

**UNIVERSITÄTSKLINIKUM HAMBURG-EPPENDORF**

Bernhard-Nocht-Institut für Tropenmedizin Hamburg

Prof. Dr. R. Horstmann

**Klinische Charakterisierung und Differenzierung von Bakteriämie und Malaria  
als Ursache schwerer fieberhafter Erkrankungen bei Kindern in Ghana**

DISSERTATION

Zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin  
des Fachbereiches Humanmedizin  
der Universität Hamburg

vorgelegt von

**Maja Verena Nielsen**  
aus Hamburg

Hamburg 2015

Angenommen von der Medizinischen Fakultät am: 08.12.2015.

Veröffentlicht mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der Universität Hamburg.

Prüfungsausschuss, der Vorsitzende: Prof. Dr. Jürgen May.

Prüfungsausschuss, 2. Gutachter: Prof. Dr. Martin Aepfelbacher.

*Thorina, Heiner und Tilman*

# I Inhaltsverzeichnis

## I Inhaltsverzeichnis

## II Liste der Publikationen

## III Abbildungsverzeichnis

## IV Abkürzungsverzeichnis

<b>Kapitel 1 Einführung und Kontext</b>	<b>1</b>
1.1 Systemische bakterielle Infektionen	2
1.1.1 <i>Geschichte und Definition</i>	2
1.1.2 <i>Epidemiologie</i>	4
1.1.3 <i>Diagnostik</i>	5
1.1.4 <i>Therapie</i>	8
1.2 Malaria	10
1.2.1 <i>Geschichte und Epidemiologie</i>	10
1.2.2 <i>Definition und Diagnostik</i>	12
1.2.3 <i>Therapie</i>	15
1.3 Differenzierung zwischen Bakteriämie und Malaria	15
1.4 Zielsetzung der Dissertation	17
<b>Kapitel 2 Material und Methoden</b>	<b>18</b>
2.1 Studiengebiet und Beschreibung der regionalen Bevölkerung	18
2.2 Aufbau der Studie	20
2.3 Rekrutierung, Patienteneinwilligung und Verlaufskontrolle	20
2.4 Methoden	23
2.4.1 <i>Malariadiagnostik</i>	23
2.4.2 <i>Blutkulturen</i>	24
2.4.2.1 <i>Blutentnahme</i>	24
2.4.2.2 <i>Lagerung, Transport und Aufbereitung der Blutkulturen</i>	25
2.4.2.3 <i>Speziesdifferenzierung</i>	26
2.4.3 <i>Blutbildanalyse</i>	27
2.4.4 <i>Bestimmung anthropometrischer und klinischer Parameter</i>	27
2.4.5 <i>Gewinnung sozioökonomischer Daten</i>	29
2.4.6 <i>Datenfluss und Dateneingabe</i>	30
2.4.7 <i>Statistische Auswertung</i>	30

2.4.8 Ethikvotum	31
<b>Kapitel 3 Incidence and Characteristics of Bacteremia among Children in Rural Ghana</b>	<b>32</b>
<b>Kapitel 4 Clinical Indicators for Bacterial Co-Infection in Ghanaian Children with <i>P. falciparum</i> Infection</b>	<b>41</b>
<b>Kapitel 5 Ergebnisse und Diskussion</b>	<b>64</b>
5.1 Zusammenfassung der wichtigsten Ergebnisse	64
5.2 Limitierungen der Studie	65
5.3 Diskussion und Ausblick	68
<b>Kapitel 6 Zusammenfassung</b>	<b>72</b>
<b>Kapitel 7 Summery</b>	<b>74</b>
<b>Kapitel 8 Referenzen</b>	<b>75</b>
<b>Kapitel 9 Anhang</b>	<b>85</b>
<b>Kapitel 10 Danksagung</b>	<b>91</b>
<b>Kapitel 11 Eidesstattliche Erklärung</b>	<b>92</b>

## II Liste der Publikationen

- I. *Incidence and Characteristics of Bacteremia among Children in Rural Ghana.*  
**Nielsen MV**, Sarpong N, Krumkamp R, Dekker D, Loag W, Amemasor S, Agyekum A, Marks F, Huenger F, Krefis AC, Hagen RM, Adu-Sarkodie Y, May J, Schwarz NG. PLoS One 2012;7(9):e44063.
  
- II. *Clinical Indicators for Bacterial Co-Infection in Ghanaian children with P. falciparum Infection.*  
**Nielsen MV**, Amemasor S, Agyekum A, Loag W, Marks F, Sarpong N, Dekker D, Adu-Sarkodie Y, May J. PLoS One. 2015; 10(4):e0122139.

### III Abbildungsverzeichnis

- Abbildung 1**      Ausbreitung von Malaria 2007.
- Abbildung 2**      Blasse Handflächen bei Anämie.
- Abbildung 3**      Kind mit zerebraler Malaria. Ophistotonus (a); Krampfanfall mit Deviation der Augenachse, Grimassierung des Mundes und stereotyper Streckstellung des Armes (b).
- Abbildung 4**      Geographische Lage Ghanas in Afrika (a) und Darstellung der Ashante-Region (b) mit dem Studiengebiet im Ashante Akim North Distrikt (c).
- Abbildung 5**      Modulstruktur der Studie.
- Abbildung 6**      Malariadiagnostik durch einen technischen Assistenten (a); Körperliche Untersuchung durch den Studienarzt in der Notaufnahme (b).
- Abbildung 7**      Blutentnahme durch die Studienkrankenschwester bei einem Vigilanz geminderten Kind auf der Kinderstation.

## IV Abkürzungsverzeichnis

ACCP/SCCM	American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine
AIDS	Erworbenes Immundefizienzsyndrom (engl. <i>Aquired Immune Deficiency Syndrome</i> )
APH	Agogo Presbyterian Hospital, Ghana
ARDS	Akutes progressives Lungenversagen (engl. <i>Acute Respiratory Distress Syndrome</i> )
BNI	Bernhard-Nocht-Institut für Tropenmedizin Hamburg
CAMP-Test	Christie Atkins Munch-Petersen-Test
CART	Classification and Regression Trees
CCT	Craniale Computertomographie
CRP	C-Reaktives Protein
CT	Computertomographie
DALY	Krankheitsbereinigtes Lebensjahr (engl. <i>Disability-adjusted Life Year</i> )
DNA	Desoxyribonukleinsäure (engl. <i>Desoxyribonucleic Acid</i> )
DSG	Deutsche Sepsis Gesellschaft
EBV	Epstein-Barr Virus
EZZ	Ausgezählte Erythrozyten/ $\mu$ l
FDG PET	Fluordesoxyglukose-Positronen-Emissions-Tomographie
FISH	Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung (engl. <i>Fluorescence In Situ Hybridization</i> )
FUO	Fieber unklarer Genese (engl. <i>Fever of Unknown Origin</i> )
HES	Hydroxyethylstärke
HIV	Humanes Immundefizienz-Virus (engl. <i>Human Immunodeficiency Virus</i> )
IE	Internationale Einheit
i.m.	intramuskulär
IMCI	Ganzheitliches Management von Kinderkrankheiten (engl. <i>Integrated Management of Childhood Illness</i> )



IPTi	Intermittierende Präventive Behandlung von Kindern (engl. <i>Intermittent Preventive Treatment in infants</i> )
i.v.	intravenös
KG	Körpergewicht
KNUST	Kwame Nkrumah University of Science and Technology
N/n	Absolute Anzahl
NHIS	Nationale Krankenversicherung (engl. <i>National Health Insurance Scheme</i> )
NPV	Negativer Prädiktiver Wert (engl. <i>Negative Predictive Value</i> )
NTS	Nicht-typhoide Salmonellen (engl. <i>Non-typhoidal Salmonella</i> )
OF-Test	Oxydative-Fermentative Test
OR	Wahrscheinlichkeitsverhältnis (engl. <i>Odds Ratio</i> )
PCR	Polymerase-Kettenreaktion (engl. <i>Polymerase Chain Reaction</i> )
PCT	Procalcitonin
PEDS PLUS	<i>Pediatrics Plus</i> Blutkulturflasche
PIRO	Veranlagung, Schwere der Infektion, Körperreaktion und Organversagen (engl. <i>Predisposition, Severity of Infection, Physiologic Response and Organ failure</i> )
Pro-ADM	Pro-adrenomedullin
RR	Riva-Rocci
SBI	Systemische bakterielle Infektionen
SD	Standardabweichung (engl. <i>Standard Deviation</i> )
SIRS	Systemisches Inflammatorisches Response-Syndrom (engl. <i>Systemic Inflammatory Response Syndrome</i> )
SP	Sulfadoxin-Pyrimethamin
TMN	Tumor/Lymphknoten/Metastasen Klassifikation (engl. <i>Tumor/Nodes/Metastasis Classification</i> )
WHO	Weltgesundheitsorganisation (engl. <i>World Health Organization</i> )
ZNS	Zentrales Nervensystem

## Kapitel 1 Einführung und Kontext

*„Man sieht nur das, von dem man weiß...“ (J. W. v. Goethe)*

Für die Entwicklungsländer des subsaharischen Afrikas besteht noch immer ein deutlicher Wissensrückstand bezüglich Inzidenz, Klinik und Therapiemöglichkeiten der vorherrschenden Infektionskrankheiten. Von den wissenschaftlich und ökonomisch im Vordergrund stehenden „Big Three“, Malaria, Tuberkulose und das erworbene Immundefizienz-Syndrom (AIDS) sind die sogenannten vernachlässigten Krankheiten (engl. *neglected diseases*) abzugrenzen, welche ebenfalls für eine erhebliche Morbidität und Mortalität unter den ärmsten Bevölkerungsschichten der Welt verantwortlich sind [1]. Typischerweise verläuft bei ihnen die Weiterentwicklung effektiver Therapiemöglichkeiten vergleichsweise langsamer auf Grund mangelnder finanzieller Förderung [2,3].

Invasive bakterielle Erkrankungen zählen laut Weltgesundheitsorganisation (WHO) nicht zu den siebzehn vernachlässigten Krankheiten, sind aber in ähnlicher Weise von einem Forschungsrückstand betroffen. Es liegt bis heute noch keine flächendeckende Beschreibung der Erregerverteilung sowie der Inzidenzen von invasiven bakteriellen Infektionen für die südlich der Sahara gelegenen afrikanischen Länder vor. Eine Meta-Analyse aus dem Jahr 2010 zeigt, dass die Verteilung der häufigsten Erreger variiert und viele Landstriche noch nicht wissenschaftlich-epidemiologisch abgebildet wurden [4]. Besonders invasive Infektionen mit nicht-typhoiden Salmonellen, welche häufig mit Malaria, dem humanen Immundefizienz-Virus (HIV) und Unterernährung assoziiert sind, entwickeln sich zu einem ernstzunehmenden Gesundheitsproblem bei Kindern in Afrika [5].

In malariaendemischen Gebieten ist die klinisch-diagnostische Differenzierung von Malaria und schweren bakteriellen Infektionen, einschließlich Sepsis, eine Herausforderung [6,7]. Die klinischen Manifestationsformen von Malaria können denen einer Pneumonie, einer Bakteriämie oder einer Meningitis stark ähneln [8–10]. Studien zeigen, dass Malaria häufig überdiagnostiziert und invasive bakterielle Infektionen quantitativ unterschätzt werden [11,12]. Fehldiagnosen können zu einer Steigerung der Morbidität und Mortalität führen sowie im globalen Kontext in

Arbeitslosigkeit und Armut durch die Verschwendung von Ressourcen resultieren [13].

## **1.1 Systemische bakterielle Infektionen**

### **1.1.1 Geschichte und Definition**

Der Terminus „Sepsis“ wurde von Hippokrates (ca. 460-370 v. Chr.) eingeführt und leitet sich vom griechischen „faul machen“ ab. Das Begriffsverständnis wandelte sich im zeitlichen Verlauf und spiegelte jeweils den aktuellen Wissensstand der Pathophysiologie wider. Ignaz Semmelweis (1818-1865) konnte mit der Einführung einer hygienischen Händewaschung mit Chlorkalklösung vor gynäkologischen Untersuchungen die Sterblichkeit im Kindbett von 18% auf 2,5% senken [14]. Seine Theorien fanden jedoch zunächst keine Akzeptanz. Der Chirurg Joseph Lister (1827-1912) führte die Hygieneverfahren von Semmelweis mit den Entdeckungen des Chemikers Louis Pasteur (1822-1895), dass kleinste Mikroben oder Bakterien für Fäulnis verantwortlich sind, inhaltlich zusammen und erreichte als Erster die Weltöffentlichkeit mit seiner Theorie der Antisepsis [15–17].

Im Jahre 1914 legte der deutsche Arzt und Bakteriologe Hugo Schottmüller (1867-1936) den Grundstein für eine moderne Sepsis Definition:

*„Eine Sepsis liegt dann vor, wenn sich innerhalb des Körpers ein Herd gebildet hat, von dem kontinuierlich oder periodisch pathogene Bakterien in den Kreislauf gelangen und zwar derart, dass durch diese Invasion subjektive und objektive Krankheitserscheinungen ausgelöst werden“* [18].

Aus dieser infektiologisch-klinischen Definition entwickelte sich die moderne infektiologisch-biochemische Begriffsbildung nach Schuster und Werdan, dass *„... die Gesamtheit der lebensbedrohlichen klinischen Krankheitserscheinungen und pathophysiologischen Veränderungen als Reaktion auf die Aktion pathogener Keime und ihrer Produkte, die aus einem Infektionsherd in den Blutstrom eindringen, die großen biologischen Kaskadensysteme und spezielle Zellsysteme aktivieren und die Bildung und Freisetzung humoraler und zellulärer Mediatoren auslösen“* [19].

