kriterium betroffen waren. So lässt sich sagen, dass 58 Prozent mindestens an einem der WHO-Kriterien litten und dieses bei der Mehrzahl der Kinder (52 %) Prostration war. Am zweithäufigsten litten die Kinder unter einer Hyperparasitämie (25 %) und mit 16 Prozent waren Krämpfe am dritthäufigsten. Eine schwere Anämie trat bei 11 Prozent der Kinder auf. Im einstelligen Prozentbereich lagen die Kriterien Atemstörung, Spontanblutungen und Kreislaufversagen/Schock.

3.1.2 Patientinnenausschlüsse

Einige Kinder wurden im Verlauf der Studie auf Grund von fehlenden Befunden aus den Analysen ausgeschlossen. Sie erschienen nicht zu den Follow-up

Untersuchungen oder Blutanalysen konnten nicht stattfinden. So fehlten bereits an Tag 0 von 14 (8 %) eingeschlossenen Kindern die Blutwerte und auch an Tag 7 konnten diese nur von 151 (86 %) Kindern ermittelt werden. An Tag 14 konnten noch 137 (78 %) Kinder in die Analysen eingeschlossen werden und an Tag 28 waren es noch 110 (63 %) der anfangs eingeschlossenen Kinder. Somit bestand eine Studienausschlussrate von 37 Prozent.

Ferner konnten für weitere Anämieanalysen an Tag 14 129 (74 %) Kinder und an Tag 28 96 (55 %) Kinder eingeschlossen werden, da nur von ihnen sowohl der Hb-Wert der jeweiligen Tage bekannt war, als auch ob sie eine Transfusion erhalten haben oder nicht.

3.2 Verlauf der Anämie unter der Behandlung

Im folgenden Abschnitt geht es im ersten Teil um den Anteil der anämischen Patientinnen im Verlauf der Tage, während im zweiten Teil der Verlauf des mittleren Hb-Werts betrachtet wird.

3.2.1 Anteil der anämischen Kinder im Verlauf

Wie viele der Kinder an den verschiedenen Untersuchungstagen anämisch waren, lässt sich der Tabelle 3.3 entnehmen. So war an Tag 7 die Anzahl der anämischen Kinder mit 74 Prozent am höchsten, gefolgt von 65 Prozent an Tag 0. An Tag 28, also vier Wochen nach der Erstdiagnose Malaria und der i.v. Therapie mit Artesunat, lag die Anzahl der anämischen Kinder nur noch bei 24 Prozent.

Tag	N	Anämisch (Hb <10mg/dL) (in %)	Nicht anämisch (Hb ≥10mg/dL) (in %)
0	161	105 (65)	56 (35)
7	151	111 (74)	40 (26)
14	137	72 (53)	65 (47)
28	110	26 (24)	84 (76)

Tab 3.3 Anzahl der anämischen Kinder an den verschiedenen Tagen

Genaueren Aufschluss über die mittleren Hb-Werte und die Anzahl der anämischen Kinder an den verschiedenen Untersuchungstagen gibt die Tabelle 3.4.

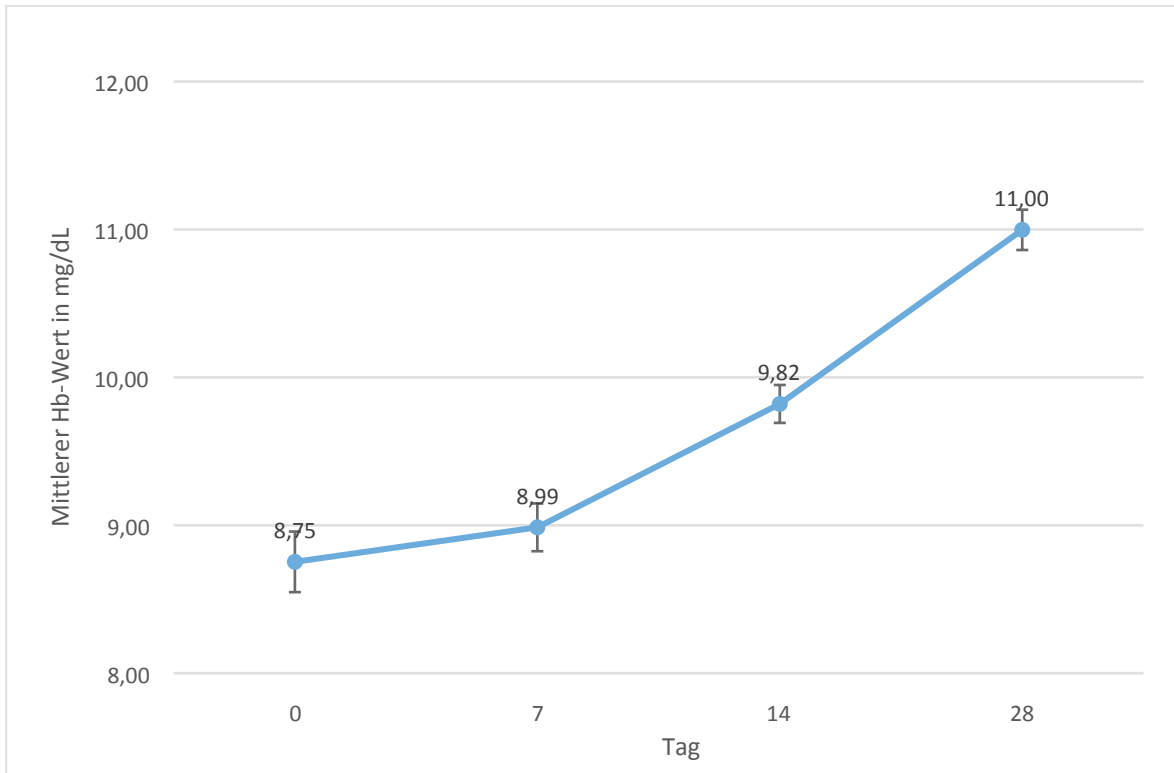
Tag	N	Leichte Anämie (7,00 mg/dL - 9,99 mg/dL) (in %)	Schwere Anämie (6,99 mg/dL - 5,00 mg/dL) (in %)	Sehr schwere Anämie (<5,00 mg/dL) (in %)	Mittlerer Hb in mg/dL (95% Konfidenzintervall)
0	161	60 (37)	27 (17)	18 (11)	8,75 (8,35 – 9,15)
7	151	91 (60)	19 (13)	1 (1)	8,98 (8,66 – 9,31)
14	137	68 (50)	3 (2)	1 (1)	9,82 (9,57 – 10,08)
28	110	24 (22)	2 (2)	0	11,00 (10,73 – 11,27)

Tab. 3.4 Anzahl der anämischen Kinder und ihr Hb an den verschiedenen Tagen

Die Tabelle 3.2 zeigt, dass sehr viel mehr Kinder im Laufe der Studie unter einer leichten als unter einer schweren oder sehr schweren Anämie litten. Die Anzahl der anämischen Kinder war an Tag 7 am höchsten, wobei an Tag 0 mehr Kinder an einer schweren oder sehr schweren Anämie litten. Im Verlauf der Tage kann beobachtet werden, dass die Anzahl der anämischen Kinder abnimmt, sodass sie von 105 (65 %) an Tag 0 und 111 (74 %) an Tag 7 auf 26 (24 %) an Tag 28 sinkt. Dabei fällt auf, dass an Tag 28 keines der Kinder mehr an einer sehr schweren Anämie von unter 5 mg/dL und nur 2 von den 26 Kindern noch an einer schweren Anämie zwischen 7 mg/dL und 5 mg/dL leiden.

3.2.2 Verlauf des mittleren Hb-Werts unter der Behandlung

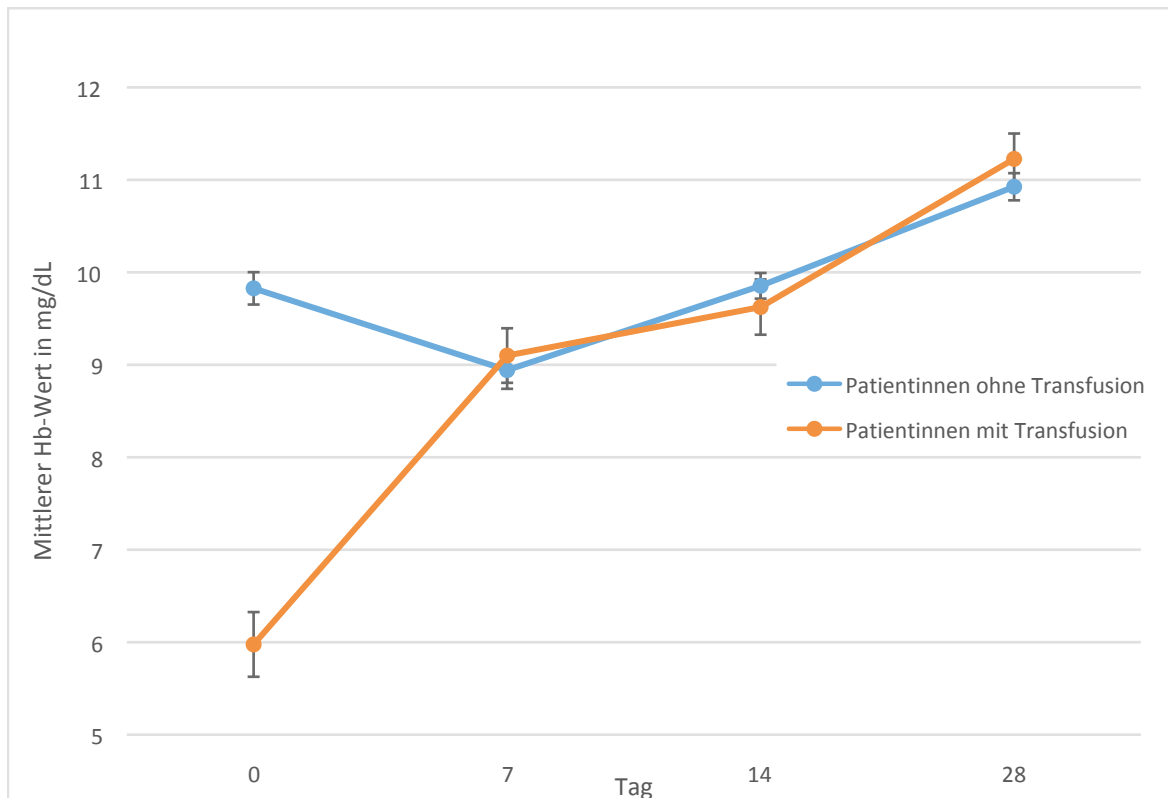
Gegenläufig zu der sinkenden Anzahl der anämischen Kinder, stieg der mittlere Hb-Wert mit der Zeit, was in Grafik 3.1 anschaulich verdeutlicht wird.



Grafik 3.1 Mittlere Hb-Werte im Verlauf der Tage mit Standardfehler

In dem Diagramm in Grafik 3.1 wird gezeigt, dass der mittlere Hb-Wert der Kinder im Verlauf der Behandlung ansteigt und sich von 8,75 mg/dL an Tag 0 auf 11 mg/dL an Tag 28 erhöht.

In der Grafik 3.1 wird dargestellt, wie sich der mittlere Hb-Wert der transfundierten Kinder im Vergleich zu den nicht-transfundierten entwickelt.



Grafik 3.2 Mittlere Hb-Werte von transfundierten und nicht-transfundierten Patientinnen im Verlauf der Tage mit Standardfehler

Bei Betrachtung der Grafik 3.2 zeigen die transfundierten und die nicht-transfundierten Kinder einen ähnlichen Verlauf ihrer mittleren Hb-Werte. Die transfundierten Kinder weisen nur an Tag 0 einen deutlich niedrigeren Wert (5,98 mg/dL) im Vergleich zu den nicht-transfundierten Kindern (9,83 mg/dL) auf. Bereits ab Tag 7 zeigen sich dann keine signifikanten Unterschiede mehr in der Entwicklung der mittleren Hb-Werte beider Gruppen.