Bone et al. definierten 1992 im Rahmen der ACCP/SCCM *Consensus Conference* erstmals „Sepsis“ als Kombination aus Bakteriämie und systemischem inflammatorischem Response-Syndrom (SIRS), einer unspezifischen systemischen Aktivierung des Immunsystems, und prägten die Begriffe „Schwere Sepsis“ als Sepsis mit mehr als einem versagenden Organsystem sowie den „Septischen

Schock“ als Sepsis mit arterieller Hypotension trotz adäquater Flüssigkeitszufuhr [20]. Diese Definition dient heutzutage als Grundlage für wissenschaftliche Studien und als klinisch-diagnostisches Instrument für Erwachsene. 2001 entwickelten Levy *et al.* diese Definition der SIRS weiter und entwarfen das PIRO-Modell, eine Stadien Systematik (engl. *Staging*), die, ähnlich der TMN-Klassifikation in der Onkologie, anhand prädisponierender Faktoren, des Infektionstypus, der klinischen Symptome bzw. Immunantwort und des Ausmaßes des Organversagens eine prognostische Einschätzung zulassen soll [21].

Auf der „*International Pediatric Sepsis Consensus Conference*“ wurde das Modell im Jahre 2005 für Kinder bis zu 18 Jahren wie folgt modifiziert [22]:

**Tabelle 1** Definition der systematischen Entzündungsreaktion beim Kind <18 Jahren, verkürzte Darstellung nach Goldstein *et al.*, 2005.

<b>SIRS</b>	Vorhandensein von mindestens 2 der folgenden 4 Kriterien, von denen eines <b>pathologische Körpertemperatur oder pathologische Leukozytenzahl</b> sein muss: <ul style="list-style-type: none"> <li>• Körpertemperatur &gt;38,5°C oder &lt;36,0°C</li> <li>• Mittlere Herzfrequenz um &gt;2 SD über die altersnormale Frequenz erhöht<sup>1</sup></li> <li>• Mittlere Atemfrequenz um &gt;2 SD über die altersnormale Frequenz erhöht<sup>1</sup></li> <li>• Leukozytose/Leukozytopenie bezogen auf den altersspezifischen Normwert<sup>1</sup></li> </ul>
<b>Infektion</b>	Eine vermutete oder nachgewiesene Infektion durch jeglichen pathogenen Erreger ODER ein klinisches Syndrom, welches die Vermutung einer Infektion nahelegt <sup>1</sup>
<b>Sepsis</b>	SIRS, resultierend aus oder gleichzeitig auftretend mit einer vermuteten oder nachgewiesenen Infektion
<b>Schwere Sepsis</b>	Sepsis mit einer der folgenden <ul style="list-style-type: none"> <li>• Kardiovaskuläres Organversagen ODER</li> <li>• ARDS (engl. <i>Acute Respiratory Distress Syndrome</i>) ODER</li> <li>• Zwei oder mehr andere versagende Organsysteme<sup>2</sup></li> </ul>
<b>Septischer Schock</b>	Sepsis und kardiovaskuläres Organversagen <sup>2</sup>

<sup>1</sup> Vollständige Definition siehe Goldstein *et al.*, 2005.

<sup>2</sup> Definition des Organversagens beim Kind siehe Goldstein *et al.*, 2005.

Zu berücksichtigen sind die spezifischen Besonderheiten der kindlichen Sepsis. Besonders zu erwähnen ist hier, dass die SIRS-Kriterien laut Goldstein *et al.* nur bei Vorhandensein entweder einer pathologischen Körpertemperatur oder altersspezifisch abnormer Leukozytenzahl gelten. Weiterhin ist ein Unterschied zur Einteilung der Sepsis bei Erwachsenen, dass Kinder einen septischen Schock

erleiden können, bevor sich eine Hypotension manifestiert [23]. Dementsprechend ist bei Kindern als Definition für einen septischen Schock die Definition nach Carcillo *et al.* als Tachykardie in Kombination mit verminderter peripheren Durchblutung, verminderter Vigilanz, verlängerter Rekapillarierungszeit >2 Sekunden oder einer verminderten Ausscheidung vorzuziehen [24]. Eine Bakteriämie bezeichnet lediglich das Vorhandensein von Bakterien im Blut ohne Immunreaktion und ohne die Ausbildung von septischen Metastasen. Sie kann mittels einer Blutkultur nachgewiesen werden.

### **1.1.2 Epidemiologie**

Sepsis Erreger sind weltweit und ubiquitär vorhanden. Invasive bakterielle Infektionen zählen heutzutage noch immer zu den führenden Todesursachen bei Kindern unter 5 Jahren weltweit. Die Inzidenz von Bakteriämien ist bei jüngeren Kindern am höchsten und nimmt mit zunehmendem Alter ab [25]. Pneumonien (13%), Durchfallerkrankungen (9%) und Sepsis sowie andere bakterielle Erkrankungen des Neugeborenen (7%) sind laut einer Statistik der WHO von 2013 für mehr als ein Drittel der Todesursachen dieser Altersgruppe ursächlich. Im Vergleich dazu ist Malaria als vierthäufigste Todesursache zusammen mit kongenitalen Fehlbildungen für 7% der Todesfälle verantwortlich [26].

Die Kindersterblichkeitsrate der unter 5-Jährigen in finanziell schwachen Bevölkerungsgruppen lag nach Berechnungen basierend auf den „*World Bank income groups*“ mit 76 (72-84) Todesfällen pro 1000 Lebendgeburten mehr als 12 Mal höher als in einkommensstarken Gesellschaftsschichten mit 6(6-7) Todesfällen auf 1000 Lebendgeburten. Vergleicht man die Anzahl der Todesfälle durch bakterielle Erkrankungen in Ghana mit der in Deutschland zeigt sich eine mehr als 100-fach höhere jährliche Inzidenz. (*Global Health Observatory Data Repository. Probability of dying per 1,000 live births, 2013*). Eine verbesserte hygienische Situation in Industrieländern konnte die Kindersterblichkeit auf Grund von Durchfallerkrankung im Jahre 2010 auf 0% und durch Pneumonie auf 2% bei den unter 5-jährigen Kindern senken (*WHO's annual World Health Statistics report 2013*).

### **1.1.3 Diagnostik**

Die Klinik invasiver bakterieller Infektionen entwickelt sich entlang o.g. Schweregrade und endet im schlimmsten Fall mit dem Tod. Teilweise geben klinische Symptome einen Hinweis auf einen Fokus im Körper, häufig kann jedoch kein Fokus gefunden werden. So sind 34% der Fälle mit febrilem Krankheitsverlauf ohne Fokus (FUO), die einen Krankheitsverlauf länger als eine Woche aufweisen, in Entwicklungsländern durch Infektionen verursacht, wobei Harnwegsinfektionen für 11,4% und bakterielle Meningitis für 6,5% verantwortlich sind. Nicht-infektiöse Ursachen stellen u.a. vaskuläre Kollagenosen und neoplastische Erkrankungen [27] dar. Bei akutem Fieber >7 Tagen handelt es sich immer noch in 3-20% um schwere infektiöse Erkrankungen, wie Bakteriämie, Meningitis und Harnwegsinfektionen abhängig vom Alter [28].

Grundsätzlich kann zwischen der Erregerdiagnostik und der Diagnosestellung anhand von klinischen und laborchemischen Reaktionen des Patienten auf die Infektion unterschieden werden. Erst wenn ein Erreger nachgewiesen wurde, spricht man von einer Sepsis, anderenfalls liegt lediglich ein SIRS vor (vgl. Tabelle 1), welches auch durch nicht-infektiöse Reaktionen des Körpers, z.B. auf ein schweres Trauma, ausgelöst werden kann. In Abhängigkeit von der antibiotischen Vorbehandlung kann nur in durchschnittlich 30% der Patienten, die sich klinisch mit einer Sepsis präsentierten, eine Bakteriämie nachgewiesen werden [29–31]. In insgesamt ca. 30% kann kein Erreger isoliert werden, obwohl eine Infektion nach klinischen Kriterien wahrscheinlich ist [31]. Nach der S-2k Leitlinie (Prävention, Diagnose, Therapie und Nachsorge der Sepsis) von 2010 sind die Diagnosekriterien der ACCP/SCCM-Konsensus-Konferenz (s.o.) zur Diagnostik der Sepsis empfohlen. Zum Ausschluss einer schweren Sepsis, bzw. zur Sicherung der Diagnose, sollte die Höhe des Procalcitonins (PCT) im Serum bestimmt werden. Bei PCT-Konzentrationen von <0,5 ng/ml im Serum ist eine schwere Sepsis oder ein septischer Schock unwahrscheinlich, ab einem Schwellenwert von 2,0 ng/ml hochwahrscheinlich [31]. PCT zeigt gegenüber dem C-reaktiven Protein (CRP) eine höhere diagnostische Präzision [32,33] und kann eine Infektion früher anzeigen [34]. Jedoch ist die Aussagekraft von CRP und PCT nicht problemlos auf Kinder in Entwicklungsländern zu übertragen [35].

Interleukin-6 und Interleukin-8 sind ebenfalls Biomarker, die bei Kindern auf eine Bakteriämie oder Sepsis hindeuten können [36]. Eine erhöhte Blutsenkungsgeschwindigkeit kann in Kombination mit einem erhöhten CRP hinweisend für eine Infektion sein [37], jedoch ist der diagnostische Wert der Blutsenkungsgeschwindigkeit zur Detektion von invasiven Infektionen umstritten [38,39]. Zahlreiche bekannte und neue Biomarker zur Diagnostik der Sepsis werden momentan in klinischen Studien untersucht [40]. Presepsin scheint hierbei vielversprechend und laut eines aktuellen Reviews zur frühen Diagnose der Sepsis besser geeignet zu sein als PCT [41].

Bei klinischem und/oder laborchemischem Verdacht auf eine invasive bakterielle Infektion werden unter sterilen Kautelen 2-3 Pärchen Blutkulturen abgenommen. Bei chirurgischen Wundinfektion wird ein Wundabstrich bzw. eine Gewebeprobe mittels Gramfärbung untersucht und aerobe sowie anaerobe Blutkulturen durchgeführt. Sollte eine bakterielle Meningitis vermutet werden, gibt eine Lumbalpunktion Auskunft über entzündliche Prozesse des zentralen Nervensystems (ZNS). Zum Ausschluss einer kraniellen Druckerhöhung sollte vorher eine Craniale Computertomographie (CCT) durchzuführen werden [42]. Die diagnostische Multiplex-Polymerase-Kettenreaktion (Multiplex-PCR), eine Weiterentwicklung der ursprünglichen PCR, die anhand von spezifischen genetischen Sequenzen multiple Erreger in einem Untersuchungsgang identifizieren kann, beziehungsweise der Breitband-PCR, kann schneller einen Erregernachweis erbringen, gibt aber keine Auskunft über Resistenzmuster [43,44]. In der Fokussuche der FUO spielen bildgebende Verfahren wie die Szintigraphie, die Magnetresonanztomographie (MRT) und die Computertomographie (CT) eine wichtige Rolle [45,46]. Eine Weiterentwicklung stellt das FDG PET/CT dar, welches v.a. in komplexen Fällen zum Einsatz kommt [47,48]. Die aufgeführte apparative Diagnostik ist kostspielig und hat in der Routinediagnostik von febrilen Erkrankungen in den ländlichen Regionen des Studiengebietes keine Relevanz. Bakteriologische Schnelltests, wie z.B. der bbFISH®, können zur Differenzierung in Kombination mit Malaria-Schnelltests eingesetzt werden. Eine Evaluierung der Anwendbarkeit und Verlässlichkeit, beziehungsweise die Entwicklung eines kombinierten Tests für Entwicklungsländer steht jedoch noch aus.

Die WHO stellt mit dem Programm *Integrated Management of Childhood Illness* (IMCI) seit 1995 Prinzipien und klinische Handlungsanleitungen zur Diagnostik und Therapie von erkrankten Kindern zur Verfügung. Obwohl hierdurch international eine Angleichung der nationalen Gesundheitspolitik [49,50] sowie eine Verbesserung der lokalen medizinischen Versorgung erreicht werden konnte [51], unterliegt das Konzept einem stetigen Wandel und wird kritisch diskutiert [52,53].

Im Rahmen des IMCI-Programmes wurde das Handbuch "*Management of the child with severe infection or severe malnutrition: guidelines for care at first-referral level in developing countries*" [54] entwickelt, welches u.a. das diagnostische Vorgehen bei invasiven bakteriellen Erkrankungen bei Kindern in Entwicklungsländern abhandelt. Als klinische Diagnostikkriterien werden FUO, ein negativer Malariaausstrich, die Abwesenheit von klinischen Zeichen einer Meningitis, Vigilanzminderung mit Krampfanfällen, Lethargie, Erbrechen und die Unfähigkeit zu trinken, sowie Hautausschläge angegeben. Zusätzlich zur körperlichen Untersuchung des vollständig entkleideten Kindes sollten Blut- und Urinkulturen abgenommen werden. Gerade in Ländern mit einer hohen Malariainzidenz zeigen die WHO-Kriterien eine schlechte Sensitivität als Entscheidungshilfe für die Wahl einer kalkulierten antibiotischen Therapie und sollten durch weitere Kriterien ergänzt werden [55]. Um eine verbesserte Aussagekraft dieser Leitlinie zu erreichen, wäre die Durchführung evaluierender Studien in anderen geographischen Zonen im subsaharischen Afrika mit unterschiedlichen Malaria- und HIV-Inzidenzen sinnvoll [56].

Mit den Rochester-Kriterien (*Rochester Criteria for Febrile Infants*) [57] wurde 1985 ein Instrument entwickelt, mit dem bei febrilen Kindern eine schwere bakterielle Infektion mit einem negativen Vorhersagewert von 98,9% und eine Bakteriämie mit einem NPV von 99,5% ausgeschlossen werden konnte [58]. Dies bedeutet, dass nahezu alle Kinder, die laut der Kriterien als gesund eingestuft werden, auch tatsächlich gesund sind. Diese Werte beziehen sich jedoch nicht auf ein malariaendemisches Gebiet und sind daher nur begrenzt auf entsprechende Gegenden übertragbar.



### **1.1.4 Therapie**

Eine spezifische medikamentöse Therapie steht heutzutage nur einem Bruchteil der erkrankten Menschen weltweit zur Verfügung [59]. Grundsätzlich setzt sich das therapeutische Konzept der Sepsis aus drei Teilen zusammen [31].

*Kurative Behandlung.* Die radikale operative Fokussanierung ist ausschlaggebend für eine Reduktion der Mortalität und wird flankiert durch ein Antibiotogramm-gerechtes antibiotisches Regime [60].

Das aktuell im Jahr 2000 empfohlene antibiotische Behandlungsregime für Kindern in Entwicklungsländern mit dem Verdacht auf Sepsis ist laut WHO [54] wie folgt durchzuführen:

1. Benzylpenizillin (50.000 IE/kg alle 6 Stunden) plus Chloramphenicol (25 mg/kg alle 8 Stunden)
2. Wenn das Kind innerhalb 48 Stunden nicht auf die Behandlung anspricht, sollte die Therapie auf Chloramphenicol (25 mg/kg alle 8 Stunden) plus Ampicillin (50 mg/kg i.m. alle 6 Stunden) umgestellt werden.

In vielen Regionen im subsaharischen Afrika sind Resistenzen, insbesondere von Gram-negativen Bakterien, gegen diese Antibiotika bekannt [25,61]. Häufig ist hier die Kombination aus einem Cephalosporin der 3. Generation, wie Ceftriaxon (80 mg/kg i.v., einmal täglich über 30-60 min), geeignet.

Die nachfolgende Tabelle erläutert die antibiotischen Empfehlungen bei weiteren infektiösen Symptomkomplexen, die ebenfalls mit einer Bakteriämie vergesellschaftet sein können.

**Tabelle 2** Definition von klinischen Symptomen und aktuell empfohlener antibiotischer Behandlung [56].

Syndrom	Definition	Empfohlene Antibiotika <sup>1</sup>
Schwer febril erkrankte Säuglinge	Kinder <60 Tage alt, welche einer stationären Behandlung bedürfen	Gentamicin + Penicillin oder Ampicillin
Meningitis/Encephalopathie	Nackensteifigkeit, vorgewölbte Fontanelle oder Bewusstseinstörungen <sup>2</sup>	Penicillin mit Chloramphenicol
Schwere Mangelernährung	Untergewicht <sup>3</sup> oder Kwashiorkor	Gentamycin + Penicillin oder Ampicillin
Sehr schwere Pneumonie	Dyspnoe <sup>4</sup> und akute Erschöpfung <sup>5</sup> und/oder Zyanose und/oder Hypoxie <sup>6</sup>	Chloramphenicol
Schwere Pneumonie	Dyspnoe <sup>4</sup>	Penicillin
Leichte Pneumonie	Tachypnoe <sup>7</sup> mit Husten oder anderen Atemproblemen	Orales Amoxicillin
Weichteilinfektion	Phlegmone, Abszess, Pyomyositis	Cloxacillin

<sup>1</sup> Parenteral, außer klinisch alternativ indiziert.

<sup>2</sup> Blantyre Koma Skala  $\leq 2$ .

<sup>3</sup> Weight-for-age z-Wert  $< -4$  laut NCHS Standards (Epi Info 2000, CDC, Atlanta, USA).

<sup>4</sup> Einziehung der Intercostalräume, abnormale, tiefe Atmung.

<sup>5</sup> Unfähigkeit zu trinken (<12 Monate) oder Unfähigkeit alleine zu sitzen ( $\geq 12$  Monate).

<sup>6</sup>  $pO_2 < 90\%$  im Pulsoximeter unter Raumluft.

<sup>7</sup>  $\geq 50$  Atemzüge pro Minute (Alter 2-11 Monate);  $\geq 40$  Atemzüge pro Minute (Alter  $\geq 12$  Monate).

*Supportive Behandlung.* Zu den supportiven Maßnahmen zählen primär die hämodynamische Stabilisierung [62], welche die Therapie mit Inotropika und Vasopressoren [63], z.B. Dobutamin, sowie die Stabilisierung des Glukosehaushaltes und die Volumentherapie einschließt, wobei HES-Lösungen sich im Gegensatz zu anderen Volumentherapien im Hinblick auf die Nierenfunktion nachteilig zeigten [64]. Der Ersatz, bzw. die Sicherung der Organsysteme, wie z.B. das Nierenersatzverfahren [65], spielt ebenso wie das *Airway-Management* und die Beatmung eine wichtige Rolle [66].

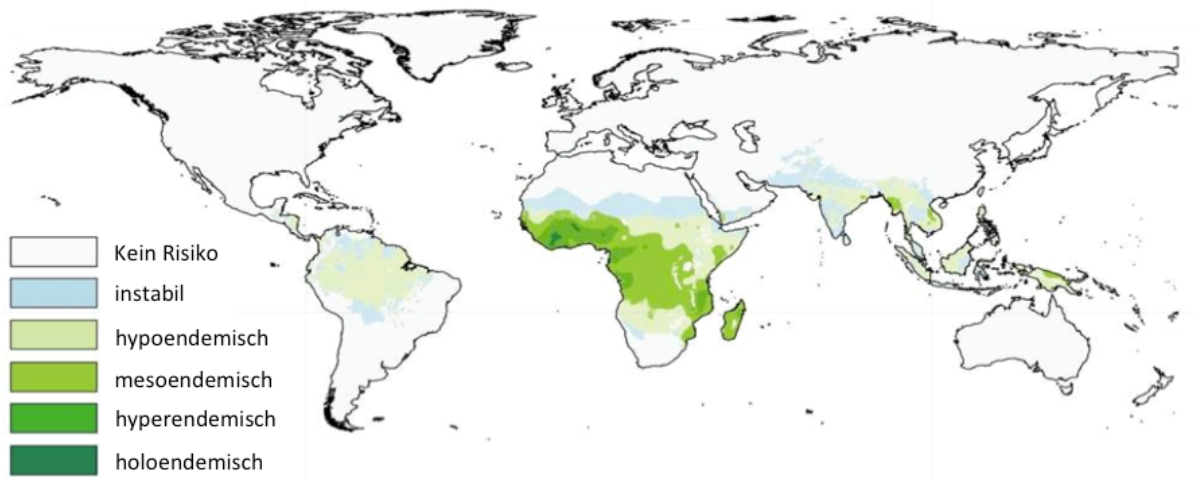
*Adjunktive Behandlung.* Die adjunktive Therapie wird zusammen mit der kausalen und der supportiven Therapie eingesetzt. Sie umfasst u.a. die situationsgerechte Gabe von rekombinantem Aktivierten Protein C (rhAPC) [67], Immunglobulinen [68]

und Selen [69]. Die Verabreichung von Glukokortikosteroiden wird in der Therapie der schweren Sepsis bzw. des septischen Schocks nicht mehr, oder nur noch als *ultima ratio* empfohlen [70,71]. Der Einsatz von Insulin [72] und Antithrombin [73] wird kontrovers diskutiert und von der Deutschen Sepsis-Gesellschaft nicht empfohlen.

## **1.2 Malaria**

### **1.2.1 Geschichte und Epidemiologie**

Die ersten Aufzeichnungen über die Erkrankung Malaria gehen auf chinesische Dokumente aus dem Jahr 2700 v. Christus zurück. Der Begriff „Malaria“ ist auf das lateinische *mala aria* für „schlechte Luft“ zurückzuführen. 1880 wurde der Parasit *Plasmodium* erstmalig durch C. Laveran nachgewiesen und 1897 der Zusammenhang zwischen Parasit und Mosquitos als Vektoren durch R. Ross identifiziert [74]. Malaria ist eine weit verbreitete Krankheit der Tropen und Subtropen, die durch die weibliche *Anopheles*-Stechmücke übertragen wird (Abbildung 1). *P. falciparum* ist die vorherrschende Parasitenspezies in Ghana und verursacht die Malaria tropica. Sie ist mit 92,4% die häufigste Malariaform und zeigt die schwersten Verläufe [75]. *P. ovale*, ursächlich für die Malaria tertiana und *P. malariae*, Auslöser der Malaria quartana kommen ebenfalls in diesen Gebieten vor und können sich als Koinfektion einer Malaria tropica manifestieren. Malaria tertiana kann potentiell als chronische Verlaufsform auftreten und zeigt eine typische 48-stündige Fieberrythmik, welche das schubweise Rupturieren der Erythrozyten markiert. Malaria quartana ist durch eine 72-stündige Fieberrhythmik gekennzeichnet. Jedoch kann eine Malaria tertiana oder quartana bei Ausbleiben dieser Rhythmik nicht ausgeschlossen werden. *P. falciparum* weist keine typische Fieberkurve auf. Die humanpathogene Art *P. vivax*, ebenfalls Auslöser der Malaria tertiana, kommt in Westafrika nicht vor. *P. vivax* benötigt zum Eindringen in die Erythrozyten ein Wirtsprotein, das Duffy-Antigen, welches von ca. 90% der afrikanischen Bevölkerung nicht ausgebildet wird und somit eine Resistenz vorliegt. Die Verbreitung von *P. knowlesi*, ursprünglich ein Erreger der Makaken-Affen, ist auf Südostasien beschränkt. Er ähnelt in seiner Morphologie stark *P. malariae* und kann schwere Verläufe beim Menschen verursachen [76].



**Abbildung 1** Ausbreitung von Malaria 2007.

Instabil= erhebliche Schwankungen der Transmission, hypoendemisch= Prävalenz bis 10% unabhängig vom Alter, mesoendemisch= Prävalenz 10-50% unabhängig vom Alter, hyperendemisch= Prävalenz 50-75% unabhängig vom Alter, holoendemisch= Parasitenrate >75% bei Säuglingen zwischen dem 1.-11.- Lebensmonat [77,78]

Aktuell leben ca. 3,2 Milliarden Menschen in malariaendemischen Gebieten und bis zu 700.000 Todesfälle standen im Jahr 2012 im Zusammenhang mit Malaria. Die meisten Malariafälle (60-80%) sowie die Mehrheit der Todesfälle (90%) entfallen auf die afrikanische Bevölkerung. Kinder unter 5 Jahren sind besonders betroffen, so dass 77% der Todesfälle in diese Altersgruppe fallen (*Global Health observatory. Number of Malaria deaths, 2012*). Zwischen 2000 und 2012 ist die geschätzte weltweite Malaria-Mortalität um 42% gesunken, bei Kindern unter 5 Jahren um sogar um 48% [79,80]. Malaria ist für den Verlust von 45 Millionen krankheitsbereinigten Lebensjahren (DALY, engl. *disease adjusted life years*) verantwortlich, 13% der DALYs, die durch Infektionskrankheiten verursacht werden, fallen auf Malaria zurück [81]. Der Begriff DALY drückt in der Medizin und der Sozialökonomie die kulturübergreifende Beeinträchtigung des beschwerdefreien Alltags eines Menschen durch eine spezifische Erkrankung aus. Studien zeigen, dass die Kontrolle der Ausbreitung durch präventive und therapeutische Maßnahmen gegen die Malaria im Gegensatz zu anderen Infektionskrankheiten relativ kostengünstig ist. Die Kosten, ein Kind ein Jahr lang mittels intermittierender präventiver Behandlung (IPTi, engl. *Intermittent preventive treatment in infants*) vor Malaria zu schützen werden mit 0,6 US\$ angegeben, die Therapie eines Kindes mit schwerer Malaria mit durchschnittlich

30 US\$. Trotzdem ist eine langfristige private und staatliche finanzielle Unterstützung der betroffenen Länder essentiell, um einen Wiederanstieg der Malariafälle zu verhindern [82,83].

### **1.2.2 Definition und Diagnostik**

Malaria kann sich in unterschiedlichen klinischen Symptomen äußern und wird deswegen auch als das Chamäleon der Tropenkrankheiten bezeichnet. Zu den häufigen Symptomen gehören Fieber, Schwitzen, Schüttelfrost, Erbrechen und starke Kopfschmerzen [84]. Aber auch Durchfall, Husten und Unterernährung können Zeichen einer Malaria sein [85]. Nach WHO-Empfehlung muss die Diagnose der Malaria durch einen direkten Parasitennachweis verifiziert werden und darf nicht auf einem klinischen Verdachtsmoment beruhen. Sollte eine mikroskopische Diagnostik nicht möglich sein, ist die klinische Diagnose einer unkomplizierten Malaria wie folgt zu stellen [86]:

- In Gegenden mit niedriger Übertragungsrate sollte die Möglichkeit einer Exposition vorgelegen und in den letzten drei Tagen Fieber ohne Hinweis auf andere Ursachen bestanden haben.
- In Gegenden mit hohem Übertragungsrisiko sollte eine Fieberepisode in den letzten 24 Stunden und/oder eine Anämie, z.B. bei dunkelhäutigen Kindern an blassen Handflächen zu erkennen [85], vorgelegen haben.