3.3 Vergleichende Analysen von transfundierten und nicht-transfundierten Kindern

Im ersten Teil des folgenden Abschnitts werden die Kriterien für eine Transfusion herausgearbeitet. In den folgenden Teilen geht es dann um die Risikofaktoren für eine späte Anämie an den Tagen 14 und 28 und die Unterschiede zwischen den Kindern, die eine Transfusion erhalten haben und denjenigen, die keine erhalten haben.

3.3.1 Kriterien für eine Transfusion

In der Tabelle 3.5 sind die Kinder, die transfundiert wurden, zusammengefasst, um sie genauer zu charakterisieren.

	Alle (%)	Transfusion erhalten (%)	Keine Transfusion erhalten (%)	Odds Ratio (95% Konfidenz Intervall)	p-Wert
Sex					
Männlich	97 (61)	28 (29)	69 (71)	1,00	
Weiblich	62 (39)	15 (24)	47 (76)	0,78 (0,38 – 1,63)	0,519
Alter (in Monaten)					
49 – 120	65 (41)	6 (9)	59 (91)	1,00	
25 – 48	49 (31)	12 (24)	37 (76)	3,19 (1,07 – 9,50)	0,028
6 – 24	44 (26)	20 (45)	24 (55)	11,80 (3,59 – 38,83)	< 0,001
Parasitämie/µL					
< 250 000	101 (74)	24 (24)	77 (76)	1,00	
≥ 250 000	35 (26)	14 (40)	21 (60)	2,14 (0,93 – 4,91)	0,066
Hb Tag 0 (in mg/dL)					
≥ 10	56 (36)	3 (5)	53 (95)	1,00	
9,99 – 7,00	55 (35)	3 (5)	52 (95)	1,02 (0,20 – 5,32)	0,982
6,99 – 5,00	27 (17)	19 (70)	8 (30)	41,96 (5,77 – 304,88)	< 0,001
< 5	17 (11)	17 (100)	0 (0,00)		< 0,001
Temperatur (°C)					
< 38	72 (46)	22 (31)	50 (69)	1,00	
≥ 38	86 (54)	21 (24)	65 (76)	0,73 (0,36 – 1,49)	0,390
WBC (Zellen/µL)					
4500 – 10 000	86 (56)	18 (21)	68 (79)	1,00	
< 4500	6 (4)	2 (33)	4 (67)	1,89 (0,32 – 11,31)	0,479
> 100 000	63 (41)	22 (35)	41 (65)	2,03 (0,96 – 4,27)	0,058

Tab 3.5 Transfusionsfaktoren bei den eingeschlossenen Kindern

Bei Betrachtung der Tabelle 3.5 lässt sich sagen, dass wie zu erwarten ein niedriger Hb-Wert an Tag 0 die entscheidendste Bedingung für eine Transfusion

darstellt. Bei einem Hb-Wert unter 5 mg/dL erhielten alle Kinder eine Transfusion, bei einem von unter 7 mg/dL bis 5 mg/dL noch 70,3 Prozent und bei einem Hb-Wert von über 7 mg/dL nur noch weniger als fünf Prozent. Eine weitere wichtige Bedingung für eine Transfusion scheint das Alter zu sein. So wurden über 50 Prozent der Kinder unter einem Alter von zwei Jahren transfundiert und das Odds Ratio, eine Transfusion zu bekommen, erhöhte sich in diesem Alter auf 11,80 (KI: 3,59 – 38,83) mit einem p-Wert von < 0,001.

In der Tabelle 3.6 ist eine multifaktorielle Analyse der Indikationsfaktoren für eine Transfusion dargestellt.

Patientinnengruppe	Risikofaktor	Odds Ratio (95% Konfidenzintervall)	p-Wert
Transfusion erhalten	Hyperparasitämie	0,82 (0,32 – 2,08)	0,676
	Anämie an Tag 0	9,53 (2,60 – 34,96)	0,001
	Alter unter 4 Jahre	6,33 (2,13 – 18,86)	0,001

Tab. 3.6 Multifaktorielle Analyse der Indikationsfaktoren für eine Transfusion

Auch in der multifaktoriellen Analyse (siehe Tab. 3.6) stellten sich das Alter unter vier Jahren und eine Anämie bei Aufnahme als wichtigste Bedingungen für eine Transfusion heraus. Die Hyperparasitämie zeigte sich auch hier nicht signifikant. Demnach erhielten junge Kinder mit einem niedrigen Hb-Wert an Tag 0 die meisten Transfusionen.

3.3.2 Risikofaktoren für eine Anämie an Tag 14

Bei Betrachtung der Tabelle 3.7 fällt zunächst kein wesentlicher Unterschied zwischen den transfundierten und den nicht-transfundierten Kindern auf. In beiden Patientinnengruppen leiden ungefähr gleich viele Kinder an einer Anämie an Tag 14.

	Alle (%)	Anämisch an Tag 14 (%)	Nicht anämisch an Tag 14 (%)	Odds Ratio (95%-Konfidenz-Intervall)	p-Wert
Transfusion erhalten					
nein	96 (74)	51 (53)	45 (47)	1,00	
ja	33 (26)	18 (55)	15 (45)	1,06 (0,48 – 2,35)	0,888

Tab 3.7 Anämie an Tag 14 bei transfundierten und nicht-transfundierten Kindern

In dem nachfolgenden Abschnitt werden einzelne vermeintliche Risikofaktoren für eine Anämie an Tag 14 beleuchtet und beide Patientinnengruppen getrennt voneinander betrachtet.

3.3.3 Nicht-transfundierte Kinder an Tag 14

In der Tabelle 3.8 werden vermeintliche Risikofaktoren bei nicht-transfundierte Kindern für eine Anämie an Tag 14 betrachtet.

	Alle (%)	Anämisch an Tag 14 (%)	Nicht anämisch an Tag 14 (%)	Odds Ratio (95% Konfidenz-Intervall)	p-Wert
Sex					
Männlich	54 (56)	30 (56)	24 (44)	1,00	
Weiblich	42 (44)	21 (50)	21 (50)	0,80 (0,35 – 1,81)	0,590
Alter (in Monaten)					
49 – 120	53 (55)	26 (49)	27 (51)	1,00	
25 – 48	30 (31)	16 (53)	14 (47)	1,19 (0,48 – 2,93)	0,710
6 – 24	13 (14)	9 (69)	4 (31)	2,34 (0,62 – 8,77)	0,195
Parasitämie/µL					
<250 000	71 (83)	37 (52)	34 (48)	1,00	
≥250 000	15 (17)	13 (87)	2 (13)	5,97 (1,17 – 30,41)	0,014
Hb Tag 0 (mg/dL)					
≥10	48 (51)	14 (29)	34 (71)	1,00	
9,99 – 7,00	39 (41)	29 (74)	10 (26)	7,04 (2,41 – 20,54)	< 0,001
6,99 – 5,00	7 (7)	7 (100)	0 (0)		< 0,001
<5	0 (0)	0 (0)	0 (0)		
Temperatur (°C)					
<38	43 (45)	30 (70)	13 (30)	1,00	
≥38	53 (55)	21 (40)	32 (60)	0,28 (0,12 – 0,70)	0,003
WBC (Zellen/µL)					
4500 – 10 000	56 (60)	28 (50)	28 (50)	1,00	
<4500	2 (2)	1 (50)	1 (50)	1,00 (0,06 – 17,21)	1,000
>100 000	36 (38)	21 (58)	15 (42)	1,40 (0,6 – 3,28)	0,437

Tab. 3.8 Vermeintliche Risikofaktoren für eine Anämie an Tag 14 bei nicht-transfundierte Kindern

Zunächst fällt auf, dass sowohl das Geschlecht als auch das Alter und die Anzahl der Leukozyten an Tag 0 keinen Einfluss auf eine Anämie an Tag 14 bei nicht-transfundierte Kindern haben. Als größter Risikofaktor für eine Anämie an Tag 14 stellt sich in dieser Patientinnengruppe der Hb-Wert an Tag 0 dar. So erhöht ein

Wert von unter 10 mg/dl das Odds Ratio auf 7,04 (KI: 2,41 – 20,54). Der p-Wert ist hier 0,000. Als ebenfalls wichtiger Risikofaktor für die Anämie an Tag 14 präsentiert sich eine Hyperparasitämie ($\geq 250\ 000/\mu\text{L}$). Sie erhöht das Odds Ratio von 1 bei einer Parasitämie von unter 250 000/ μL auf 5,97 (KI: 1,17 – 30,41) mit einem p-Wert von 0,0143. Fieber an Tag 0 dagegen korreliert negativ mit dem Auftreten einer Anämie an Tag 14 und reduziert das Odds Ratio auf 0,28 (KI: 0,12 – 0,70) bei einem p-Wert von 0,003. Hiernach sind also ein niedriger Hb-Wert und eine hohe Parasitämie an Tag 0 bei nicht-transfundierte(n) Kindern Risikofaktoren für eine Anämie an Tag 14.

In der folgenden Tabelle 3.9 werden die vermeintlichen Risikofaktoren für eine Anämie an Tag 14 bei Kindern, die eine Transfusion erhalten haben, betrachtet.

	Alle (%)	Anämisch an Tag 14 (%)	Nicht anämisch an Tag 14 (%)	Odds Ratio (95%-Konfidenz-Intervall)	p-Wert
Sex					
Männlich	21 (64)	10 (48)	11 (52)	1,00	
Weiblich	12 (36)	8 (67)	4 (33)	2,20 (0,48 – 10,09)	0,298
Alter (in Monaten)					
49 – 120	6 (19)	1 (17)	5 (83)	1,00	
25 – 48	7 (22)	3 (43)	4 (57)	3,75 (0,22 – 64,20)	0,327
6 – 24	19 (60)	13 (68)	6 (32)	10,83 (0,74 – 158,68)	0,029
Parasitämie/μL					
<250 000	18 (58)	7 (39)	11 (61)	1,00	
\geq 250 000	13 (42)	9 (69)	4 (31)	4,09 (1,46 – 11,42)	0,004
Hb Tag 0 (mg/dL)					
\geq 10	2 (6)	1 (50)	1 (50)	1,00	
9,99 – 7,00	2 (6)	0 (0)	2 (100)	0,00	0,317
6,99 – 5,00	16 (48)	9 (56)	7 (44)	1,29 (0,06 – 26,62)	0,871
<5	13 (39)	8 (62)	5 (38)	1,60 (0,07 – 35,64)	0,765
Temperatur ($^{\circ}$C)					
<38	17 (52)	10 (59)	7 (41)	1,00	
\geq 38	16 (48)	8 (50)	8 (50)	0,70 (0,17 – 2,85)	0,616
WBC (Zellen/μL)					
4500 – 10 000	14 (42)	7 (50)	7 (50)	1,00	
<4500	2 (6)	1 (50)	1 (50)	1,00 (0,05 – 21,34)	1,000
>100 000	17 (52)	10 (59)	7 (41)	1,43 (0,33 – 6,12)	0,629

Tab. 3.9 Vermeintliche Risikofaktoren für eine Anämie an Tag 14 bei transfundierten Kindern

Ebenso wie bei den nicht-transfundierten Kindern scheint das Alter und die Leukozytenanzahl an Tag 0 auch für die transfundierten Kinder keine große Rolle als Risikofaktor für eine Anämie an Tag 14 zu spielen. Doch scheint hier außerdem weder der Hb-Wert an Tag 0, noch die Temperatur einen Einfluss auf

dieses Ereignis zu haben. Der Tabelle 3.9 kann jedoch entnommen werden, dass eine Hyperparasitämie auch bei den transfundierten Kindern einen Risikofaktor für eine Anämie an Tag 14 darstellt und das Odds Ratio bei einem p-Wert von 0,004 auf 4,09 (KI: 1,46 – 11,42) erhöht. Außerdem scheint in dieser Patientinnengruppe, im Gegensatz zu der davor, auch das Alter eine Rolle zu spielen. Transfundierte Kinder von 6 – 24 Monate haben demnach ein auf 10,83 (KI: 0,74 – 158,68) erhöhtes Odds Ratio, eine Anämie an Tag 14 zu bekommen. Der p-Wert liegt hier bei 0,029. Somit sind bei den transfundierten Kindern ein junges Alter und eine Hyperparasitämie an Tag 0 Risikofaktoren für eine Anämie an Tag 14.