**Abbildung 2** Blasse Handflächen bei Anämie.

© RBM/WHO [http://www.rbm.who.int/docs/Childhealth\\_eng.pdf](http://www.rbm.who.int/docs/Childhealth_eng.pdf)

Folgende Kriterien definieren nach WHO (2000) eine schwer verlaufende Malaria [87]:

Der Nachweis asexueller Parasitenformen und eines der folgenden:

#### *Klinisch*

- Bewusstseinserschänkung oder Koma
- Erschöpfungszustand
- Unfähigkeit der Nahrungsaufnahme
- Multiple Konvulsionen: >2 Episoden in 24 Stunden
- Dyspnoe (Azidoseatmung)
- Kreislaufzusammenbruch oder Schock, systolischer RR <70 mmHg
- Gelbsucht mit Nachweis lebensgefährlicher Organschädigungen
- Hämoglobinurie
- Blutungsneigung
- Lungenödem (radiologisch nachgewiesen)

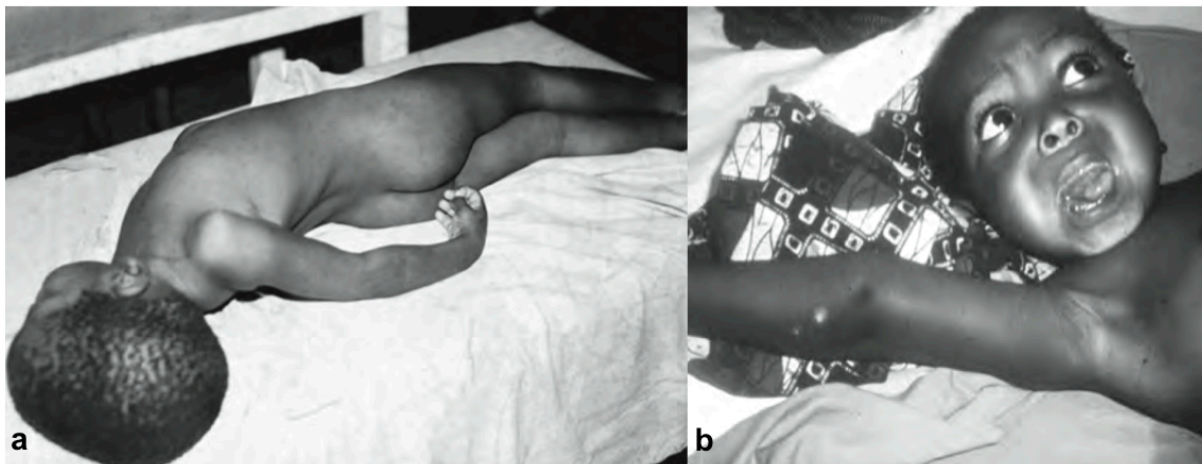
#### *Laborchemisch*

- Hypoglykämie (Blutzucker <40 mg/dL)
- Metabolische Azidose (Plasma Bikarbonat >15 mEq/L)
- Schwere normozytäre Anämie (Hb <5 g/dL, Hämatokrit <15%)
- Hämoglobinurie
- Hyperparasitämie (>2%/ $\mu$ L in Gegenden mit niedriger Übertragungsrate oder >5% mit stabil-hoher Übertragungsrate)
- Hyperlaktatämie (Laktat >45 mg/dL)
- Niereninsuffizienz (Serumkreatinin >3 mg/dL)

Diese Definition wird zum Teil kritisch bewertet und ein System vorgeschlagen, welches Diagnosekriterien für klinische Studien und eines für die Selektion von Hochrisikogruppen im Sinne eines diagnostischen Instrumentes unterscheidet [88,89].

Die häufigsten klinischen Manifestationsformen der schweren Malaria bei Kindern in endemischen Gebieten sind Bewusstseinsstörungen bis zum Koma, schwere Anämie, Dyspnoe bzw. Azidose, Krampfanfälle und Hypoglykämie (Imbert 2003). Bei

einem Symptomkomplex aus Fieber, Koma und Krampfanfällen muss eine zerebrale Malaria ausgeschlossen werden. Abnorme Atemmuster, Verlust des Kornealreflexes, fehlender Pupillenreflex, Alter unter 3 Jahren, retinale Blutungen, Hypoglykämie und Leukozytose sind Risikofaktoren für eine erhöhte Mortalität bei zerebraler Malaria [90].



**Abbildung 3** Kind mit zerebraler Malaria. Ophistotonus (a); Krampfanfall mit Deviation der Augenachse, Grimassierung des Mundes und stereotype Streckstellung des Armes (b) [91].

Die Malariadiagnostik anhand von Giemsa-gefärbten Blutaussstrichen ist die am häufigsten angewendete Methode, da sie preiswert ist und bei erfahrenem Personal eine sensitive und spezifische Methode darstellt [92]. Der Dicke Tropfen diente der Feststellung und Quantifizierung einer Parasitämie. Die Quantifizierung von sehr hohen Parasitämien und die Spezies-Identifizierung erfolgten im Blutaussstrich. [93]. Die Untersuchung ist sehr untersucherabhängig und kann beim Ungeübten leicht zu einer Überschätzung der Parasitenzahl führen [94].

Malariaschnelltests stellen eine gute Methode dar, um bei Kinder eine Malariaparasitämie zu diagnostizieren und können dem Dicken Tropfen abhängig vom Untersucher in der Sensitivität sogar überlegen sein, jedoch bleibt die systematische Anwendung und die zielgerichtete Therapie mit Malariamedikamenten bei positivem Ergebnis noch ein Problem. Ursächlich sind logistische Herausforderungen der flächendeckenden Verteilung und eine zurückhaltende

Einstellung des medizinischen Personals gegenüber innovativer Diagnostik [95,96]. Die PCR, das sensitivste Verfahren, wird in den ressourcenarmen Regionen auf Grund des hohen Kosten- und Materialaufwandes selten vorgehalten.

### **1.2.3 Therapie**

Die WHO empfiehlt im Handbuch "*Management of the child with severe infection or severe malnutrition: guidelines for care at first-referral level in developing countries*" aus dem Jahr 2000 [54] bei nachweislicher Malaria Quinin intravenös mit anschließender Gabe von Sulfadoxin-Pyrimethamin (SP) für 7 Tage. Sollte eine intravenöse Gabe nicht möglich sein kann alternativ Quinin intramuskulär verabreicht werden. Besteht eine Resistenz gegen SP können Second-line Malariamedikamente wie Artesunate und Artemeter verabreicht werden.

Für Ghana empfiehlt die WHO als Therapie der ersten Wahl bei klinischem Verdacht auf Malaria Artesunate und Amodiaquin, bei *P.-falciparum*-Malaria Artesunate und Amodiaquin oder Artemether-Lumefantrin. Sollte die Therapie fehlschlagen wird die Therapie mit Quinin durchgeführt [97]. Supportive Maßnahmen wie Volumenersatz, Transfusionen sowie die Senkung des Fiebers sind je nach klinischer Präsentation anzuwenden [91].

### **1.3 Differenzierung zwischen Bakteriämie und Malaria**

Die Differenzierung zwischen invasiven bakteriellen Erkrankungen und Malaria ist immer noch eine diagnostische Herausforderung für den Kliniker mit limitierten Ressourcen. Lösungsansätze umfassen klinische Diagnostik [6,9,56,98–101] sowie die Suche nach speziellen Laborparametern, welche Malaria oder eine bakterielle Erkrankung anzeigen könnten [102,103]. Diskutiert wird unter anderem die Aussagekraft einer Thrombozytopenie als Indiz für eine Malaria [103]. Untergewicht (*weight-for-age z-Wert* <-2) ist Studien zufolge mit einer Bakteriämie bei parasitärischen Kindern vergesellschaftet [104], wobei eine Anämie speziell auf eine Infektion mit gram-negativen Bakterien, meist NTS, hindeutet [104,105]. Studien zeigen einen Zusammenhang zwischen Malaria und invasiven bakteriellen Infektionen, vor allem mit nicht-typhoiden Salmonellen (NTS), welcher wahrscheinlich auf eine reduzierte Barrierefunktion des Gastrointestinaltraktes für Darmerreger bei



manifesten Malariainfektion zurückzuführen ist [106]. Die Menge von Bakterien bzw. Parasiten im Blut verhält sich im Falle einer Koinfektion meist antiproportional, so dass eine Bakteriämie meist mit niedrigen Parasitenanzahlen im Blut assoziiert ist [104,107]. Einfach anzuwendende und erschwingliche Schnelltests zur Differenzierung von Malaria, einer bakteriellen Infektion und einer viralen Infektion sind auf dem Markt noch nicht erhältlich [108].

## 1.4 Zielsetzung

Die Zielsetzung dieser Promotionsarbeit war

1. die Bestimmung der Inzidenz von Bakteriämien bei ghanaischen Kindern bis zu dem Alter von 5 Jahren im Einzugsgebiet eines ländlichen Krankenhauses in Ghana;
2. die Erfassung der Sensitivität lokal vorherrschender bakterieller Erreger auf gängige Antibiotika;
3. die Untersuchung relevanter klinischer Charakteristika und Symptome bei Kindern mit *Plasmodium*-Parasitämie, welche auf eine bakterielle Koinfektion hindeuten;

Die Ergebnisse dieser Arbeit wurden in der Fachzeitschrift „PLoS One“ 2012 und 2015 publiziert. Die einzelnen Publikationen bauen systematisch aufeinander auf.

## Kapitel 2 Material und Methoden

### 2.1 Studiengebiet und Beschreibung der regionalen Bevölkerung

Als Studiengebiet der vorliegenden Arbeit wurde das Einzugsgebiet des Agogo Presbyterian Hospital (APH) in Ghana, Westafrika definiert. Agogo liegt im Ashante Akim North District der südghanaischen Ashante Region, etwa 80 Kilometer östlich der Regionalhauptstadt Kumasi.



**Abbildung 4** Geographische Lage Ghanas in Afrika (a) und Darstellung der Ashante-Region (b) mit dem Studiengebiet im Ashante Akim North District (c).

Das Klima Südghanas wird von einer Hauptregenzeit zwischen Mai und Juli und einer kürzeren Nebenregenzeit von September bis Oktober bestimmt. In dieser Zeit erreicht die Luftfeuchtigkeit mit bis zu 80%, im Gegensatz zur Trockenzeit mit 60%, ihre höchsten Werte. Durch die geographische Lage im feucht-tropischen Klimagürtel entwickeln sich Temperaturen, die je nach Jahreszeit zwischen 28° und 36°C am Tage und einer durchschnittlichen Temperatur von 24°C bei Nacht schwanken.

Ursprünglich wurde die Vegetation durch Regenwald dominiert, der im letzten Jahrhundert kontinuierlich als Folge intensiver Forst- und Landwirtschaft einer

Sekundärvegetation aus trockenem und feuchtem Höhenwald sowie offenem regenrönem Wald wuch. Das Einzugsgebiet des Krankenhauses liegt im so genannten Ashante-Hochland, welches eine durchschnittliche Höhe von 300 m ü. Null aufweist.

Ghana hat ca. 20,5 Mio. Einwohner, von denen laut Zensusdaten von 2004 42% unter 15 und 15% unter fünf Jahren alt sind. Die durchschnittliche Lebenserwartung bei Geburt beträgt 57,2 Jahre bei einer Säuglingssterblichkeitsrate von 5% aller lebend geborenen Kinder [109]. Das Einzugsgebiet des APH umfasst ca. 149.500 Einwohner [110], von denen mehr als 28.000 in der Stadt Agogo leben [111].

Malaria ist in der untersuchten Region mit einer Inzidenz von >100 Fällen auf 1.000 Einwohner pro Jahr *per definitionem* eine holoendemische Erkrankung (engl. *high transmission area*) [112]. Vor allem in der Altersgruppe der Zwei- bis Neunjährigen, in welcher die höchste Malariaprävalenz besteht, zählt sie neben anderen Infektionskrankheiten zu den häufigsten Todesursachen.

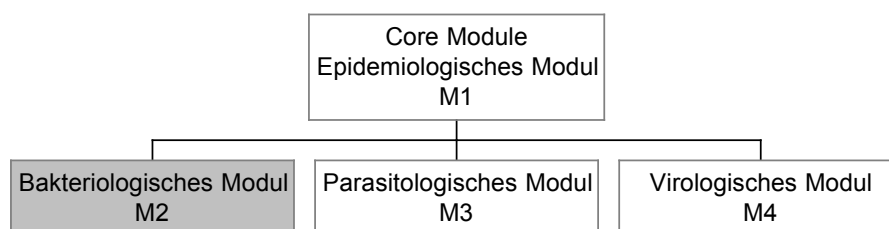
In Ghana wurde 2009 eine HIV-Prävalenz von 1,8% Infizierten unter den Erwachsenen beschrieben [113]. Die Impfung gegen *Haemophilus influenzae* Typ B wurde 2001 in den Impfplan für Kinder aufgenommen [114]. Im März 2004 wurde eine landesweite Krankenversicherung eingeführt (NHIS, engl. *National Health Insurance Scheme*), welche im Jahr 2008 ca. 38% der Bevölkerung des Studiengebiets abdeckte [115].

Mit annähernd 75% stellen die Akan die größte ethnische Gruppe der Region dar. Obwohl sich mehr als die Hälfte der Ashantes zum christlichen Glauben bekennen, besteht neben einer kleinen Gruppe islamisch Gläubiger eine weite Verbreitung von Naturreligionen, welche teilweise parallel zu anderen Glaubensrichtungen praktiziert werden. Die Hauptexportgüter Gold, Kakao und Kaffee spielen eine wichtige ökonomische Rolle für Ghana, jedoch wird grade in ländlichen Gegenden vornehmlich Subsistenzwirtschaft betrieben.

## 2.2 Aufbau der Studie

Die Untersuchungen zur vorliegenden Arbeit wurden im Rahmen einer klinisch-epidemiologischen Studie des Bernhard-Nocht-Institutes für Tropenmedizin in Hamburg (BNITM) durchgeführt, die sich in Kollaboration mit dem *Kumasi Center for Collaborative Research* (KCCR) mit den Symptomen und der Verteilung von infektiösen Erkrankungen im Studiengebiet des Presbyterian Hospitals Agogo beschäftigte.

Nach der Art des infektiösen Agens erfolgte eine Unterteilung in vier Studienarme (Module): Plasmodien/Malaria (Modul 1), Bakteriologie (Modul 2), intestinale Parasitologie (Modul 3) und respiratorische Virologie (Modul 4). Das Modul 1 nahm in dieser Struktur eine zentrale Position ein, da bei allen Kindern innerhalb des Rekrutierungsprozesses eine Malariadiagnostik durchgeführt wurde, bevor sie je nach klinischem Symptomschwerpunkt einem der drei angegliederten Module zugewiesen wurden. Wurden keine der für Modul 2, 3 und 4 definierten Einschlusskriterien erfüllt, blieb es bei der Teilnahme im epidemiologischen Modul und der darin beinhalteten symptomunabhängigen Malariadiagnostik zur Eruiierung der Malariainzidenz.



**Abbildung 5** Modulstruktur der Studie.

Der Inhalt der vorliegenden Arbeit bezieht sich nur auf die Patienten, die im Rahmen des bakteriologischen Moduls untersucht wurden und auf die jeweilig korrespondierenden Daten aus dem epidemiologischen Modul (Modul 1).

## 2.3 Rekrutierung, Patienteneinwilligung und Verlaufskontrolle

Die Patientenrekrutierung für die vorliegende Studie erstreckte sich von September 2007 bis Februar 2011 (46 Monate). In das epidemiologische Modul wurden alle

Kinder eingeschlossen, die tagsüber von einem Elternteil oder einer anderen entscheidungsberechtigten Begleitung in der Ambulanz der Kinderklinik vorgestellt wurden und jünger als fünfzehn Jahre alt waren.

Von der Studie ausgeschlossen wurden:

- Kinder die wegen eines akuten und rein unfallchirurgischen oder orthopädischen Verletzungsbildes vorstellig wurden;
- Kinder, die in Kontakt mit giftigen Tieren geraten waren, beziehungsweise Bisse oder Stiche durch diese erlitten hatten;
- Kinder mit pathologischen dermalen Effloreszenzen; außer bei der dringenden Annahme des Studienarztes, dass diese infektiöser oder internistischer Genese waren.

Kinder, die mindestens eines der Ausschlusskriterien erfüllten, durchliefen nicht den Rekrutierungsprozess in der Kinderambulanz, sondern wurden direkt auf die zuständigen Stationen eingewiesen. Während eines Besuches der Kinderambulanz passierten die Kinder fünf Stationen, an denen jeweils unterschiedliche Daten erhoben wurden. Vor der Rekrutierung wurden die Körpertemperatur, das Gewicht und die Körperlänge der Kinder von Pflegehelfern schriftlich in der Krankenakte des Patienten festgehalten. Die Temperatur wurde axillär mittels eines Quecksilberthermometers gemessen, wobei auf die korrekte Platzierung des Thermometers unter dem fest angepressten Arm geachtet wurde. Zur Bestimmung des Körpergewichtes standen zwei geeichte Waagen zur Verfügung. Für Kinder, die noch nicht eigenständig stehen konnten, wurde eine Hängewaage bis 25 kg mit einer Einteilung von 100 g verwendet, für die übrigen Kinder eine gewöhnliche Personenwaage. Die aktuelle Körperlänge wurde bei Säuglingen und Kleinkindern bis 1 m in liegender Position auf einem Tischinfantometer abgelesen. Von Kindern, die eigenständig aufrecht stehen konnten, wurde die Größe an einer wandständigen Messlatte ermittelt.

Anschließend nahm eine ghanaische Studienschwester die persönlichen Basisdaten in einem standardisierten Rekrutierungsformular auf (s. Anhang, *Rekrutierungsformular*). Dieses Formular diente zusätzlich als schriftliche Dokumentationsvorlage für die Einverständniserklärung. Willigte der Betreuer des Kindes nach erneuter Überprüfung des eingehenden Verständnisses der

Studieninhalte in die Teilnahme ein, wurde dies durch die Unterschrift oder den Fingerabdruck der Studienschwester, eines Zeugen und des Betreuers auf dem Rekrutierungsformular belegt und die Akte mit einem fortlaufenden Barcode zur Patientenidentifizierung versehen. Anschließend erfolgte eine umfangreiche Anamnese anhand eines standardisierten Anamneseformulars (s. Anhang, *Anamneseformular*), das in vierzehn Themenkomplexen Fakten zur aktuellen Anamnese, zur Krankengeschichte und zur Medikamentenanamnese behandelte. Ergänzende anamnestische Details oder Untersuchungsergebnisse des Arztes konnten hier ebenfalls vermerkt werden.

Bevor die Kinder vom Arzt untersucht wurden, entnahm ein hierfür angeleiteter technischer Assistent für die Malariadiagnostik zwei Tropfen Kapillarblut, die als Blutausschlag und als Dicker Tropfen anschließend im Labor auf Plasmodien untersucht wurden (vgl. 2.4.1 *Malariadiagnostik*). Abgeschlossen wurde das Anamneseformular nach der klinischen Untersuchung durch den Studienarzt, der Laboranforderungen, die klinische Verdachtsdiagnose und das weiterführende Behandlungskonzept protokollierte. Im Falle, dass die Erkrankung keine stationäre Aufnahme nötig machte, konnten Therapieanweisungen im Anschluss an den Arztkontakt von den Schwestern direkt ausgeführt und das Kind entlassen werden. War eine Einweisung notwendig, erfüllte jedes Kind  $\leq 5$  Jahren, unabhängig von der Körpertemperatur, die nötigen Einschlusskriterien für das bakteriologische Modul und es wurde eine aerobe Blutkultur mit venösem Blut angelegt.



**Abbildung 6** Malariadiagnostik durch einen technischen Assistenten (a); Körperliche Untersuchung durch den Studienarzt in der Notaufnahme (b). Quelle: M. Nielsen

Bevor sich die begleitende Aufsichtsperson bezüglich einer Studienteilnahme entscheiden musste, hatte sie im Wartezimmer die Möglichkeit im Rahmen von kleinen informativen Gruppenaufklärungsgesprächen die Studieninhalte zu diskutieren und Fragen an eine zuständige Schwester zu stellen. In einem Einzelgespräch mit einer ghanaischen Studienschwester wurden die Inhalte der Studie wieder aufgegriffen und anhand eines standardisierten Fragekatalogs erfasst, ob die Folgen einer Studienteilnahme verstanden wurden. Stimmte die Aufsichtsperson nur der Teilnahme an einzelnen Modulen zu, konnte dies, wie im Falle einer kompletten Einwilligung, dokumentiert und ebenfalls mit einer Unterschrift oder per Fingerabdruck von der Aufsichtsperson, der Studienschwester und einem Zeugen, bezeugt werden.

Um die klinische Entwicklung des Patienten im Krankenhaus beurteilen zu können, wurde am Tag der Aufnahme und an den drei darauf folgenden Behandlungstagen der Wasser- und Elektrolythaushalt, die Bewusstseinslage, Anzeichen meningealer Reizzustände und die respiratorische Situation erfasst. Die schriftliche Dokumentation der Befunde erfolgte auf einem standardisierten Verlaufsformular.

Am Ende des Krankenhausaufenthaltes schloss der behandelnde Arzt den Fall ab, indem er die Entlassdiagnose und den klinischen Krankheitsausgang in den Kategorien „vollständige Genesung“, „fortbestehende gesundheitliche Beeinträchtigung“, „lebenslange gesundheitliche Beeinträchtigung“, „Tod“ und „aus der Studie ausgeschieden“ auf dem Verlaufsformular vermerkte. (s. Anhang, *Verlaufsformular*)

## **2.4 Methoden**

### **2.4.1 Malariadiagnostik**

Zur Parasitämiebestimmung wurde kapilläres Blut verwendet, welches den Kindern mittels Punktion mit einer sterilen Einmallinganzette aus der seitlichen Fingerkuppe des 3. oder 4. Fingers entnommen wurde. Aus dem gewonnenen Blut wurde je ein Dicker Tropfen und einen Blutausschmear angefertigt.



Nachdem der Dicke Tropfen vollständig an der Luft getrocknet war, wurde er für 15 Minuten in 10% Giemsa-Lösung gefärbt. Anschließend wurde mit klarem Wasser überschüssiges Färbemittel abgespült.

Die Parasiten wurden in der mikroskopischen 1000x Vergrößerung auf 200 Leukozyten ausgezählt. Ergab sich eine Parasitenzahl unter 10 Parasiten/200 Leukozyten, wurde bis 500 Leukozyten weitergezählt. Ausgehend von dem Referenzwert von 8000 Leukozyten pro Mikroliter Blut, berechnet sich die Anzahl der Parasiten/ $\mu$ l folgendermaßen (Burchard et al. 2001):

$$\text{Parasiten}/\mu\text{l} = (\text{gezählte Parasiten} \times 8000) / 200 \text{ (bzw. 500)}$$

Der Blutausstrich wurde in einem Methanolbad fixiert und anschließend ebenfalls für 15 min in 10% Giemsa-Lösung gefärbt. Vor jedem Arbeitsschritt musste sichergestellt sein, dass der Ausstrich komplett getrocknet war.

Im Falle von sehr schweren Parasitämien, d.h. einer Parasitenzahl >40-60 Parasiten in einem Sichtfeld des Dicken Tropfens mit 100x Vergrößerung besteht die Gefahr von Zählungsungenauigkeiten. Hier erfolgte die Berechnung der Parasitendichte/ $\mu$ l (P) nach folgender Formel:

$$P = N \times EZZ / 1000$$

*N = Anzahl der befallenen Erythrozyten*

*EZZ = Ausgezählte Erythrozyten/  $\mu$ l*

Mehrfach befallene Erythrozyten wurden als ein infizierter Erythrozyt gerechnet.

## **2.4.2 Blutkulturen**

### **2.4.2.1 Blutentnahme**

Zur Blutentnahme lagen die Kinder auf einer Liege und wurden von einer Hilfsperson fixiert. Die Person, welche die Punktion durchführte, desinfizierte sich die Hände und legte Einmalhandschuhe an. Als Punktionsstelle wurde der venöse Handrückenplexus, die *Vena cubitalis*, oder die *Vena temporalis superficialis* gewählt. Die Haut an der Einstichstelle wurde mit sterilen Tupfern abgerieben und anschließend mit Hautdesinfektionsmittel besprüht, welches vor der Punktion für

mindestens 30 sec einwirken musste. Je nach Einschätzung der Venenverhältnisse durch die Studienkrankenschwester kamen Butterfly-Stahlkanülen oder einfache Stahlkanülen zum Einsatz. Die ersten 0,5-3 ml Blut dienten zur Beimpfung der Blutkultur. Hierfür wechselte die Hilfsperson die Nadel des Entnahmeröhrchens und inokulierte das Blut zügig nach Desinfektion der Gummimembran in die Blutkulturflasche. Vor ihrer Verwendung wurde jede Flasche auf Trübungen und Haltbarkeit überprüft.

Anschließend erfolgte die Blutentnahme für weitere hämatologische Untersuchungen, inklusive des großen Blutbildes.



**Abbildung 7** Blutentnahme durch die Studienkrankenschwester bei einem Vigilanz geminderten Kind auf der Kinderstation. Quelle: M. Nielsen

#### **2.4.2.2 Lagerung, Transport und Aufbereitung der Blutkulturen**

Nach der Befüllung inkubierten die Blutkulturflaschen bis zum Abtransport ins Labor bei Raumtemperatur (ca. 25-30°C) in einem Transportgefäß. Die Inkubationsdauer bewegte sich zwischen wenigen Minuten und zwei Stunden. Anschließend erfolgte ein direkter Transport in das klinikeigene Labor. Abhängig von der Anzahl der angefallenen Proben pro Tag fanden zwischen einem und sechs Transporten statt. Im Labor wurde die Probe von einem technischen Assistenten identifiziert und angenommen.

Zur Detektion positiver Blutkulturen wurde das nicht-radiometrische Bactec-System von Becton Dickinson verwendet. Die Inkubationszeit betrug max. fünf Tage. Erkannte das Gerät innerhalb dieser Zeitspanne Bakterienwachstum in einer der inkubierten Flaschen, wurde deren Position angezeigt und die betroffene Flasche zur weiteren Speziesdifferenzierung herausgenommen. Flaschen ohne nachweisliches Bakterienwachstum innerhalb von fünf Tagen wurden verworfen und das negative Ergebnis dokumentiert.