3.3.4 Risikofaktoren für eine Anämie an Tag 28

In der Tabelle 3.10 ist die Anzahl der anämischen Kinder an Tag 28 dargestellt, wobei nicht-transfundierte Kinder und transfundierte Kinder getrennt betrachtet werden.

	Alle (%)	Anämisch an Tag 28 (%)	Nicht anämisch an Tag 28 (%)	Odds Ratio (95%-Konfidenz-Intervall)	p-Wert
Transfusion erhalten					
Nein	87 (82)	23 (26)	64 (74)	1,00	
Ja	19 (18)	2 (11)	17 (89)	0,33 (0,07 – 1,56)	0,141

Tab. 3.10 Anämie an Tag 28 bei transfundierten und nicht-transfundierten Kindern

Die Daten in Tabelle 3.10 zeigen, dass an Tag 28 noch 20 Prozent der transfundierten Kinder und 25 Prozent der nicht-transfundierten Kinder eine (leichte) Anämie haben. Somit scheint das Risiko für die transfundierten Kinder geringer an Tag 28 anämisch zu sein. Mit einem p-Wert von 0,141 ist diese Tendenz jedoch nicht signifikant. Im folgenden Abschnitt werden die vermeintlichen Risikofaktoren für eine Anämie vier Wochen nach Diagnosestellung einzeln ausgewertet.

3.3.5 Nicht-transfundierte Kinder an Tag 28

In der Tabelle 3.11 werden vermeintliche Risikofaktoren für nicht-transfundierte Kinder, eine Anämie an Tag 28 zu haben, betrachtet.

	Alle (%)	Anämisch an Tag 28 (%)	Nicht anämisch an Tag 28 (%)	Odds Ratio (95%-Konfidenz-Intervall)	p-Wert
Sex					
Männlich	49 (56)	13 (27)	36 (73)	1,00	
Weiblich	38 (44)	10 (26)	28 (74)	1,00 (0,38 – 2,60)	0,980
Alter (in Monaten)					
49 – 120	48 (55)	11 (23)	37 (77)	1,00	
25 - 48	24 (28)	4 (17)	20 (83)	0,67 (0,19 – 2,42)	0,541
6 – 24	15 (17)	8 (53)	7 (47)	3,8 (1,07 – 13,81)	0,026
Parasitämie/µL					
<250 000	67 (85)	18 (27)	49 (73)	1,00	
≥250 000	12 (15)	5 (42)	7 (58)	1,94 (0,54 – 7,03)	0,302
Hb Tag 0 (mg/dL)					
≥10	41 (48)	5 (12)	36 (88)	1,00	
9,99 – 7	37 (44)	15 (41)	22 (59)	4,91 (1,46 – 16,56)	0,004
6,99 – 5,00	7 (8)	3 (43)	4 (57)	5,40 (0,84 – 34,83)	0,047
<5	0 (0)	0 (0)	0 (0)		
Temperatur (°C)					
<38	48 (55)	12 (25)	36 (75)	1,00	
≥38	39 (45)	11 (28)	28 (72)	0,85 (0,32 – 2,22)	0,738
WBC (Zellen/µL)					
4500 – 10 000	52 (61)	12 (23)	40 (77)	1,00	
<4500	2 (2)	0 (0)	2 (100)	0,00	0,445
>100 000	31 (36)	11 (35)	20 (65)	1,83 (0,68 – 4,95)	0,225

Tab 3.11 Vermeintliche Risikofaktoren für eine Anämie an Tag 28 bei nicht-transfundierte Kindern

Die Tabelle 3.11 zeigt, dass ein junges Alter von nicht-transfundierte Kindern ein Risikofaktor für eine Anämie an Tag 28 ist. So haben Kinder von bis zu zwei Jahren im Vergleich zu älteren Kindern ein auf 3,8 (KI: 1,07 – 13,81) erhöhtes Odds Ratio eine Anämie an Tag 28 zu bekommen. Der entsprechende p-Wert

beträgt 0,026. Als zweiter Risikofaktor stellt sich hier der Hb-Wert an Tag 0 dar. Ein Wert von 7 mg/dl - 10 mg/dl erhöht das Odds Ratio bei einem p-Wert von 0,004 auf 4,91 (KI: 1,46 – 16,56), ein Wert unter 7 mg/dL sogar auf 5,40 (KI: 0,84 – 34,83). Hier liegt der p-Wert bei 0,047. Somit sind ein niedriges Alter und ein niedriger Hb-Wert zum Zeitpunkt der Diagnosestellung und des Therapiebeginns der Malaria bei nicht-transfundierte Kindern Risikofaktoren für eine Anämie an Tag 28.

3.3.6 Transfundierte Kinder an Tag 28

In der folgenden Tabelle 3.11 werden transfundierte Kinder in Bezug auf vermeintliche Risikofaktoren für eine Anämie an Tag 28 betrachtet.

	Alle (%)	Anämisch an Tag 28 (%)	Nicht anämisch an Tag 28 (%)	Odds Ratio (95%-Konfidenz-Intervall)	p-Wert
Sex					
Männlich	12 (63)	1 (8)	11 (92)	1,00	
Weiblich	7 (37)	1 (14)	6 (86)	1,83 (0,09 – 38,28)	0,691
Alter (in Monaten)					
49 – 120	4 (22)	0 (0)	4 (100)	1,00	
25 - 48	3 (17)	1 (33)	2 (67)		0,248
6 – 24	11 (61)	1 (9)	10 (91)		0,547
Parasitämie/µL					
<250 000	9 (53)	0 (0)	9 (100)		
≥250 000	8 (47)	1 (13)	7 (88)		0,289
Hb Tag 0 (mg/dL)					
≥10	1 (5)	0 (0)	1 (100)	1,00	
9,99 – 7	1 (5)	0 (0)	1 (100)		
6,99 – 5	9 (47)	0 (0)	9 (100)		
<5	8 (42)	2 (25)	6 (75)		0,593
Temperatur (°C)					
<38	9 (47)	0 (0)	9 (100)	1,00	
≥38	10 (53)	2 (20)	8 (80)		0,167
WBC (Zellen/µL)					
4500 – 10 000	9 (47)	1 (11)	8 (89)	1,00	
<4500	1 (5)	0 (0)	1 (100)	0,00	0,739
>100 000	9 (47)	1 (11)	8 (89)	1,00 (0,05 – 20,60)	1,000

Tab 3.12 Vermeintliche Risikofaktoren für eine Anämie an Tag 28 bei transfundierten Kindern

Tabelle 3.12 zeigt, dass bei den transfundierten Kindern an Tag 28 nur 2 von 19 an einer Anämie litten. Aufgrund dieser geringen Anzahl lassen sich hinsichtlich der Risikofaktoren keine statistisch signifikanten Aussagen treffen.

3.4 Ergebnisse der multifaktoriellen Analyse

Die multifaktorielle Analyse der Risikofaktoren bestätigt, wie in Tabelle 3.13 anhand des Odds Ratio sowie des p-Wertes dargestellt, einen niedrigen Hb-Wert als Risikofaktor für eine späte Anämie bei nicht-transfunden Kindern.

Patientinnenengruppe	Risikofaktor	Odds Ratio (95% Konfidenzintervall)	p-Wert
Anämie an Tag 14 Nicht-transfundierte	Anämie an Tag 0	7,91 (2,74 – 22,86)	0,000
	Hyperparasitämie	4,65 (0,89 – 30,15)	0,068
	Fieber	0,31 (0,11 – 0,92)	0,034
Anämie an Tag 28 Nicht-transfundierte	Anämie an Tag 0	5,47 (1,76 – 16,97)	0,003
	Alter	0,50 (0,30 – 1,08)	0,086
Anämie an Tag 14 Transfundiert	Anämie an Tag 0	0,30 (0,01 – 11,62)	0,518
	Hyperparasitämie	3,89 (0,73 – 20,59)	0,111
	Alter	0,26 (0,08 – 0,89)	0,031

Tab. 3.13 Multifaktorielle Analyse der Risikofaktoren

Die Tabelle 3.13 zeigt die Ergebnisse einer multifaktoriellen logistischen Regressionsanalyse, die durchgeführt wurde, um unabhängige Risikofaktoren zu identifizieren. Demnach ist die Anämie an Tag 0 der einzige unabhängige Risikofaktor für eine Anämie an Tag 14 oder 28. (OR: 7,91 (KI: 2,74 – 22,86), p-Wert: 0,000 und OR: 5,47 (KI: 1,76 – 16,97), p-Wert: 0,003). Dies gilt allerdings nur für die nicht-transfunden Kinder. Für eine späte Anämie der transfunden Kinder, ergaben die vorhergehenden Analysen keine unabhängigen Risikofaktoren. Ein junges Alter und eine Hyperparasitämie stellen sich in der multivariaten Analyse weder für die transfunden, noch für die nicht-transfunden Kinder, nicht mehr als signifikant dar. Fieber scheint dagegen bei den nicht-transfunden Kinder das Risiko zu senken an Tag 14 an einer Anämie zu leiden (OR: 0,31 (KI: 0,11 – 0,92), p-Wert: 0,034).

4 Diskussion

Um die Ergebnisse dieser Studie diskutieren zu können, sollen im ersten Abschnitt der Diskussion zuerst einige Anmerkungen zu den Rahmenbedingungen der Datenerhebung erfolgen. In dem darauf folgenden Abschnitt werden anschließend die Ergebnisse der Studie diskutiert.

4.1 Rahmenbedingungen

Der Studienort Ghana bot für unsere Studie viele Vorteile. Es gilt als demokratisch gefestigtes Land Westafrikas [83] und pflegt schon lange wirtschaftliche und entwicklungspolitische Beziehungen mit Deutschland. Außerdem hat Ghana ein bestehendes Gesundheitssystem und seit 2004 außerdem eine nationale Krankenversicherung [84, 85]. Doch obwohl die Lebenserwartung sowie das pro Kopf Einkommen der Menschen in Ghana steigt, herrscht dort in vielen Teilen des Landes immer noch sehr viel Armut [86] und eine unzureichende Infrastruktur. Dies kann die Durchführung von Studien und im Besonderen Follow-up Untersuchungen erschweren. So konnten einige der eingeschlossenen Kinder nicht zu Follow-up Untersuchungen kommen, weil ihre Eltern auf dem Feld arbeiten mussten und keine Zeit hatten ihre Kinder ins Krankenhaus zu bringen. Andere wiederum konnten nur schwer erreicht werden, da sie kein Telefon besaßen oder die Häuser in kleinen Dörfern für die Labormitarbeiter nicht auffindbar waren.

4.1.1 Krankenhäuser

Das KATH ist als Krankenhaus der Maximalversorgung besonders geeignet, um komplizierte Malariafälle zu untersuchen, da diese auch aus der Umgebung dorthin verlegt werden. Als Nachteil einer so großen Klinik stellte sich heraus, dass die Kommunikation der einzelnen Stationen, des Labors und der Notaufnahme teilweise schwierig war. Auf den langen Kommunikationswegen gingen sowohl potentielle Studienteilnehmerinnen als auch Daten verloren. Auch

das große Einzugsgebiet des KATH sorgte dafür, dass viele potenzielle Studienteilnehmerinnen nicht eingeschlossen werden konnten, da sie weiter als 30 km vom Krankenhaus entfernt lebten.

Im St. Michael's Hospital in Pramso als mittelgroßes Bezirkskrankenhaus existierte dieses Problem nicht und auch die Follow-up Untersuchungen waren leichter umzusetzen, da der Kontakt mit den Eltern persönlicher war.