#### **2.4.2.3 Speziesdifferenzierung**

Zur Speziesdifferenzierung wurde je ein Tropfen positive Blutkulturflüssigkeit mit einer Pasteur Pipette unter aseptischen Bedingungen auf 5% Schafsblutagar, Schokoladenagar und McConcey-Agar aufgebracht und 18-24 Stunden bei 35-37°C inkubiert. Proben auf Blutagar und Schokoladenagar inkubierten bei 5% CO<sub>2</sub>, Proben auf McConkey-Agar in normaler Atmosphäre. Zusätzlich wurde eine Gram-Färbung durchgeführt und bei klinischem Verdacht auf eine Pilzinfektion eine Dextrose+Chromomycin Platte angelegt. Bestand der klinische Verdacht auf eine Infektion mit *Neisseria meningitidis*, fand zur Verbesserung der Wachstumsbedingungen die Inkubation in einem feuchten Milieu statt.

Die folgende Auflistung zeigt die wichtigsten Tests, die nach der Identifikation von Morphologie und Gram-Verhalten der Erreger zur Speziesdifferenzierung durchgeführt wurden. Alle Tests waren als handelsübliche Kits im Labor vorhanden oder wurden nach den gebräuchlichen Standardprotokollen durchgeführt und sind daher an dieser Stelle nicht näher beschrieben.

#### Gram-positive Haufenkokken

DNAse-Test zur Differenzierung von *Staphylococcus aureus* und koagulase-negativen Staphylokokken sowie Resistenztestung mittels Kirby-Bauer Diffusionsmethode gegen die Antibiotika Penicillin, Amoxicillin/Ampicillin, Amoxiclav (Amoxicillin und Clavulansäure), Cefoxitin, Cefuroxim, Ceftriaxon, Erythromycin/Azithromycin, Cotrimoxazol, Ciprofloxacin, Gentamicin, Tetracyclin und Chloramphenicol. Direkter Latex-Agglutinations-Antigen-Test zur Bestimmung von *Streptococcus pneumoniae* (Fa. Oxoid Deutschland GmbH, Postfach 100753, 46467

Wesel) und Antigen-Test für Streptokokken Gruppe B (Fa. Oxoid Deutschland GmbH, Postfach 100753, 46467 Wesel).

#### Gram-positive Diplo- und Kettenkokken

Bacitracin-Test, Optochin-Test, Galle-Äskulin-Azid-Test, Arabinose-Test, 6,5%-NaCl-Brühe-Toleranz-Test, Agar CAMP-Test zur Differenzierung von Streptokokken der Gruppe B, Pyruvat-Fermentierung zur Differenzierung von Enterokokken.

#### Gram-negative Stäbchen

API 20E (Fa. bioMérieux Deutschland GmbH, Weberstrasse 8, 72622 Nürtingen), inkubiert für 18-24 Stunden bei 35-37°C in normaler Atmosphäre.

#### Gram-negative Diplokokken

Durchführung eines Latex-Testes für *Neisseria meningitidis*.

#### (Hefe-) Pilze

Kultivierung auf Dextrose+Chloromycetin-Agar.

### **2.4.3 Blutbildanalyse**

Die Gewinnung der hämatologischen Daten erfolgte mittels eines halbautomatischen Zellanalysegerätes (Sysmex). Es wurden der Hämoglobinwert (g/dl) und die Leukozytenzahl/ $\mu$ l erhoben.

### **2.4.4 Bestimmung anthropometrischer und klinischer Parameter**

Folgende Erläuterungen beziehen sich auf Parameter, die entweder während der Aufnahmeuntersuchung oder als Einschlusskriterium für das bakteriologische Modul erhoben wurden. Alle übrigen klinischen Parameter sind selbsterklärend und im Anhang einzusehen (*Anamneseformular*, *Rekrutierungsformular* und *Verlaufsformular*).

Zur Einschätzung des Dehydrationsgrades bei Unkenntnis des tatsächlichen Gewichtsverlustes wurde auf die folgende Einteilung zurückgegriffen:

**Tabelle 3** Beurteilung des Dehydrationsgrades nach klinischen Kriterien (ergänzt nach Armon, 2001)

<b>Schweregrad</b>	<b>Leicht</b>	<b>Mittel</b>	<b>Schwer</b>
Säuglinge	<5%	5-10%	>10%
Kinder	<3%	3-6%	>6%
Schleimhäute	trocken	spröde	rissig
Turgor	normal	reduziert	stehende Hautfalten
Puls	normal	schnell, flach	schnell, flach, bzw. nicht tastbar
Urin	konzentriert	maximal konzentriert	Anurie
Neurostatus	normal	schläfrig, irritabel, tiefe Azidoseatmung	Kreislaufschock

Die *Blantyre Koma Skala* ist eine Abwandlung der *Glasgow Koma Skala*, die es erlaubt, den Bewusstseinszustand präverbaler Kinder zu beurteilen. Es fließen die motorische und stimmliche Reaktion auf einen Schmerzreiz und eine angemessene Augenfolgereaktion ein. Die Skala ist ein erprobtes Instrument um eine zerebrale Malaria zu diagnostizieren (Molyneux 1989; Waller, 1995).

**Tabelle 4** Blantyre Koma Skala

<b>Antwort</b>	<b>Befund</b>	<b>Punktzahl</b>
Beste motorische Antwort	gerichtete motorische Antwort auf schmerzhaften Stimulus	2
	versucht sich dem Schmerzreiz zu entziehen	1
	keine oder unangemessene Schmerzantwort	0
Beste verbale Antwort	weint kräftig als Schmerzreaktion, oder, wenn schon möglich, äußert sich angemessen verbal	2
	stöhnt oder weint leicht als Schmerzreaktion	1
	keine angemessene Schmerzantwort	0
Augenbewegung	beobachtet und folgt Bewegungen (Gesicht der Mutter)	1
	Beobachtet nicht und folgt nicht Bewegungen	0

**Blantyre Koma Skala =  
(beste motorische Antwort) + (beste verbale Antwort) + (Augenbewegung)**

Interpretation: pathologischer Bewusstseinszustand: Punktzahl <4

Der *Weight-for-age*-Index eignet sich besonders für ein intra-individuelles Monitoring des Wachstumszustands über einen längeren Zeitraum. Er lässt keine Unterscheidung zwischen Kindern desselben Gewichtes und Alters, jedoch unterschiedlicher Größe zu. Dahingegen reagiert der *Weight-for-height*-Index am sensibelsten auf akute Mangelernährung und gibt bei einmaliger Messung Aufschluss über den Ernährungszustand.

Um den Ernährungszustand der untersuchten Population beschreiben zu können, wurden in der Auswertung die z-Werte der entsprechenden Indizes angegeben. Z-Werte (engl. *z-scores*) entsprechen der Differenz zwischen dem für das Individuum oder die Population ermitteltem anthropometrischen Index und dem Median der entsprechenden Referenzpopulation, geteilt durch die Standardabweichung der Referenzpopulation:

$$z\text{-Wert} = \frac{(\text{beobachteter Wert}) - (\text{Median der Referenzpopulation})}{\text{Standardabweichung der Referenzpopulation}}$$

(Cogill, 2001).

Als Schwellenwert wurde ein Wert von -2 gewählt, analog der Empfehlung zur internationalen Ernährungssicherung eines Individuums oder einer Population (WHO 1997).

#### **2.4.5 Gewinnung sozioökonomischer Daten**

Zur Gewinnung der sozioökonomischen Daten kam ein standardisierter Fragebogen zum Einsatz, welcher in sieben Themenkomplexen den allgemeinen sozialen und ökonomischen Hintergrund der Familie und des Haushalts des Kindes erfasst (s. Anhang, *Sozioökonomischer Fragebogen*).

1. Haushalt
2. Ausbildung/Beruf/Einkommen
3. Migrationshintergrund
4. Zugänglichkeit zu Gesundheitseinrichtungen
5. Hygiene/sanitäre Einrichtungen
6. Umgang mit Nahrungsmitteln
7. Medizinisches Hintergrundwissen/Präventionsmaßnahmen

Für die Datenerhebung besuchte ein einheimischer Dolmetscher die Familien in ihren Dörfern.

#### **2.4.6 Datenfluss und Dateneingabe**

Alle Daten wurden anhand standardisierter Formulare erfasst und in individuellen Patientenordnern bis zur Entlassung des Kindes gesammelt. Die Formulare umfassten das *Rekrutierungsformular*, *Anamneseformular*, *Verlaufsformular*, *Laboranforderung* inklusive der *hämatologischen Sysmex-Daten*, das *Ergebnisblatt der Blutkultur* und den *sozioökonomischen Fragebogen*. Nach Abschluss eines Falles gaben zwei unabhängige Personen den Datensatz jeweils einmal komplett in eine Maske des Datenbanksystems 4<sup>th</sup> Dimension (Programm Version: PowerPC Mac OS™; Version 2004 (8.0.5) ein. Einmal im Monat erfolgte in Deutschland ein Datenabgleich der korrespondierenden Datensätze, um Übertragungsfehler zu ermitteln und zu korrigieren. Nach der Dateneingabe wurden die Patientenordner in der Kinderambulanz archiviert und konnten bei wiederholter Vorstellung desselben Patienten durch ein neues Anamneseformular ergänzt werden.

#### **2.4.7 Statistische Auswertung**

Zur Auswertung des Datensatzes wurden die Daten bereinigt und mittels der Statistiksoftware STATA v10 analysiert. Für die Analyse wurden all jene Patienten ausgeschlossen, deren Alter nicht dokumentiert wurde. Fehlten einzelne klinische Daten, wurden die betroffenen Patienten von bestimmten Berechnungen ausgeschlossen. Beim Fehlen von Angaben zu sehr seltenen aber auffälligen Parametern, wie z.B. „blasse Handflächen“ oder „Ikterus“, wurde der Parameter als negativ gewertet.

Zur Inzidenzbestimmung von Bakteriämien und Sepsis wurden alle Blutkulturbefunde herangezogen, die im untersuchten Jahr anfielen, auch wenn andere Informationen über den Patienten nicht verfügbar waren. Den Inzidenzbestimmungen liegen Daten aus den Jahren September 2007 bis Juli 2009 zu Grunde. Für die Berechnung von Zusammenhängen zwischen Symptomen oder Symptomkomplexen und Malaria bzw. Sepsis wurden logistische Regressionsanalysen durchgeführt. Die Berechnungen basieren auf Daten aus Mai 2007 bis Februar 2011.

#### **2.4.8 Ethikvotum**

Diese Studie wurde in Übereinstimmung mit den ethischen Prinzipien der Erklärung von Helsinki durchgeführt. Alle die Studie betreffenden Handlungen wurden vor Aufnahme der Untersuchungen in Ghana durch die zuständige Ethikkommission der School of Medical Science (KNUST) in Kumasi akzeptiert.



## **Kapitel 3**

Nielsen MV, Sarpong N, Krumkamp R, Dekker D, Loag W, Amemasor S, Agyekum A, Marks F, Huenger F, Krefis AC, Hagen RM, Adu-Sarkodie Y, May J, Schwarz NG.

### **Incidence and Characteristics of Bacteremia among Children in Rural Ghana**

PLoS One **2012**;7(9):e44063.

# Incidence and Characteristics of Bacteremia among Children in Rural Ghana

Maja Verena Nielsen<sup>1\*</sup>, Nimako Sarpong<sup>2</sup>, Ralf Krumkamp<sup>1</sup>, Denise Dekker<sup>1,2</sup>, Wibke Loag<sup>1</sup>, Solomon Amemakor<sup>2</sup>, Alex Agyekum<sup>2</sup>, Florian Marks<sup>3</sup>, Frank Huenger<sup>2,5</sup>, Anne Caroline Krefis<sup>1</sup>, Ralf Matthias Hagen<sup>1</sup>, Yaw Adu-Sarkodie<sup>4</sup>, Jürgen May<sup>1</sup>, Norbert Georg Schwarz<sup>1</sup>

**1** Infectious Disease Epidemiology, Bernhard Nocht Institute for Tropical Medicine, Hamburg, Germany, **2** Kumasi Centre for Collaborative Research in Tropical Medicine, Kumasi, Ghana, **3** International Vaccine Institute, Seoul, South Korea, **4** Kwame Nkrumah University of Science and Technology, School of Medical Sciences, Kumasi, Ghana, **5** Institute for Transfusion Medicine, Laboratory Medicine and Medical Microbiology, Dortmund, Germany

## Abstract

The objective of the study was to describe systemic bacterial infections occurring in acutely ill and hospitalized children in a rural region in Ghana, regarding frequency, incidence, antimicrobial susceptibility patterns and associations with anthropometrical data. Blood cultures were performed in all children below the age of five years, who were admitted to Agogo Presbyterian Hospital (APH), Asante Region, Ghana, between September 2007 and July 2009. Medical history and anthropometrical data were assessed using a standardized questionnaire at admission. Incidences were calculated after considering the coverage population adjusted for village-dependent health-seeking behavior. Among 1,196 hospitalized children, 19.9% (n = 238) were blood culture positive. The four most frequent isolated pathogens were nontyphoidal salmonellae (NTS) (53.3%; n = 129), *Staphylococcus aureus* (13.2%; n = 32), *Streptococcus pneumoniae* (9.1%; n = 22) and *Salmonella* ser. Typhi (7.0%; n = 17). Yearly cumulative incidence of bacteremia was 46.6 cases/1,000 (CI 40.9–52.2). Yearly cumulative incidences per 1,000 of the four most frequent isolates were 25.2 (CI 21.1–29.4) for NTS, 6.3 (CI 4.1–8.4) for *S. aureus*, 4.3 (CI 2.5–6.1) for *S. pneumoniae* and 3.3 (CI 1.8–4.9) for *Salmonella* ser. Typhi. Wasting was positively associated with bacteremia and systemic NTS bloodstream infection. Children older than three months had more often NTS bacteremia than younger children. Ninety-eight percent of NTS and 100% of *Salmonella* ser. Typhi isolates were susceptible to ciprofloxacin, whereas both tested 100% susceptible to ceftriaxone. Seventy-seven percent of NTS and 65% of *Salmonella* ser. Typhi isolates were multi-drug resistant (MDR). Systemic bacterial infections in nearly 20% of hospitalized children underline the need for microbiological diagnostics, to guide targeted antimicrobial treatment and prevention of bacteremia. If microbiological diagnostics are lacking, calculated antimicrobial treatment of severely ill children in malaria-endemic areas should be considered.

**Citation:** Nielsen MV, Sarpong N, Krumkamp R, Dekker D, Loag W, et al. (2012) Incidence and Characteristics of Bacteremia among Children in Rural Ghana. PLoS ONE 7(9): e44063. doi:10.1371/journal.pone.0044063

**Editor:** Heiman Frank Louis Wertheim, Oxford University, Viet Nam

**Received:** February 8, 2012; **Accepted:** July 30, 2012; **Published:** September 10, 2012

**Copyright:** © 2012 Nielsen et al. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.

**Funding:** This work was supported by the UBS Optimus Foundation. The funders had no role in study design, data collection and analysis, decision to publish or preparation of the manuscript.

**Competing Interests:** The authors have declared that no competing interests exist.

\* E-mail: maja.v.nielsen@googlemail.com

## Introduction

High infant morbidity and mortality is still one of the major health issues in sub-Saharan Africa with 4.6 million children dying before the age of five years [1]. According to WHO statistics of 2008, malaria accounts for 18% of deaths among children below five years in Ghana, closely followed by pneumonia (13%), diarrhea (12%) and pre-maturity at birth (12%). Neonatal sepsis is causing 9% of fatal cases. Apart from a few well-equipped hospitals, health facilities lack microbiological diagnostic capacities necessary to diagnose bacteremia and to isolate bacterial pathogens in order to allow targeted treatment [2]. While public interest tends to focus on malaria, tuberculosis and HIV, the morbidity and mortality burden of systemic bloodstream infections are still insufficiently investigated. Recently published data from Tanzania reveals clinical overestimation of malaria, whereas invasive bacterial disease was underestimated [3]. Clinical differentiation between severe malaria and invasive bacterial

infection is difficult because of the overlap in disease symptoms [4]. A further factor complicating the diagnosis and therapy is self-treatment with antimicrobial drugs prior to professional health care, which may impede the diagnosis and increases the risk of emergence and spread of antibiotic resistance [5].

Appropriate diagnosis and treatment require better knowledge of the spectrum of infective agents in malaria-endemic countries as well as the characteristics and disease symptoms associated with the infections. Accordingly, the aim of the study was to provide information on infection incidences, on the spectrum of antibiotic resistances, and on clinical characteristics of bacteremic children.

## Methods

This hospital-based study was carried out at Agogo Presbyterian Hospital (APH) in a rural area of the Ashanti Region in Ghana. The catchment area encompasses approximately 149,500 people [6] with more than 28,000 inhabitants living in Agogo town [7].

The territory was originally covered by tropical rainforest that gave yield to secondary forest, bush land and crop acreages as a result of increased logging and farming activity in the last decades. Two rainy seasons, from May to July and from September to October, characterize the climate with an air humidity up to 80%, ambient temperatures between 28–36°C during daytime and an average temperature of 24°C at night.

Fifteen percent of the population is aged below five years according to census data of 2004. WHO data from 2008 demonstrates a high mortality of 76 per 1,000 children below five years of age. The Ashanti Region is an area holoendemic for malaria with reported transmission rates of >100 cases per 1,000 inhabitants in 2008 [8]. A National Health Insurance Scheme (NHIS) was officially launched in March 2004, covering 38% of the district population in 2009 [9]. The HIV prevalence was 1.8% for the adult Ghanaian population in 2009 [10]. In 2001, *Haemophilus influenzae* type B conjugate vaccine was introduced in the immunization schedule of children [11].

#### Data collection and definition of variables

A survey of consecutive visits of patients presenting at the outpatient department of APH was conducted between September 2007 and July 2009. Ethical approval for the study was obtained from the Committee on Human Research, Publications, and Ethics, School of Medical Science, Kwame Nkrumah University of Science and Technology (KNUST), Kumasi, Ghana. Aims and principles of the study were explained in detail to participants and informed consent was sought by signature or thumb print by the caregiver. Included were all patients up to the age of five years including neonates, who were admitted to the children's ward, provided that parents or legal guardians accepted the study conditions and signed or thumb printed the written informed consent document. Children with dermatological or surgical conditions obviously not caused by a systemic infection were excluded.

Data collection was embedded into clinical routine. Personal and anthropometrical data was collected using a four-paged admission sheet, that was filled in by doctors or study nurses and subsequently double entered by two independent data entry clerks using a 4<sup>th</sup> Dimension Database 2004.4 © 4D SA, 1985–2006. (Clichy-la-Garenne, France).

Between one and three milliliter venous blood was taken from every child for blood cultures, inoculated into blood culture bottles (Becton Dickinson (BD) BACTEC<sup>TM</sup> PEDS PLUS<sup>TM</sup>/F) and incubated using an automated BACTEC<sup>TM</sup> 9050 Blood Culture System (BD, Franklin Lakes, NJ USA) for five days or until positive. For bacterial identification, all positive blood cultures were examined directly by Gram stain microscopy and subcultured on standard media plates. Identification of the organisms was obtained by biochemical and serological tests. Every child, who grew at least one pathogenic bacterial organism, was considered to be bacteremic. Isolates of non-pathogenic microorganisms or skin flora (e.g. *coagulase-negative Staphylococci*, *Propionibacterium* spp., *Corynebacterium* spp. and *Bacillus* spp. other than *Bacillus anthracis*) were considered to be contaminants. Contaminants were included in the calculation of frequencies, yet excluded from further bacteremia analyses. Susceptibility to penicillin, amoxicillin/ampicillin, amoxiclav (amoxicillin & clavulanic acid), flucloxacillin, cefuroxime, ceftriaxone, erythromycin/azithromycin, cotrimoxazole, ciprofloxacin, gentamicin, tetracycline and chloramphenicol was tested using the Kirby-Bauer disc diffusion method.

Multi-drug resistance of *Salmonella enterica* was defined as simultaneous resistance to amoxicillin, cotrimoxazole and chlor-

amphenicol. *S. enterica* were screened for resistance to fluoroquinolones (FQ) by nalidixic acid disc diffusion following the Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) guidelines of 2011. Nalidixic acid resistant strains were further tested by ciprofloxacin E test.

To assess the nutritional status of the children, we calculated the Z-scores of the anthropometric indices weight-for-age (underweight), weight-for-height (wasting) and height/length-for-age (stunting) using 2006 WHO child growth standards. Cut-off points were Z-scores of  $\pm 2$  as suggested by WHO in 1997.

After physical examination, every child obtained standardized malaria diagnostics, including a thick and a thin smear from capillary blood samples. In case a child was parasitemic and presented with typical clinical signs of malaria, it received national first-line treatment for uncomplicated *Plasmodium falciparum* malaria.

#### Descriptive analysis

Categorical variables were described using frequencies along with percentages. Continuous variables were displayed using the mean, the standard deviation (SD) and the maximum and minimum values. For non-normally distributed variables the median along with the range were reported.

#### Calculation of yearly incidence

The recorded number of bacteremic infections ( $C_i$ ) during the observation period was divided by the number of children below five years living in the hospital catchment area ( $Pop_{<5}$ ), derived from census data of 2004. Absolute numbers of each village were corrected for the proportion of people, who reported that they would access the study hospital in case of illness ( $p$ ). These figures were retrieved from a hospital utilization survey, conducted throughout the hospital catchment area in 2007 (results not shown). The comparison of official hospital admission records with our case records showed that about 50% of hospitalized patients potentially matching the inclusion criteria were recruited. Therefore, the number of identified cases was weighted by the factor 0.5 ( $F_{miss}$ ). To retrieve the annual incidence, the figures were divided by the observation period of 23 months given in months ( $m$ ) and multiplied by 12. Thus, the annual cumulative incidences of bacterial infections were calculated via the equation

$$Incidence = \left( \frac{C_i}{Pop_{<5} \times p \times F_{miss}} \right) \times \frac{12}{m} \quad (1)$$

where

$C_i$  = Recorded number of bacteremic infections

$Pop_{<5}$  = Number of children below five years living in the hospital catchment area

$p$  = Proportion of people reporting they would access the study hospital in case of illness

$F_{miss}$  = Weighting by the factor 0.5 to adjust for missing recruitments

$m$  = Observation period of 23 months.

Since the incidence is based on the proportion of infected children from the total number of children who would seek health care at APH, the corresponding confidence intervals were calculated using the standard error for proportions.

### Analytical procedure

In the analytical part of the study the association of bacteremia with sex, age, parasitemia and anthropometric data (i.e. underweight, wasting, stunting) was estimated on the basis of a case-control design. Controls were all children with a negative blood culture. The crude effects were described using Odds Ratios (ORs) and the corresponding 95% confidence intervals (CIs). A logistic regression model was calculated to show the adjusted effects of the different variables. Model variable selection was done backwards, using likelihood ratio tests and content wise, considered proven association. Only observations without missing data were considered for the regression models in order to be able to conduct the diagnostic tests. The data analysis was carried out using STATA 10 software (College Station, TX: StataCorp LP).

### Results

In total, 1,351 children below five years, admitted to the Children's ward between September 2007 and July 2009, were included in the study. One hundred fifty-five were excluded from the analysis because of missing data on blood cultures, leaving 1,196 hospitalized children. In 116 (9.7%) children, blood culture isolates were considered as contaminants. Pathogens were isolated in 238 (19.9%) cases. In four of these children, two pathogens were detected simultaneously in one culture, leading to a total number of 242 bacterial isolates.

Overall, nontyphoidal salmonellae (NTS) were the predominant bacterial pathogens with 129 (53.3%) isolates in total. *Staphylococcus aureus* constituted the second frequent isolate (13.2%, n = 32), followed by *Streptococcus pneumoniae* (9.1%, n = 22). Seventeen infections (7.0%) were caused by *Salmonella* ser. Typhi. The full list of pathogens is given in Table 1.

One hundred (19.2%) of 521 children aged up to 12 months were bacteremic. Below the age of one month, 23 of 119 children (19.3%) had positive blood cultures. The most frequent isolates found in this subgroup were *S. aureus* (26.1%, n = 6), *Klebsiella* spp. (26.1%, n = 6), *Streptococcus* spp. (other than *S. pneumoniae*) (13.0%, n = 3) and *Escherichia coli* (13.0%, n = 3).

The calculated reference population of children younger than five years was 5,333, which were approximately 20% of the children under five years who were living in the hospital catchment area. The annual cumulative incidence of bacteremia was 46.6 cases/1,000 children (CI 40.9–52.2). The annual cumulative incidence per 1,000 children of the four most frequent isolates was 25.2 (CI 21.1–29.4) for NTS, 6.3 (CI 4.1–8.4) for *S. aureus*, 4.3 (CI 2.5–6.1) for *S. pneumoniae*, and 3.3 (CI 1.8–4.9) for *Salmonella* ser. Typhi (Table 1).

### Outcome of illness at time of discharge

The outcome of bacteremia at the time of discharge was known in 121 (50.6%) children. However, other underlying illnesses that may have contributed to the clinical expression of outcome could not completely be excluded. The case-fatality rate of children with bacteremia was 9.1% (n = 11) and 13.2% (n = 16) were reported to suffer from further on-going disabilities after discharge. Only 4.8% (n = 27) of non-bacteremic cases were fatal and 12.0% (n = 68) presented with prolonged disabilities. Isolates from fatal cases were four NTS, three *S. pneumoniae*, two *Klebsiella* spp., one *Salmonella* ser. Typhi and one *Acinetobacter* spp. The mean age of fatal cases with bacteremia was 15.4 months (SD ± 18.0), which was similar to the mean age of children without bacteremia (13.1 months, SD ± 16.0).

**Table 1.** Frequency and estimated incidence of bacteremia in the hospital catchment area in 1,196 children below five years of age.

Pathogen	Total frequency	Incidence <sup>a</sup>	Age (months) stratified frequencies (%)					
			<1	1–11	12–23	24–35	36–47	48–60
Bacteremic children <sup>b</sup>	238 (19.9)	46.6 (40.9–52.2)	23 (19.3)	76 (18.9)	72 (22.9)	31 (16.9)	24 (23.8)	12 (15.6)
Pathogen isolates (n = 242) <sup>c</sup>								
Nontyphoidal salmonellae	129 (53.3)	25.2 (21.1–29.4)	2 (8.7)	46 (59.7)	45 (62.5)	18 (56.3)	15 (57.7)	3 (25.0)
<i>Staphylococcus aureus</i>	32 (13.2)	6.3 (4.1–8.4)	6 (26.1)	9 (11.7)	10 (13.9)	2 (6.3)	3 (11.5)	2 (16.7)
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	22 (9.1)	4.3 (2.5–6.1)		10 (13.0)	5 (6.9)	3 (9.4)	3 (11.5)	1 (8.3)
<i>Salmonella</i> ser. Typhi	17 (7.0)	3.3 (1.8–4.9)			4 (5.6)	4 (12.5)	4 (15.4)	5 (41.7)
<i>Klebsiella</i> spp.	10 (4.1)		6 (26.1)	2 (2.6)	2 (2.8)			
<i>Streptococcus</i> spp.	9 (3.7)		3 (13.0)	3 (3.9)	1 (1.4)	1 (3.1)	1 (3.8)	
<i>Escherichia coli</i>	8 (3.3)		3 (13.0)	1 (1.3)	1 (1.4)	2 (6.3)		1 (8.3)
<i>Acinetobacter</i> spp.	4 (1.6)		1 (4.3)	1 (1.3)	1 (1.4)	1 (3.1)		
<i>Pseudomonas</i> spp.	2 (0.8)			1 (1.3)		1 (3.1)		
<i>Haemophilus</i> spp.	1 (0.4)			1 (1.3)				
<i>Aeromonas hydrophila</i>	1 (0.4)		1 (4.3)					
<i>Morganella morganii</i>	1 (0.4)				1 (1.4)			
<i>Enterococcus</i> spp.	1 (0.4)			1 (1.3)				
<i>Pantoea</i> spp.	1 (0.4)		1 (4.3)					
Other bacteria	4 (1.6)			2 (2.6)	2 (2.8)			

<sup>a</sup>Yearly cumulative incidence per 1,000.