4.1.2 Klassifizierung schwere Malaria

In diese Studie wurden alle Kinder im Alter von sechs bis 120 Monaten mit einer Malaria tropica eingeschlossen, deren Verlauf durch die behandelnde Ärztin als kompliziert eingestuft wurde. Von diesen erfüllten aber nur knapp 60 Prozent mindestens ein WHO-Kriterium der schweren Malaria und es wäre somit laut WHO-Leitlinie eine Behandlung mit i.v. Artesunat indiziert gewesen. In unseren Studienkrankenhäusern wurden jedoch alle Kinder, die nach Ermessen der Ärztin eine komplizierte Malaria hatten, mit i.v. Artesunat behandelt. Da nachgewiesen werden konnte, dass i.v. Artesunat zu einer verspäteten Anämie führen kann [87], wurden in unsere Studie alle Kinder eingeschlossen, die mit diesem Medikament behandelt wurden, unabhängig davon ob sie ein WHO-Kriterium für eine komplizierte Malaria erfüllten.

4.1.3 28 Tage Follow-up

Die Behandlung mit i.v. Artesunat wurde mehrfach nachweislich mit einer verspäteten Hämolyse assoziiert [52, 88]. Aus diesem Grund wurde in einigen westlichen Ländern bereits eine Nachverfolgung über vier Wochen von Patientinnen, die mit i.v. Artesunat behandelt wurden, empfohlen [46, 55]. Da diese Nebenwirkung auch bei afrikanischen Kindern beobachtet wurde [49], wurden die in unserer Studie eingeschlossenen Kinder ebenfalls 28 Tage nachverfolgt. So konnte auch ein später Abfall des Hb-Wertes noch erfasst werden

4.2 Diskussion Ergebnisse

Im folgenden Abschnitt werden die Ergebnisse diskutiert, wobei es im ersten Teil um den Zusammenhang zwischen und die Bedeutung der Krankheitsbilder Malaria und Anämie geht. Im zweiten Teil wird die späte Anämie in Bezug auf die verschiedenen Risikofaktoren diskutiert. Anschließend werden Unterschiede zwischen transfundierten und nicht-transfundierten Kindern und der Zusammenhand zwischen Artemisinin und einer späten Anämie betrachtet.

4.2.1 Bedeutung und Risikofaktoren von Malaria und Anämie

Malaria tropica und Anämie sind noch immer ein weitverbreitetes Gesundheitsproblem in vielen Ländern der Erde [89, 90]. So war die Anämie das Symptom, welches 2015 die größte Anzahl an Menschen (2,36 Milliarden) gesundheitlich beeinträchtigte. Besonders bei Kindern haben sowohl die Anämie als auch die Malaria einen großen Einfluss auf ihre Hospitalisierung und Mortalität, wobei die Anämie oft eine Folge der *P. falciparum* Malaria darstellt [17, 91, 92]. Mehrere Studien haben außerdem gezeigt, dass eine Anämie noch Wochen nach einer unkomplizierten Malariainfektion mit *P. falciparum* bestehen kann [33, 93] und sich die gesundheitlichen Folgen somit über einen weitaus größeren Zeitraum als dem der akuten Infektion und Behandlung erstrecken. In der hier vorliegenden Studie wurden Risikofaktoren für eine späte Anämie bei Kindern nach mit intravenösem Artesunat behandelte schwerer Malaria tropica untersucht. Es konnte festgestellt werden, dass in dem Monat nach Erstdiagnose einer schweren *P. falciparum* Malaria und der Behandlung mit intravenösem Artesunat der Hb-Wert der Kinder stetig stieg (siehe Grafik 3.1). An Tag 28 waren trotzdem noch knapp ein Viertel (23,64 %) der Kinder anämisch. Es ist jedoch anzunehmen, dass die Anämie keine direkte Folge der *P. falciparum* Infektion ist, da sich die initiale Anämie zum Zeitpunkt der Diagnosestellung der Malaria als Hauptrisikofaktor für eine späte Anämie nach der Malaria darstellte. Somit trägt die Malaria wahrscheinlich zu einem Fortbestehen oder einer Verschlechterung einer Anämie bei, ist aber in vielen Fällen nicht der Auslöser der Anämie. Unsere Stichprobe war zu klein, um Rückschlüsse auf Mortalität oder Hospitalisierung zu ziehen. Eine Metaanalyse aus dem Jahr 2001 zeigte jedoch, dass Kinder, die von einer

schweren Anämie (Hb < 50 g/L) in Verbindung mit einer Malariainfektion betroffen waren, noch bis zu zwei Monate nach der akuten Infektion eine höhere Mortalität aufwiesen [17]. Ein weiteres Ergebnis dieser Analyse war, dass ein hohes Sterberisiko mit einem jungen Alter und einem niedrigen Hb bei Kindern assoziiert war. Diese Faktoren konnten wir in unseren Ergebnissen zwar nicht in Hinblick auf Mortalität und Hospitalisierung untersuchen, doch zeigte sich, dass beide Faktoren ebenfalls das Risiko für eine späte Anämie in bestimmten Patientinnengruppen erhöhen (Vgl. Tab. 3.9).

4.2.2 Ursachen Anämie

Die Ursachen einer Anämie können vielfältig und teilweise schwer zu differenzieren sein und werden im folgenden Abschnitt diskutiert. Genaue Untersuchungen bezüglich der Anämieursachen der Studienteilnehmerinnen wurden nicht unternommen, weshalb es schwierig ist zwischen einer bereits vor der Malariainfektion bestehender Anämie, einer durch die Malariainfektion entstandene oder einer durch artemisininhaltige Medikamente entstandene Anämie zu unterscheiden. Es bleibt zu vermuten, dass die fortdauernde Anämie der eingeschlossenen Kinder zwei oder vier Wochen nach der Diagnosestellung der *P. falciparum* Infektion durch eine Anämie, die bereits vor der Malariainfektion bestand, bedingt ist (siehe Tab. 3.13) und somit nicht im direkten Zusammenhang mit der Malariainfektion steht. Natürlich kann es auch durch eine Malariainfektion auf Grund verschiedener Mechanismen zu einer Anämie sowohl während, als auch nach der Infektion kommen [36]. Grund für eine späte Anämie nach Malariainfektion kann eine PADH sein, die durch die Therapie mit Artesunat ausgelöst werden kann und dessen Mechanismen in der Einleitung genauer erläutert werden [44, 46, 94]. Zudem wird in vielen Studien beschrieben, dass sowohl eine verminderte Produktion [37, 42], als auch eine kürzere Lebenserwartung der Erythrozyten [38-40], zu einer Anämie während und nach einer Malariainfektion führen können. Es ist anzunehmen, dass es durch die Infektion mit *P. falciparum* zu einer Knochenmarksuppression kommt, was eine Ursache der verminderten Produktion von Erythrozyten darstellt [41, 95].

Darüber hinaus gibt es noch zahlreiche weitere malariaunabhängige Gründe, die zu einem niedrigen Hb-Wert führen können. Beispielsweise ist Eisenmangel in

über 50 Prozent aller anämischen Patientinnen Ursache für diese [89]. Ebenso können Wurminfektionen (besonders Hakenwürmer und Schistosomen), bakterielle Infektionen, HIV-Infektionen, Hämoglobinopathien und Mangelernährung neben Malaria zu einer Anämie führen [15, 34, 96, 97]. In einer Metaanalyse von 2014 fanden Ngesa, O. und Mwambi, H. heraus, dass auch Armut der Familie und der Bildungsstand der Mutter Risikofaktoren für eine Anämie der Kinder waren [98]. So hatten Kinder, deren Mütter keine Schulbildung genossen hatten ein 1,5-mal so hohes Risiko an einer Anämie zu leiden, als Kinder deren Mütter die Sekundarschule abgeschlossen hatten. All diese Risikofaktoren wurden in der hier vorliegenden Studie in Bezug auf eine späte Anämie nach schwerer Malariainfektion und Behandlung mit i.v. Artesunat nicht untersucht.

4.2.3 Risikofaktoren einer späten Anämie

In der hier vorliegenden Studie wurden speziell Risikofaktoren für eine Anämie an Tag 14 und 28 nach einer schweren *P. falciparum* Malaria bei sechs bis 120 Monate alten Kindern, deren Behandlung mit i.v. Artesunat erfolgte, analysiert. Insgesamt waren an Tag 14 69 (53,5 %) und an Tag 28 noch 25 Kinder (23,6 %) anämisch, was die späte Anämie zu einer häufigen Folge der schweren Malaria tropica macht. Bisher existieren jedoch nicht viele Studien hierzu. Schon 1995 wurde in einer prospektiven Studie ein Zusammenhang zwischen Malaria und Anämie hergestellt [99]. So seien Kinder, die in einem holoendemischen Malariagebiet leben, oft von Anämie betroffen. Ein weiterer Review beschreibt ebenfalls, dass die Eindämmung von Malaria auch zu einem Rückgang der Anzahl an anämischen Kindern führte [91]. Im Folgenden werden die verschiedenen Risikofaktoren für eine späte Anämie nach Malariainfektion diskutiert.

4.2.3.1 Geschlecht

Die hier vorliegenden Ergebnisse zeigen keinen signifikanten Unterschied der Geschlechter in Bezug auf das Risiko, an einer späten Anämie zu leiden. Daraus folgt, dass Kinder unabhängig von ihrem Geschlecht in dem gleichen Ausmaß von einer späten Anämie betroffen sind. In zwei anderen Studien konnte gezeigt werden, dass Mädchen ein höheres Risiko hatten, schon bei der Diagnosestellung einer unkomplizierten Malaria an einer Anämie [43] oder im Verlauf einer

schweren Malaria an einer schweren Anämie [92] zu leiden. Zwei Querschnittsstudien zeigten dagegen, dass Jungen ein höheres Gesamtrisiko hatten eine Anämie zu haben [98, 100]. Der Einfluss des Geschlechts auf das Risiko einer späten Anämie nach einer *P. falciparum* Malariainfektion und der Behandlung mit i.v. Artesunat muss in weiteren Studien ermittelt werden.

4.2.3.2 Alter

Es existieren viele Studien, die ein junges Alter als Risikofaktor für verschiedenste Formen der Anämie ermittelt haben. So haben zum Beispiel kenianische Kinder unter 5 Jahren generell ein höheres Risiko an einer Anämie zu leiden [98] als Kinder, die schon 14 Jahre alt sind. In Tansania waren bei den Kindern unter fünf Jahren diejenigen, die sechs bis elf Monate alt waren, am häufigsten von einer Anämie betroffen [101]. Eine prospektive Studie von 2008 [102] beschreibt außerdem, dass ein Alter von unter vier Jahren einen Risikofaktor für eine schwere Anämie auf Grund einer *P. falciparum* Malaria darstellt. Der Zusammenhang zwischen einem jungen Alter und einem höheren Risiko für eine begleitende Anämie bei Malariainfektion, wird in zahlreichen weiteren Studien beschreiben [14, 32, 103, 104]. Auch als Risikofaktor für eine späte Anämie nach unkomplizierter *P. falciparum* Infektion, ist ein Alter unter fünf Jahren schon beschrieben [33, 45].

Die hier vorliegenden univarianten Analysen ergaben, dass ein junges Alter auch bei komplizierter Malaria, die mit i.v. Artesunat behandelt wurde, einen Risikofaktor darstellt: bei den transfundierten Kindern für eine Anämie an Tag 14 (OR (25 – 48 Mo): 3,75 (KI: 0,22 – 64,20) und OR (6 – 24 Mo): 10,83 (KI: 0,74 – 158,68) und bei nicht-transfundierten Kindern für eine Anämie an Tag 28 (OR (6 – 24 Mo): 3,8 (KI: 1,07 – 13,81). In der Multivarianten Analyse stellte sich das Alter jedoch nicht als unabhängiger Risikofaktor dar. Dies lässt sich potenziell auf Störfaktoren in der univarianten Analyse zurückführen. So hatten jüngere Kinder vermutlich niedrigere Hb-Werte bei Aufnahme, was dann dafür sorgte, dass ein jüngeres Alter ein Risikofaktor für eine späte Anämie zu sein schien. Dabei ist der eigentliche Risikofaktor die initiale Anämie, die häufiger bei jüngeren Kinder auftrat und in der Analyse somit einen Störfaktor darstellt.

4.2.3.3 Parasitämie

In anderen Studien wird eine hohe Parasitämie zum Zeitpunkt der Diagnosestellung als ein Risikofaktor für einen Hämatokritabfall von über fünf Einheiten [105] oder eine späte Anämie beschrieben [33, 45]. Diese Studien beziehen sich auf eine unkomplizierte *P. falciparum* Malaria. Auch Kremsner et al. konnten in einer Studie, in der Kinder mit einer komplizierten *P. falciparum* Malaria, die mit intramuskulärem Artesunat behandelt wurden, eingeschlossen wurden, keinen Zusammenhang zwischen einer Hyperparasitämie und einer späten Anämie [87] feststellen. Es ist jedoch beschrieben, dass eine Hyperparasitämie einen wichtigen Risikofaktor für eine späte Hämolyse als eine Unterform der späten Anämie darstellt [49]. Auch diese Studie bezieht sich auf eine komplizierte *P. falciparum* Malaria, die mit intravenösem Artesunat behandelt wurde [49]. Die hier vorliegenden Ergebnisse der univariaten Analyse ergaben, dass eine Hyperparasitämie an Tag 0 für alle Patienten einen Risikofaktor für eine Anämie an Tag 14 darstellt (OR bei den NT: 5,97 (KI: 1,17 – 30,41) und OR bei den T: 4,09 (KI: 1,46 – 11,42)). In der multivariaten Analyse konnte diese nicht als unabhängiger Risikofaktor herausgestellt werden. Auch hier treten wieder Störfaktoren auf. Vermutlich waren Kinder mit einer Hyperparasitämie am Aufnahmetag häufiger von einer Anämie betroffen als Kinder mit niedrigeren Parasitämien. Dadurch zeigte sich in der univariaten Analyse ein Zusammenhang zwischen einer initialen Hyperparasitämie und einer späten Anämie, der eigentlich auf die initiale Anämie zurückzuführen ist.

4.2.3.4 Temperatur an Tag 0

Fieber konnte in unserer Studie weder bei den transfundierten, noch bei den nicht-transfundierten Kindern als Risikofaktor für eine späte Anämie an Tag 14 oder 28 festgestellt werden. Bei den nicht-transfundierten Kindern scheint Fieber das Risiko für eine Anämie an Tag 14 sogar zu verringern (OR: 0,31 (KI: 0,11 – 0,92)). Andere Studien beschreiben, dass Kinder mit einer schweren Anämie häufiger Fieber hätten [100], dieses einen unabhängigen Risikofaktor für eine Anämie zum Zeitpunkt der Diagnosestellung einer unkomplizierten *P. falciparum* Malaria darstellt und dass Fieber ein diagnostisches Kriterium bietet, um eine Anämie vorauszusagen [99]. Fieber ist jedoch ein sehr unspezifischer Parameter, der gerade bei Kindern in vielen Zusammenhängen auftritt und durch unterschiedliche Einflussfaktoren bedingt sein kann.

4.2.3.5 Hb an Tag 0

Eine Anämie an Tag 0 stellt in unserer multivariaten Analyse den einzigen unabhängigen Risikofaktor bei allen nicht-transfunden Kindern für eine Anämie an Tag 14 oder 28 dar (Vgl. Tab. 3.11). Bei den transfunden Kindern ergibt sich dieser in den Analysen nicht. Dies legt nahe, dass Kinder mit einem Hb von unter 5 mg/dL an Tag 0 von einer Bluttransfusion profitieren, da diese das Risiko für eine späte Anämie in dieser Gruppe reduziert. Auch die Grafik 3.2 zeigt, dass der Hb bei Kindern ohne Transfusion in den ersten sieben Tagen nach Infektion mit *P. falciparum* sinkt, während er bei den Kindern, die anfänglich eine schwere Anämie hatten und eine Bluttransfusion erhalten haben, in den ersten sieben Tagen steigt. An Tag 7 erreichen dann beide Gruppen ein ähnliches Hb-Level, welches im Verlauf kontinuierlich ansteigt. Somit zeigen unsere Daten, dass sich der Hb-Wert der Kinder nach einem anfänglichen Absinken auf Grund der Malariainfektion, im Verlauf des ersten Monats wieder erholt. In einem Review von 2001 [43] wird beschrieben, dass es nach einer unkomplizierten Malaria sechs Wochen dauert bis sich die Blutwerte wieder erholt haben und die Erholung bei denjenigen länger dauert, die an Tag 0 bereits eine Anämie hatten. Eine andere Studie untersuchte ebenfalls den Hb-Verlauf von Kindern mit einer unkomplizierten *P. falciparum* Malaria [106]. Ihre Ergebnisse zeigen, dass die Hb-Werte von Kindern mit einer Anämie an Tag 0 mit Beginn einer Behandlung schneller wieder stiegen, jedoch nach 28 Tagen immer noch deutlich niedriger waren als die der Kinder ohne Anämie an Tag 0. Zudem waren nach 28 Tagen immer noch 47 Prozent der Patientinnen anämisch, wobei hier auch Erwachsene untersucht wurden. Es existieren vielfache Gründe für eine Anämie bei Kindern in Malariaendemiegebieten [15, 34, 35]. Eisenmangel, Schistosomiasis, Hakenwurmbefall und Hämoglobinopathien gehören neben Malaria in Westafrika zu den häufigsten. Somit ist zu vermuten, dass das Risiko für eine späte Anämie nach Malariainfektion durch eine konsequente Behandlung bereits vorher bestehender Anämien gemindert werden kann; z.B. durch Eisensubstitution oder Gabe von Anthelminthikum bei Wurmbefall. Da auch Malaria in Endemiegebieten zu einem der häufigsten Gründe für eine Anämie zählt, ist eine konsequente saisonale Chemoprophylaxe für Kinder wie sie von der WHO empfohlen wird ebenfalls als sinnvoll zu erachten [107, 108]. Sie senkt die Malariainzidenz während der Saison und somit auch das Risiko für eine Anämie. Laut dem WHO-

Bericht von 2018 haben 2017 jedoch knapp 50 Prozent der Kinder in den zwölf Ländern für die eine Empfehlung zur saisonalen Chemoprophylaxe ausgesprochen wurde, keine Chemoprophylaxe erhalten [4]. Eine flächendeckendere Chemoprophylaxe sowie weitere Maßnahmen zur Senkung der Malariainzidenz wie IRS oder ITNs sollten angestrebt werden, um die Zahl der Malariainfektionen bei Kindern zu senken und somit auch einen höheren Ausgangshämoglobinwert zu erreichen. Zudem sollten weitere Studien erfolgen, die eine Anämie an Tag 0 als Risikofaktor für eine späte Anämie nach komplizierter Malaria untersuchen. Genauere Analysen sollten auch in Bezug auf die verschiedenen Ursachen für Anämien erfolgen.

4.2.3.6 WBC an Tag 0

Die hier vorliegenden Analysen ergaben, dass sowohl eine Leukozytose als auch eine Leukopenie weder bei den transfundierten noch bei den nicht-transfundierten Kindern einen Risikofaktor für eine späte Anämie darstellt. Eine kontrolliert randomisierte Studie mit Kinder im gleichen Alter (sechs Monate bis zehn Jahre) ergab im Gegensatz dazu, dass eine späte Anämie nach einer schweren Malaria mit einem Anstieg der Leukozyten und der neutrophilen Granulozyten einher geht [87]. Da in der ART-FU Studie keine genauere Differenzierung der Leukozyten stattfand, kann ein Anstieg der neutrophilen Granulozyten und Veränderungen der anderen Untergruppen nicht beurteilt werden. Ein genereller Anstieg der Leukozyten konnte jedoch nicht beobachtet werden.

4.2.3.7 Therapieversagen und Neuinfektionen

Ein Therapieversagen wird in vielen Studien als wichtiger Grund für eine späte Anämie genannt [45] und auch eine Neuinfektion mit *P. falciparum* kann für eine späte Anämie [33, 109] verantwortlich sein. Ein Therapieversagen, bzw. eine Neuinfektion, wurde in der hier vorliegenden Studie nicht anhand eines erneuten „Dicken Tropfens“ nach Therapiebeginn überprüft. Es ist jedoch davon auszugehen, dass es bei keinem unserer Studienteilnehmerinnen dazu gekommen ist. Keines der Kinder zeigte an den Follow-up Tagen erneute Symptome. Die Daten von Zwang et al. legen darüber hinaus nahe, dass resistente *P. falciparum* nicht zu der Entwicklung einer Anämie während einer Malariainfektion beitragen [110]. Ihre Bedeutung in Bezug auf eine späte Anämie nach der akuten Malariainfektion, muss noch genauer untersucht werden.

4.2.4 Transfundierte und nicht-transfundierte Kinder im Vergleich

4.2.4.1 Mittlere Hb-Werte

In den hier vorliegenden Analysen wurden transfundierte und nicht-transfundierte Kinder miteinander verglichen. Es zeigte sich, dass sich die mittleren Hb-Werte im Verlauf nicht signifikant voneinander unterschieden (Vgl. Grafik 3.2). Lediglich an Tag 0 lag der Hb-Mittelwert der transfundierten Kinder mit 5,98 mg/dL (SD: 2,27) deutlich unter dem der nicht-transfundierten Kinder (9,83 mg/dL (SD: 1,86)). Die Kinder hatten zu diesem Zeitpunkt jedoch noch keine Transfusion erhalten und der niedrige Hb-Wert an Tag 0 stellt das entscheidende diagnostische Kriterium für eine Bluttransfusion dar (Vgl. Tab3.12). Somit lässt sich vermuten, dass die schnelle Erholung des mittleren Hb-Werts der anämischen Kinder auf die Bluttransfusion zurück zu führen ist.

4.2.4.2 Verhinderung einer späten Anämie durch Bluttransfusionen

Die Tabelle 3.10 der Auswertung zeigt, dass vor allem Kinder unter zwei Jahren mit einem Hb-Wert unter 7 mg/dL eine Bluttransfusion erhalten haben. Auch Pasvol beschreibt 2005 [111], dass die Gabe einer Bluttransfusion bei einem Hb-Wert über 7 mg/dL meistens nicht nötig sei. In einer Studie von 2002 [72] wurde gezeigt, dass die Sterblichkeit von Kindern mit einer Anämie und einer Atemstörung, einer Malaria und einer Atemstörung, einem Hb-Wert unter 40 g/L oder Prostration durch die frühe Gabe einer Bluttransfusion von 89 auf 23 Prozent gesenkt werden konnte. Auch eine randomisierte klinische Studie von 2012 [112] konnte einen Rückgang der Sterblichkeit bei Kindern mit einer malariabedingten lebensbedrohlichen Anämie durch frühe Bluttransfusionen belegen. Eine Metaanalyse von 2007 [73] ergab dagegen, dass es keinen wesentlichen Vorteil in Bezug auf die Mortalität oder ein schwerwiegendes unerwünschtes Ereignis für die Patientinnen gab, die eine Bluttransfusion erhalten hatten. Hier wurden allerdings nicht ausschließlich Kinder eingeschlossen, was den Unterschied in den Ergebnissen erklären kann. Denn gerade junge Kinder und Schwangere sollen laut einer Querschnittsstudie aus dem Jahre 2012 [75] besonders von frühen Bluttransfusionen profitieren. Auch die hier vorliegenden Analysen lassen vermuten, dass die Gabe von Transfusionen dafür sorgte, dass ein Großteil der an Tag 0 anämischen Kinder an Tag 7 bereits wieder einen Hb-Wert hatten, der mit dem der nicht-transfundierten Kinder gleichauf war. Interessant ist außerdem,

dass ein niedriger Hb-Wert an Tag 0 bei den transfundierten Kindern keinen Risikofaktor für eine Anämie an Tag 14 oder 28 darstellt (Vgl. Tab. 3.7). In der nicht-transfundierten Patientinnengruppe stellt dies dagegen den wichtigsten Risikofaktor für diese dar (Vgl. Tab. 3.11). Das lässt annehmen, dass eine Bluttransfusion für Kinder mit einem niedrigen Hb an Tag 0 hilfreich ist, um eine späte Anämie zu verhindern.