<sup>b</sup>Isolates considered as contaminants: n = 116 (9.7%).

<sup>c</sup>Double infections in 4 children: NTS/*S. pneumoniae*, NTS/*S. aureus*, *Salmonella* ser. Typhi/*Streptococcus* spp., *S. aureus*/*S. pneumoniae*.

doi:10.1371/journal.pone.0044063.t001

### Susceptibility to antimicrobials

According to interviews with the guardians, 679 (65.6%) children received paracetamol, 237 (23.9%) antimalarials, and 223 (25.9%) antihelminths before seeking help at APH. Altogether, 1,044 (95.3%) children received any kind of oral medication prior to hospitalization. Only 68 (9.4%) of the guardians could report specific antimicrobial treatment. Forty-seven (69.1%) used amoxicillin, five (7.4%) cefuroxime/ceftriaxone, four (5.9%) flucloxacillin, four (5.9%) cloxacillin, two (2.9%) erythromycin and 6 (8.8%) metronidazole, cotrimoxazole, chloramphenicol or ampicillin/gentamicin.

Susceptibility of the four most frequent isolated organisms to antimicrobial drugs is listed in Table 2. The best coverage for all four organisms was achieved by using ceftriaxone, to which all NTS, *S. pneumoniae* and *Salmonella* ser. Typhi isolates were susceptible. Similar coverage was seen for ciprofloxacin with a 100%-susceptibility in *Salmonella* ser. Typhi and NTS. However, two NTS isolates tested resistant to nalidixic acid by disc diffusion and showed intermediate level of resistance by ciprofloxacin E-test. Only 12 (57.1%) and 21 (67.7%) of the *S. pneumoniae* and *S. aureus* isolates were susceptible to ciprofloxacin, respectively. MDR (i.e. resistance against amoxicillin, chloramphenicol and cotrimoxazole) was observed in 75 (77.0%) of NTS and 11 (65%) of *Salmonella* ser. Typhi isolates.

### Association of anthropometrical parameters with bacteremia and systemic NTS infection

The proportion of female (53.8%) and male (46.2%) children in the study population was similar. The age pattern was left skewed (median 14 months). Five hundred twenty-one (43.6%) children were younger than one year, and 119 (9.9%) were younger than one month. The frequency of children being underweight, wasted or stunted was 267 (26.3%), 172 (24.8%) and 146 (20.9%), respectively. Two hundred and four (29.5%) children with

complete malaria diagnostics were diagnosed with *Plasmodium falciparum* parasitemia.

In a case-control study, the association of six parameters (sex, age, parasitemia, underweight, wasting, and stunting) with bacteremia and, specifically, NTS bacteremia were analyzed (Table 3). Other isolates were not considered due to small case numbers. In the crude analysis, no associations between bacteremia and sex or age were observed. Bacterial infection rates in females and males were similar (OR = 1.0, CI = 0.8–1.4). The median age for cases (bacteremia) and controls (no bacteremia) was 13 vs. 14 months, respectively. The total frequency of hospitalized children with bacteremia decreased with age. Stratified for age, the proportion of positive blood cultures undulated around 20% (range = 15.6%–23.8%), whereas the proportion of contaminated samples decreased with age.

The frequency of NTS infections differed between the age groups. The highest risk of NTS infection was observed in the age groups six to eleven (OR = 4.2, CI = 1.9–9.4) and 12 to 23 months (OR = 4.4, CI = 2.0–9.5) in which 13.8% (n = 30) and 14.3% (n = 45) of the children had infections with NTS. In the age group zero to five months, only 5.9% (n = 18) of the blood cultures were positive for NTS. Again, there was no association between NTS infection and sex (OR 1.0, CI 0.7–1.5).

Parameters for underweight and wasting, indicators for acute malnutrition, were associated with bacteremia (OR = 1.8, CI = 1.3–2.5 and OR = 1.9, CI = 1.2–2.8, respectively). Similar patterns were shown for the NTS group (OR = 1.6, CI = 1.1–2.5 and OR = 2.0, CI = 1.2–3.4, respectively). Stunting, an anthropometrical parameter to describe chronic malnutrition, did not show any association. No association among parasitemia and bacteremia nor parasitemia and NTS was observed (Table 3).

Logistic regression models were generated to describe the adjusted associations with bacteremia and NTS. Finally, 695 (58.1%) of observations could be used for logistic regression. In the crude analysis, underweight and wasting were associated with the

**Table 2.** Frequency and proportion of susceptibility of the four most frequent isolated pathogens to antibiotics and MDR<sup>a</sup>.

	NTS (n = 129)		<i>S. aureus</i> (n = 32)		<i>S. pneumoniae</i> (n = 22)		<i>Salmonella</i> ser. Typhi (n = 17)	
	Susceptible	%	Susceptible	%	Susceptible	%	Susceptible	%
Penicillin	-	-	15/31	48	16/21 <sup>a</sup>	76	-	-
Amoxicillin/Ampicillin	18/123	15	-	-	17/22 <sup>a</sup>	77	6/17	35
Amoxicillin-Clavulanate	28/114	25	-	-	-	-	10/14	71
Flucloxacillin	-	-	25/30	83	-	-	-	-
Cefuroxime	-	-	-	-	6/6	100	-	-
Ceftriaxone	108/108	100	-	-	17/17	100	17/17	100
Erythromycin/Azithromycin	-	-	21/31	68	20/20	100	-	-
Cotrimoxazole	22/98	22	13/24	54	1/20	5	5/17	29
Ciprofloxacin	127/127	100	21/31	68	12/21	57	17/17	100
Nalidixic Acid	125/127	98 <sup>b</sup>	-	-	-	-	17/17	100
Gentamicin	-	-	22/31	71	5/20	25	-	-
Tetracycline	83/91	91	8/21	35	5/19	26	7/16	44
Chloramphenicol	22/127	17	2/31	6	15/20	75	5/17	29
MDR <sup>c</sup>	75/98	77	-	-	-	-	11/17	65

<sup>a</sup>One strain showed discrepant susceptibility results to penicillin and to amoxicillin/ampicillin and was excluded because the strain was not available for further analyses.

<sup>b</sup>Two strains tested resistant to nalidixic acid by disc diffusion and showed intermediate level of resistance to ciprofloxacin by the E test method.

<sup>c</sup>MDR (multi drug resistance; resistance to amoxicillin, cotrimoxazole and chloramphenicol) among nontyphoidal salmonellae (NTS) and *Salmonella* ser. Typhi.

doi:10.1371/journal.pone.0044063.t002

**Table 3.** Crude associations of anthropometrical parameters and parasitemia with bacteremia in children below five years of age in Ghana<sup>a</sup>.

		Bacteremia		
		No	Yes (%)	OR (CI) <sup>b</sup>
Sex (n = 1,196)	Female	517	126 (19.6)	1
	Male	441	112 (20.3)	1.0 (0.8–1.4)
Age (n = 1,196)	<3 months	179	39 (17.9)	1
	3–5 months	69	17 (19.8)	1.1 (0.6–2.1)
	6–11 months	174	43 (19.8)	1.1 (0.7–1.8)
	12–23 months	242	72 (22.9)	1.4 (0.9–2.1)
	24–60 months	294	67 (18.6)	1.0 (0.7–1.6)
Parasitemia (n = 691)	No	388	99 (20.3)	1
	Yes	174	30 (14.7)	0.7 (0.4–1.1)
Underweight (n = 1,015)	No	625	123 (16.4)	1
	Yes	197	70 (26.2)	1.8 (1.3–2.5)
Wasting (n = 695)	No	440	83 (15.9)	1
	Yes	127	45 (26.2)	1.9 (1.2–2.8)
Stunting (n = 700)	No	457	97 (17.5)	1
	Yes	115	31 (21.2)	1.3 (0.8–2.0)

<sup>a</sup>Cases with missing data for respective parameters were excluded from the analysis.

<sup>b</sup>OR (CI), Odds Ratio (95% confidence interval).

doi:10.1371/journal.pone.0044063.t003

outcome variable. Yet both conditions were constructed via Z-scores, which are based on children's weight, leading to autocorrelation (OR = 24.6, CI = 15.5–39.3). Since wasting is most important for clinical diagnosis, underweight was not considered for the regression models.

Older age categories had higher odds for infection compared to the youngest age group (<3 months), and children being wasted were more likely to carry bacterial infections (Table 4). Likewise for NTS, the adjustment through regression did not change the results of the crude analysis substantially. High odds ratios for the above-mentioned age categories were shown and wasting remained associated within the regression model.

## Discussion

Bacterial bloodstream infections were detected in one-fifth of hospitalized children leading to an estimated yearly incidence of 46.6/1,000. This result underlines the relevance of bacterial infections as differential diagnosis of severe febrile illness in malaria endemic areas. Our estimated incidences were five to ten times higher than incidence estimates from other parts of sub-Saharan Africa. A study from Kenya on community-acquired bacteremia in children used the total age population of the catchment area to obtain what the authors described as “minimal incidence estimates” [12]. In contrast, we acquired data on health-seeking behavior from a community survey, which was performed in the study area, and accordingly adapted the denominators for our incidence estimates on the village level only including the population proportion of each village that reported to seek health care at our study hospital. The prevalences of bacteremic children in Kenya [13], Mozambique [14] and Tanzania [3,15], who were admitted to the hospital with either febrile illness or signs of severe malaria, were reported in the range between 5.8% and 9.4%,

**Table 4.** Adjusted associations of anthropometrical parameters and parasitemia with bacteremia in children below five years of age in Ghana.

		Bacteremia	
		OR (CI) <sup>a</sup>	
Age	<3 months	1	
	3–5 months	1.8 (0.7–4.3)	
	6–11 months	1.5 (0.7–3.1)	
	12–23 months	1.9 (0.9–3.7)	
	24–60 months	1.8 (0.9–3.6)	
Wasting	No	1	
	Yes	2.0 (1.3–3.0)	

<sup>a</sup>OR (CI), Odds Ratio (95% confidence interval).

doi:10.1371/journal.pone.0044063.t004

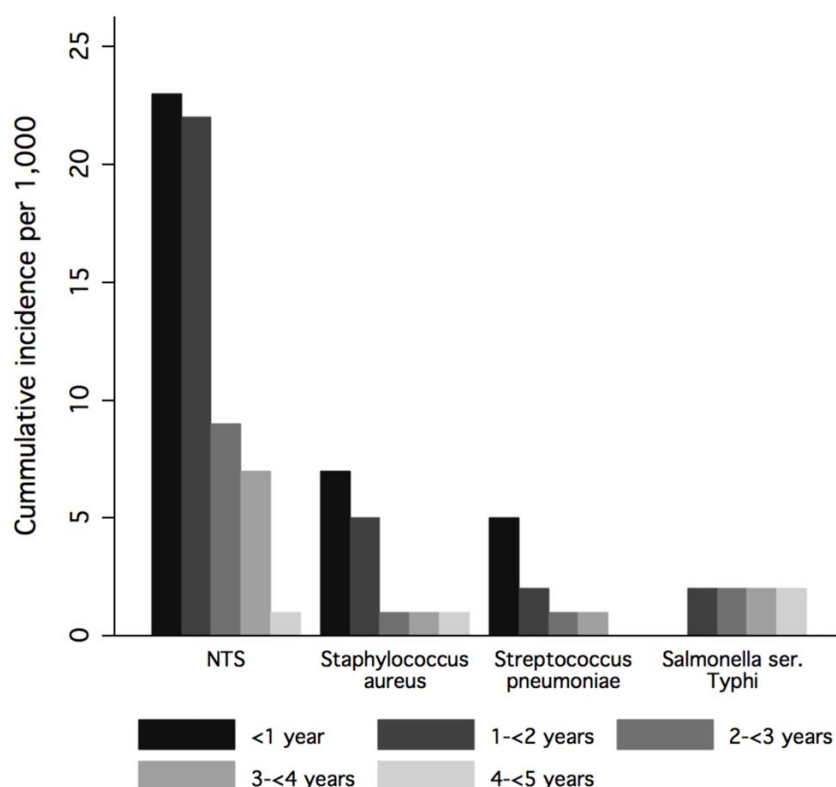
which was two to four times lower when compared to our findings. Stratified for plasmodium parasitemia, the prevalence of bacteremia in non-parasitemic children increased to 18% in Kenya and 16.7% in Tanzania compared to prevalences in parasitemic children, ranging between 4.6% and 6.2%. Considering the malaria prevalence on admission in these regions, being with more than 60% twice as high than at APH (13.8%