Rückschlüsse auf die Sterblichkeit oder schwerwiegende unerwünschte Ereignisse im Zusammenhang mit erhaltenen oder nicht-erhaltenen Transfusionen lassen die Ergebnisse nicht zu. So problematisiert zum Beispiel eine Studie von 1998 [71] die Übertragung von HIV oder anderen durch Bluttransfusionen übertragende Infektionskrankheiten. In dieser Studie zeigten die Ergebnisse, dass eine Bluttransfusion nur von Vorteil sei, wenn das HIV-Übertragungsrisiko minimal, das Risiko ohne den Erhalt einer Bluttransfusion zu sterben und der wahrscheinliche Nutzen dieser sehr hoch seien. In Ghana infizierten sich 2017 laut Schätzungen der WHO ca. 19000 Menschen mit HIV bei einer ebenfalls geschätzten Prävalenz von 1,7 Prozent unter den Erwachsenen im Alter von 15 – 49 Jahren [113]. Im Vergleich mit der WHO Region Afrika mit einer durchschnittlichen Prävalenz von 4,1 Prozent ist die HIV-Prävalenz bei Erwachsenen in Ghana somit relativ niedrig. Im internationalen Vergleich ist sie jedoch eher hoch, da die globale HIV-Prävalenz laut WHO 2017 bei 0,8 lag. In Pramso wurden die Bluttransfusionen entweder aus der Blutbank gegeben oder in der Verwandtschaft eine Spenderin mit der gleichen Blutgruppe gesucht, wenn kein passendes Blut vorrätig war. Jegliche Blutspenden wurden auf HIV 1 und 2, Hepatitis B und C und Syphilis gescreent und in den letzten zwanzig Jahren hat sich niemand wissentlich in Pramso über eine Bluttransfusion mit HIV infiziert. Somit war das Risiko durch die Bluttransfusion eine Infektionskrankheit zu bekommen für die Kinder, die in Pramso behandelt wurden, sehr gering. Der Nutzen einer Bluttransfusion bei einer anfänglichen Anämie scheint demnach gegeben, da die Bluttransfusion das Risiko einer späten Anämie für diese Kinder deutlich senkt, bzw. sogar aufhebt.

4.2.5 Artemisinin und späte Anämie

Der Zusammenhang von Artemisinin, insbesondere von Artesunat, und einer verspäteten Anämie wurde bereits in mehreren Studien beschrieben [45, 47, 114]. Hier ergaben die Analysen von Sagara und Parroux et al., dass ein niedriges Alter (unter fünf Jahren), eine hohe Parasitämie und ein Therapieversagen ein Risiko für diese darstellt. Ein hoher Hb-Wert am Tag der Aufnahme, würde sich dagegen protektiv auf den Krankheitsverlauf auswirken. In unserer Studie stellen ein junges Alter und eine Hyperparasitämie in der univariaten Analyse nur bei den transfundierten Kindern einen Risikofaktor für eine Anämie an Tag 14 dar. Beide Risikofaktoren stellten sich jedoch in der multifaktoriellen Analyse als nicht signifikante Einflussgrößen dar, was für das Vorhandensein von anderen beeinflussenden Faktoren spricht (vgl. 3.2.3.2. und 3.2.3.3.).

4.2.5.1 Verspätete hämolytische Anämie

In einem Review von 2012 wurden Fälle zusammengefasst in denen die Behandlung einer schweren Malaria mit Artesunat zu einer hämolytischen Anämie führte [46, 115]. Auch eine retrospektive Studie zeigte, dass vermehrt Fälle einer hämolytischen Anämie im Zusammenhang mit Artesunat auftraten [116]. Es konnte jedoch nicht hinreichend geklärt werden, ob die hämolytische Anämie durch die schwere Malaria oder das Artesunat ausgelöst wurde. Eine Studie von Rolling et al. lässt jedoch vermuten, dass ein Zusammenhang zwischen der Behandlung mit Artesunat und der verspätete hämolytischen Anämie besteht, da die Anämie nur nach Therapie mit Artesunat, nicht aber mit Chinin, auftritt [52]. Doch nicht nur nach der i.v. Therapie mit Artesunat, sondern auch nach einer oralen, parenteralen oder intramuskulären Therapie mit anderen Artemisinin-Derivaten, wurde bereits eine hämolytische Anämie beschrieben [44, 117]. Rehman et al. fassen in einem Review 37 Patientinnen mit hämolytischer Anämie nach Therapie mit Artemisinin-Derivaten, zusammen. 83,8 Prozent von ihnen hatten i.v. Artesunat erhalten. Risikofaktoren für die hämolytische Anämie konnten noch nicht abschließend geklärt werden. Es liegen Vermutungen nahe, dass eine hohe Parasitämie und ein junges Alter bei Kindern das Risiko erhöhen [46, 49, 50]. Es sind jedoch weitere Studien nötig, um diese Hypothesen zu belegen. Auch über den zugrundeliegenden Pathomechanismus, liegen zurzeit multiple Theorien vor [44, 94]. Eine wichtige Rolle scheinen dabei Erythrozyten zu spielen, die mit *P.*

falciparum infiziert waren und durch einen Prozess in der Milz von dem zu Grunde gegangenen Parasiten befreit werden [118, 119]. Dieser Prozess wird als entscheidend für ein Auftreten der späten hämolytischen Anämie postuliert [50, 120]. Es wird angenommen, dass diese – von parasitären Überresten befreiten – Erythrozyten eine kürzere Lebenszeit haben als niemals-infiziert-gewesene Erythrozyten. So kommt es möglicherweise durch ein zeitgleiches „Sterben“ dieser ehemals infizierten Erythrozyten zur verspäteten Hämolyse. Ebenso wird diskutiert, ob die eisenabhängige Bildung von Radikalen durch Artesunat zum Tod von Zellen führt. Da Zellen der Erythropoese vermehrt Eisen enthalten, kommt es hier vermehrt zum vorzeitigen Zelltod und damit längerfristig zu einer Anämie [94, 121]. Auch eine immunologische Reaktion, Hämoglobinopathien oder Enzymdefekte und Unterschiede in der Metabolisierung des Medikaments kommen als Ursachen in Frage [44, 122]. In der vorliegenden Studienauswertung wurden Hämolyseparameter nicht berücksichtigt. Dementsprechend könne keine Rückschlüsse angestellt werden, ob der späten Anämie der jeweiligen Kinder eine Hämolyse zu Grunde lag.

4.3 Schlussfolgerung

Die Anämie zu Beginn einer schweren Malaria tropica stellt den einzigen Prediktor für eine späte Anämie nach Malariainfektion unter Artesunattherapie dar. Eine Hyperparasitämie und ein junges Alter stellten sich dagegen nicht als unabhängige Risikofaktoren heraus. Somit würde eine Senkung der Anämieraten durch z.B. eine Senkung der Malariaraten, der Supplementation von Eisen oder der regelmäßigen Gabe von Antihelminthika, in Endemieländern zu einer Senkung der Anämieraten nach Malariainfektion führen.

Eine Transfusion scheint das Risiko für eine späte Anämie auszugleichen. Dies stützt die Aussage, dass der Hb-Wert zu Beginn tatsächlich prädiktiv ist. Diese Tatsache sollte bei der Kosten-Nutzen-Analyse bei anämischen Kindern mit einbezogen werden.

5 Zusammenfassung

Malaria ist die häufigste Infektionskrankheit weltweit und geht oft mit einer Anämie einher. Das größte Risiko an Malaria zu erkranken besteht für Kinder unter fünf Jahren im subsaharischen Afrika. Eben diese Altersgruppe ist es auch, die durch multiple Ursachen, wie zu Beispiel Malariainfektionen, Eisenmangel oder parasitäre Infektionen am häufigsten von einer Anämie betroffen ist. In dieser Studie wird der Verlauf des Hb-Wertes nach einer Malaria tropica und der Behandlung mit Artesunat beschrieben und es werden Risikofaktoren für eine späte Anämie herausgearbeitet.

Die prospektiv beobachtende Studie wurde in Ghana am Komfo Anokye Teaching Hospital in Kumasi und dem St. Michael's Hospital in Jachie-Pramso durchgeführt. Es wurden Kinder im Alter von sechs bis 120 Monate eingeschlossen, die durch die behandelnden Ärztinnen die Diagnose einer schweren Malaria zugewiesen bekamen. Die Behandlung erfolgte mit i.v. Artesunat.

Die Analysen ergaben, dass unter den eingeschlossenen Kindern über 50 Prozent jünger als vier Jahre waren und fast ein Drittel transfundiert werden musste. Der mittlere Hb-Wert aller eingeschlossenen Kinder stieg im Verlauf und bereits ab Tag 7 zeigten sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den transfundierten und nicht-transfundierten Kindern mehr. An Tag 28 waren noch knapp ein Viertel (24 %) der Kinder anämisch.

Eine hohe Parasitämie und ein junges Alter sind bei Kindern bereits mehrfach als Risikofaktor für eine späte Anämie bei Malaria beschrieben worden, was in der vorliegenden univariante Analyse teilweise bestätigt werden konnte. In der multivariante Analyse konnte dies nicht gezeigt werden, was für ein Vorhandensein von Störfaktoren spricht.

Die multivariante Analyse ergab dagegen, dass eine Anämie an Tag 0 der einzige unabhängige Risikofaktor für eine Anämie an Tag 14 oder 28 bei den nicht-transfundierten Kindern war. Für die transfundierten Kinder konnten hier keine signifikanten Risikofaktoren ermittelt werden. Dies legt den Schluss nahe, dass eine Transfusion das Risiko einer späten Anämie für die Kinder mit einer Anämie an Tag 0 ausgleicht und somit für diese protektiv wirkt.

Der Zusammenhang einer späten Anämie mit einer Malariainfektion und der Behandlung mit Artemisinin-Derivaten muss weiter Gegenstand der Forschung bleiben, um weitere Kenntnisse bezüglich der Risikofaktoren und der Pathomechanismen zu erlangen. Auch der Nutzen von Bluttransfusionen sollte weiter Gegenstand der Forschung bleiben und genauere Kriterien für deren Gabe zu entwickeln.

6 Abstract

Worldwide malaria is one of the most common infectious diseases and often is associated with anemia. Children under the age of five years living in Sub-Saharan Africa have the highest risk to be infected with malaria. This group of age also is the one that is often suffering from anemia due to different causes like for example malaria, iron deficiency or parasitic infections. In this study the development of the haemoglobin after severe malaria and the treatment with artesunate is been described. Also risk factors for delayed anemia are presented.

The study design was prospective and observational and the study took place in Ghana at the Komfo Anokye Teaching Hospital in Kumasi and the St. Michael's Hospital in Jachie-Pramso. Children at the age from six to 120 months were eligible to be included in the study if the treating doctors in the hospitals diagnosed them with severe malaria. Patients were treated with intravenous artesunate.

The analyses showed that over 50 percent of the patient were younger than four years and that almost one third had to receive RBC transfusion. The average haemoglobin of all patients that were included raised in course of the observation days. From day 7 there were no significant differences between children that got transfusion and the ones that did not. On day 28 almost one quarter (24 %) of the children were anemic.

Hyperparasitaemia and young age has often been said to be risk factors for delayed anemia after malaria. Partially, the present study confirmed these risk factors in univariate analysis whereas in multivariate analysis they could not be confirmed, which indicates that there have to be confounders.

The multivariate analysis showed that anemia on day 0 is the only independent risk factor for anemia on day 14 or 28 in children without transfusion. In children, that got RBC transfusion on day 0, significant risk factors for delayed anemia could not be found. This suggests that being transfused compensates the risk for delayed anemia and has a protective effect.

To obtain further knowledge about risk factors and pathomechanisms the correlation between delayed anemia, malaria and treatment with artemisinin

derivates should be subject of further research. Furthermore, the benefit of blood transfusion should be elaborated in following studies. In order to decide whom to transfuse, greater criteria have to be defined.

IV Literaturverzeichnis

1. Bank, W., *Incidence of malaria (per 1000 population at risk)*, 2015. 2015.
2. Wikipedia, C.a.G. *Plasmodium Entwicklungszyklus*. 2005 29.12.2017]; Available from: https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/3/33/Plasmodium_zyklus.png.
3. Cui, L. and X.Z. Su, *Discovery, mechanisms of action and combination therapy of artemisinin*. *Expert Rev Anti Infect Ther*, 2009. 7(8): p. 999-1013.
4. Organisation, W.H., *World malaria report 2018*. 2018.
5. Lawrence, C., *Laveran remembered: malaria haemozoin in leucocytes*. *Lancet*, 1999. 353(9167): p. 1852.
6. Ross, R., *The role of the mosquito in the evolution of the malarial parasite: the recent researches of Surgeon-Major Ronald Ross, I.M.S. 1898*. *Yale J Biol Med*, 2002. 75(2): p. 103-5.
7. Sirima, S.B., et al., *A phase 2b randomized, controlled trial of the efficacy of the GMZ2 malaria vaccine in African children*. *Vaccine*. 34(38): p. 4536-42.
8. Konate, A.T., et al., *Morbidity from malaria in children in the year after they had received intermittent preventive treatment of malaria: a randomised trial*. *PLoS One*. 6(8): p. e23391.
9. Lengeler, C., *Insecticide-treated bed nets and curtains for preventing malaria*. *Cochrane Database Syst Rev*, 2004(2): p. CD000363.
10. Pluess, B., et al., *Indoor residual spraying for preventing malaria*. *Cochrane Database Syst Rev*, (4): p. CD006657.
11. Agboghoroma, C.O., *Current management and prevention of malaria in pregnancy: a review*. *West Afr J Med*. 33(2): p. 91-9.
12. World Health Organisation, W., *World Malaria Report 2015*, in *Country Profiles Ghana*. 2015: Geneva, Schweiz.
13. Organization, W.H., *World Malaria Report 2016*, G.W.H. Organization, Editor. 2016, WHO: Geneva.
14. Kuijpers, L.M., et al., *Severe anaemia associated with Plasmodium falciparum infection in children: consequences for additional blood sampling for research*. *Malar J*. 15: p. 304.
15. Calis, J.C., et al., *Severe anemia in Malawian children*. *N Engl J Med*, 2008. 358(9): p. 888-99.
16. Orimadegun, A.E., et al., *Increasing burden of childhood severe malaria in a Nigerian tertiary hospital: implication for control*. *J Trop Pediatr*, 2007. 53(3): p. 185-9.
17. Brabin, B.J., Z. Premji, and F. Verhoeff, *An analysis of anemia and child mortality*. *J Nutr*, 2001. 131(2S-2): p. 636S-645S; discussion 646S-648S.
18. interMEDIS, S.P., *Malariaprophylaxe 2016*. 2016, Deutsche Gesellschaft für Tropenmedizin und Internationale Gesundheit (DTG). p. Einteilung in Zonen mit unterschiedlicher medikamentöser Chemoprophylaxe gemäß den Empfehlungen der DTG - Deutschen Gesellschaft für Tropenmedizin und Internationale Gesundheit.
19. Worrall, E., S. Basu, and K. Hanson, *Is malaria a disease of poverty? A review of the literature*. *Trop Med Int Health*, 2005. 10(10): p. 1047-59.
20. Cibulskis, R.E., et al., *Malaria: Global progress 2000 - 2015 and future challenges*. *Infect Dis Poverty*. 5(1): p. 61.

21. Idowu, O.A., et al., Awareness, possession and use of insecticide-treated nets for prevention of malaria in children under five in Abeokuta, Nigeria. *J Paediatr Child Health*. 47(3): p. 117-21.
22. Gollin, D.a.Z., Christian, Malaria: Disease Impacts and Long-Run Income Differences. *Economics Working Papers*, 2007. 200730.
23. de-Graft Aikins, A., Ghana's neglected chronic disease epidemic: a developmental challenge. *Ghana Med J*, 2007. 41(4): p. 154-9.
24. Tagbor, H., et al., Seasonal malaria chemoprevention in an area of extended seasonal transmission in Ashanti, Ghana: an individually randomised clinical trial. *Trop Med Int Health*. 21(2): p. 224-35.
25. Krefis, A.C., et al., Modeling the relationship between precipitation and malaria incidence in children from a holoendemic area in Ghana. *Am J Trop Med Hyg*. 84(2): p. 285-91.
26. Dery, D.B., et al., Patterns and seasonality of malaria transmission in the forest-savannah transitional zones of Ghana. *Malar J*. 9: p. 314.
27. Thomas Löscher, R.H., Andreas Krüger, Gerd-Dieter Burchard, *Tropenmedizin in Klinik und Praxis: mit Reise- und Migrationsmedizin*, in Kapitel 49, Malaria, G.T. Verlag, Editor. 2010.
28. White, N.J., *Manson's Tropical Infectious Diseases*, in Chapter 43, Malaria, Elsevier, Editor. 2014.
29. Miller, R.H., et al., Characterization of *Plasmodium ovale curtisi* and *P. ovale wallikeri* in Western Kenya utilizing a novel species-specific real-time PCR assay. *PLoS Negl Trop Dis*. 9(1): p. e0003469.
30. Leoni, S., et al., The hyper-reactive malarial splenomegaly: a systematic review of the literature. *Malar J*. 14: p. 185.
31. Marsh, K., et al., Indicators of life-threatening malaria in African children. *N Engl J Med*, 1995. 332(21): p. 1399-404.
32. Dzeing-Ella, A., et al., Severe falciparum malaria in Gabonese children: clinical and laboratory features. *Malar J*, 2005. 4: p. 1.
33. Sowunmi, A., et al., Factors contributing to anaemia after uncomplicated *Plasmodium falciparum* malaria in children. *Acta Trop*, 2010. 113(2): p. 155-61.
34. Magalhaes, R.J. and A.C. Clements, Mapping the risk of anaemia in preschool-age children: the contribution of malnutrition, malaria, and helminth infections in West Africa. *PLoS Med*. 8(6): p. e1000438.
35. Kassebaum, N.J., et al., A systematic analysis of global anemia burden from 1990 to 2010. *Blood*. 123(5): p. 615-24.
36. Menendez, C., A.F. Fleming, and P.L. Alonso, Malaria-related anaemia. *Parasitol Today*, 2000. 16(11): p. 469-76.
37. Phillips, R.E. and G. Pasvol, Anaemia of *Plasmodium falciparum* malaria. *Baillieres Clin Haematol*, 1992. 5(2): p. 315-30.
38. Dondorp, A.M., et al., Red blood cell deformability as a predictor of anemia in severe falciparum malaria. *Am J Trop Med Hyg*, 1999. 60(5): p. 733-7.
39. Buffet, P.A., et al., The pathogenesis of *Plasmodium falciparum* malaria in humans: insights from splenic physiology. *Blood*. 117(2): p. 381-92.
40. Buffet, P.A., et al., Retention of erythrocytes in the spleen: a double-edged process in human malaria. *Curr Opin Hematol*, 2009. 16(3): p. 157-64.
41. Kurtzhals, J.A., et al., Reversible suppression of bone marrow response to erythropoietin in *Plasmodium falciparum* malaria. *Br J Haematol*, 1997. 97(1): p. 169-74.

42. Abugri, J., et al., Age-related pattern and monocyte-acquired haemozoin associated production of erythropoietin in children with severe malarial anaemia in Ghana. *BMC Res Notes*. 7: p. 551.
43. Price, R.N., et al., Factors contributing to anemia after uncomplicated falciparum malaria. *Am J Trop Med Hyg*, 2001. 65(5): p. 614-22.
44. Rehman, K., et al., Haemolysis associated with the treatment of malaria with artemisinin derivatives: a systematic review of current evidence. *Int J Infect Dis*. 29: p. 268-73.
45. Sagara, I., et al., Delayed anemia assessment in patients treated with oral artemisinin derivatives for uncomplicated malaria: a pooled analysis of clinical trials data from Mali. *Malar J*. 13: p. 358.
46. Published reports of delayed hemolytic anemia after treatment with artesunate for severe malaria--worldwide, 2010-2012. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*, 2013. 62(1): p. 5-8.
47. Burri, C., et al., Delayed anemia after treatment with injectable artesunate in the Democratic Republic of the Congo: a manageable issue. *Am J Trop Med Hyg*. 91(4): p. 821-3.
48. Jaureguiberry, S., et al., Delayed-onset hemolytic anemia in patients with travel-associated severe malaria treated with artesunate, France, 2011-2013. *Emerg Infect Dis*. 21(5): p. 804-12.
49. Rolling, T., et al., Delayed hemolysis after treatment with parenteral artesunate in African children with severe malaria--a double-center prospective study. *J Infect Dis*. 209(12): p. 1921-8.
50. Jaureguiberry, S., et al., Postartesunate delayed hemolysis is a predictable event related to the lifesaving effect of artemisinins. *Blood*. 124(2): p. 167-75.
51. Zoller, T., et al., Intravenous artesunate for severe malaria in travelers, Europe. *Emerg Infect Dis*. 17(5): p. 771-7.
52. Rolling, T., et al., Artesunate versus quinine in the treatment of severe imported malaria: comparative analysis of adverse events focussing on delayed haemolysis. *Malar J*. 12: p. 241.
53. Fanello, C., et al., Post-treatment haemolysis in African children with hyperparasitaemic falciparum malaria; a randomized comparison of artesunate and quinine. *BMC Infect Dis*. 17(1): p. 575.
54. Newton, P.N., et al., A comparison of the in vivo kinetics of Plasmodium falciparum ring-infected erythrocyte surface antigen-positive and -negative erythrocytes. *Blood*, 2001. 98(2): p. 450-7.
55. (DTG), D.G.f.T.u.I.G., Leitlinie: Diagnostik und Therapie der Malaria. 2011.
56. WHO Guidelines Approved by the Guidelines Review Committee, in *Guidelines for the Treatment of Malaria*. 2015, World Health Organization Copyright (c) World Health Organization 2015.: Geneva.
57. Chen, P.Q., G.Q. Li, and X.B. Guo, [The infectivity of gametocytes of Plasmodium falciparum from patients treated with artemisinin]. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi*, 1994. 74(4): p. 209-10, 253-4.
58. Bhattarai, A., et al., Impact of artemisinin-based combination therapy and insecticide-treated nets on malaria burden in Zanzibar. *PLoS Med*, 2007. 4(11): p. e309.
59. Barnes, K.I., et al., Effect of artemether-lumefantrine policy and improved vector control on malaria burden in KwaZulu-Natal, South Africa. *PLoS Med*, 2005. 2(11): p. e330.

60. Woodrow, C.J., R.K. Haynes, and S. Krishna, Artemisinins. *Postgrad Med J*, 2005. 81(952): p. 71-8.
61. Menard, D., et al., Association of failures of seven-day courses of artesunate in a non-immune population in Bangui, Central African Republic with decreased sensitivity of *Plasmodium falciparum*. *Am J Trop Med Hyg*, 2005. 73(3): p. 616-21.
62. Davis, T.M., H.A. Karunajeewa, and K.F. Ilett, Artemisinin-based combination therapies for uncomplicated malaria. *Med J Aust*, 2005. 182(4): p. 181-5.
63. Mercer, A.E., The role of bioactivation in the pharmacology and toxicology of the artemisinin-based antimalarials. *Curr Opin Drug Discov Devel*, 2009. 12(1): p. 125-32.
64. White, N.J., Artemisinin: current status. *Trans R Soc Trop Med Hyg*, 1994. 88 Suppl 1: p. S3-4.
65. Dondorp, A.M., et al., Artesunate versus quinine in the treatment of severe *falciparum* malaria in African children (AQUAMAT): an open-label, randomised trial. *Lancet*. 376(9753): p. 1647-57.
66. Abdallah, T.M., et al., Comparison of artesunate and quinine in the treatment of severe *Plasmodium falciparum* malaria at Kassala hospital, Sudan. *J Infect Dev Ctries*. 8(5): p. 611-5.
67. Sinclair, D., et al., Artesunate versus quinine for treating severe malaria. *Cochrane Database Syst Rev*, (6): p. CD005967.
68. Skinner, T.S., et al., In vitro stage-specific sensitivity of *Plasmodium falciparum* to quinine and artemisinin drugs. *Int J Parasitol*, 1996. 26(5): p. 519-25.
69. Kokwaro, G., L. Mwai, and A. Nzila, Artemether/lumefantrine in the treatment of uncomplicated *falciparum* malaria. *Expert Opin Pharmacother*, 2007. 8(1): p. 75-94.
70. Ndounga, M., et al., Artesunate-amodiaquine versus artemether-lumefantrine for the treatment of acute uncomplicated malaria in Congolese children under 10 years old living in a suburban area: a randomized study. *Malar J*. 14: p. 423.
71. Obonyo, C.O., et al., Blood transfusions for severe malaria-related anemia in Africa: a decision analysis. *Am J Trop Med Hyg*, 1998. 59(5): p. 808-12.
72. English, M., et al., Blood transfusion for severe anaemia in children in a Kenyan hospital. *Lancet*, 2002. 359(9305): p. 494-5.
73. Omari, A.A. and P. Garner, Malaria: severe, life-threatening. *BMJ Clin Evid*, 2007. 2007.
74. Meremikwu, M. and H.J. Smith, Blood transfusion for treating malarial anaemia. *Cochrane Database Syst Rev*, 2000(2): p. CD001475.
75. Bugge, H.F., et al., A study of blood transfusion services at a district hospital in Malawi. *Vox Sang*. 104(1): p. 37-45.
76. Oxford and G. Lizcano, C.M., M. New, UNDP Climate Change Country Profile: Ghana. 2008: p. 1.
77. World Health Organisation, W., Countries with ongoing transmission of malaria 2013, World Malaria Report 2014. 2014, Global Malaria Programme: Genf, Schweiz.
78. Owusu-Agyei et al, S., Epidemiology of malaria in the forest-savanna transitional zone of Ghana, in *Malaria Journal* 2009, 8:220. 2009.
79. World Health Organisation, W., Guidelines for the treatment of malaria. Third edition. 2015, World Health Organisation: Genf, Schweiz. p. 2.

80. WHO, *Severe Malaria. Tropical Medicine and International Health*, 2014. volume 19 suppl.
81. Ministry of Health, G.H.S.G., Global Fund, the World and G.P.a.M.c. Health Organization (WHO), PATH, *GUIDELINES FOR CASE MANAGEMENT OF MALARIA IN GHANA, EDITION 3RD*. 2014: p. 19, 34.
82. Organization, W.H., *Basic malaria microscopy – Part I: Learner's guide* Second edition. 2010: p. 81.
83. *Entwicklung, B.f.w.Z.u., Afrika südlich der Sahara Ghana*. 2017.
84. Aryeetey, G.C., et al., *The effect of the National Health Insurance Scheme (NHIS) on health service delivery in mission facilities in Ghana: a retrospective study*. *Global Health*. 12(1): p. 32.
85. Alhassan, R.K., E. Nketiah-Amponsah, and D.K. Arhinful, *A Review of the National Health Insurance Scheme in Ghana: What Are the Sustainability Threats and Prospects?* *PLoS One*. 11(11): p. e0165151.
86. Programme, U.N.D., *Human Development Report 2016 Ghana*. 2016.
87. Kreamsner, P.G., et al., *Intramuscular Artesunate for Severe Malaria in African Children: A Multicenter Randomized Controlled Trial*. *PLoS Med*. 13(1): p. e1001938.
88. Gomez-Junyent, J., et al., *Delayed haemolysis after artesunate therapy in a cohort of patients with severe imported malaria due to Plasmodium falciparum*. *Enferm Infecc Microbiol Clin*.
89. Collaborators, G.D.a.I.I.a.P., *Global, regional, and national incidence, prevalence, and years lived with disability for 310 diseases and injuries, 1990-2015: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2015*. *Lancet*, 2016. 388(10053): p. 1545-1602.
90. Wasnik, P.N., et al., *Study of clinical profile of falciparum malaria in a tertiary referral centre in Central India*. *J Assoc Physicians India*. 60: p. 33-6.
91. Korenromp, E.L., et al., *Impact of malaria control on childhood anaemia in Africa -- a quantitative review*. *Trop Med Int Health*, 2004. 9(10): p. 1050-65.
92. Achidi, E.A., et al., *Severe and uncomplicated falciparum malaria in children from three regions and three ethnic groups in Cameroon: prospective study*. *Malar J*. 11: p. 215.
93. Sowunmi, A., et al., *Clinical illness and outcomes in Nigerian children with late-appearing anaemia after artemisinin-based combination treatments of uncomplicated falciparum malaria*. *BMC Infect Dis*. 16: p. 240.
94. Clark, R.L., *Hypothesized cause of delayed hemolysis associated with intravenous artesunate*. *Med Hypotheses*. 82(2): p. 167-70.
95. Abdalla, S., et al., *The anaemia of P. falciparum malaria*. *Br J Haematol*, 1980. 46(2): p. 171-83.
96. Brooker, S., et al., *The epidemiology of hookworm infection and its contribution to anaemia among pre-school children on the Kenyan coast*. *Trans R Soc Trop Med Hyg*, 1999. 93(3): p. 240-6.
97. Brooker, S., et al., *Epidemiology of plasmodium-helminth co-infection in Africa: populations at risk, potential impact on anemia, and prospects for combining control*. *Am J Trop Med Hyg*, 2007. 77(6 Suppl): p. 88-98.
98. Ngesa, O. and H. Mwambi, *Prevalence and risk factors of anaemia among children aged between 6 months and 14 years in Kenya*. *PLoS One*. 9(11): p. e113756.

99. Premji, Z., et al., *Anaemia and Plasmodium falciparum infections among young children in an holoendemic area, Bagamoyo, Tanzania. Acta Trop*, 1995. 59(1): p. 55-64.
100. Owusu-Agyei, S., et al., *Characteristics of severe anemia and its association with malaria in young children of the Kassena-Nankana District of northern Ghana. Am J Trop Med Hyg*, 2002. 67(4): p. 371-7.
101. Schellenberg, D., et al., *The silent burden of anaemia in Tanzanian children: a community-based study. Bull World Health Organ*, 2003. 81(8): p. 581-90.
102. Ranque, S., et al., *Life-threatening malaria in African children: a prospective study in a mesoendemic urban setting. Pediatr Infect Dis J*, 2008. 27(2): p. 130-5.
103. Ferrari, G., et al., *Identifying risk factors for Plasmodium infection and anaemia in Kinshasa, Democratic Republic of Congo. Malar J*. 15: p. 362.
104. Chinbuah, M.A., et al., *Impact of treating young children with antimalarials with or without antibiotics on morbidity: a cluster-randomized controlled trial in Ghana. Int Health*. 5(3): p. 228-35.
105. Sowunmi, A., et al., *Temporal changes in haematocrit following artemisinin-based combination treatments of uncomplicated falciparum malaria in children. BMC Infect Dis*. 15: p. 454.
106. Zwang, J., et al., *Haemoglobin changes and risk of anaemia following treatment for uncomplicated falciparum malaria in sub-Saharan Africa. BMC Infect Dis*. 17(1): p. 443.
107. Diawara, F., et al., *Measuring the impact of seasonal malaria chemoprevention as part of routine malaria control in Kita, Mali. Malar J*. 16(1): p. 325.
108. Meremikwu, M.M., S. Donegan, and E. Esu, *Chemoprophylaxis and intermittent treatment for preventing malaria in children. Cochrane Database Syst Rev*, 2008(2): p. CD003756.
109. Zwang, J., et al., *Comparing changes in haematologic parameters occurring in patients included in randomized controlled trials of artesunate-amodiaquine vs single and combination treatments of uncomplicated falciparum in sub-Saharan Africa. Malar J*. 11: p. 25.
110. Quashie, N.B., et al., *Factors contributing to the development of anaemia in Plasmodium falciparum malaria: what about drug-resistant parasites? J Trop Pediatr*, 2006. 52(4): p. 254-9.
111. Pasvol, G., *The treatment of complicated and severe malaria. Br Med Bull*, 2005. 75-76: p. 29-47.
112. von Seidlein, L., et al., *Predicting the clinical outcome of severe falciparum malaria in african children: findings from a large randomized trial. Clin Infect Dis*. 54(8): p. 1080-90.
113. Organization, W.H., *Ghana, HIV Country Profile: 2017*. 2017.
114. Sowunmi, A., et al., *Anaemia following Artemisinin-Based Combination Treatments of Uncomplicated Plasmodium falciparum Malaria in Children: Temporal Patterns of Haematocrit and the Use of Uncomplicated Hyperparasitaemia as a Model for Evaluating Late-Appearing Anaemia. Chemotherapy*. 62(4): p. 231-238.
115. *Published reports of delayed hemolytic anemia after treatment with artesunate for severe malaria--worldwide, 2010-2012. MMWR Morb Mortal Wkly Rep*. 62(1): p. 5-8.

116. Kreeftmeijer-Vegter, A.R., et al., Treatment outcome of intravenous artesunate in patients with severe malaria in the Netherlands and Belgium. *Malar J.* 11: p. 102.
117. Kurth, F., et al., Hemolysis after Oral Artemisinin Combination Therapy for Uncomplicated *Plasmodium falciparum* Malaria. *Emerg Infect Dis.* 22(8): p. 1381-6.
118. Angus, B.J., et al., In vivo removal of malaria parasites from red blood cells without their destruction in acute *falciparum* malaria. *Blood*, 1997. 90(5): p. 2037-40.
119. Chotivanich, K., et al., The mechanisms of parasite clearance after antimalarial treatment of *Plasmodium falciparum* malaria. *J Infect Dis*, 2000. 182(2): p. 629-33.
120. Boillat, O., et al., Post-artesunate delayed haemolysis report of four cases and review of the literature. *Swiss Med Wkly.* 145: p. w14181.
121. Posobiec, L.M., et al., Dihydroartemisinin (DHA) treatment causes an arrest of cell division and apoptosis in rat embryonic erythroblasts in whole embryo culture. *Birth Defects Res B Dev Reprod Toxicol.* 98(6): p. 445-58.
122. Raffray, L., et al., Severe delayed autoimmune haemolytic anaemia following artesunate administration in severe malaria: a case report. *Malar J.* 13: p. 398.

V Danksagung

An dieser Stelle möchte ich mich herzlich bei Thierry bedanken, der mir bei Fragen und auftauchenden Problemen während der letzten Jahre unterstützend zur Seite stand. Außerdem möchte ich PD Dr. Jakob Cramer für die Korrektur und Betreuung meiner Arbeit danken. Ein ganz besonderer Dank gilt auch meinem Studienteam in Ghana mit Shirley, Evans, Isaac und Opoku, ohne die mir die Datenerhebung niemals möglich gewesen wäre. Zu guter Letzt noch ein riesengroßes Dankeschön an alle meine lieben Freunde und meine Familie, die mich während meines Studiums und meiner Doktorarbeit stets unterstützt und mir in Tiefphasen neue Motivation gegeben haben.



Der Lebenslauf wurde aus Datenschutzgründen entfernt.

VII Eidesstattliche Versicherung

Ich versichere ausdrücklich, dass ich die Arbeit selbständig und ohne fremde Hilfe verfasst, andere als die von mir angegebenen Quellen und Hilfsmittel nicht benutzt und die aus den benutzten Werken wörtlich oder inhaltlich entnommenen Stellen einzeln nach Ausgabe (Auflage und Jahr des Erscheinens), Band und Seite des benutzten Werkes kenntlich gemacht habe.

Ferner versichere ich, dass ich die Dissertation bisher nicht einem Fachvertreter an einer anderen Hochschule zur Überprüfung vorgelegt oder mich anderweitig um Zulassung zur Promotion beworben habe.

Ich erkläre mich einverstanden, dass meine Dissertation vom Dekanat der Medizinischen Fakultät mit einer gängigen Software zur Erkennung von Plagiaten überprüft werden kann.

Unterschrift: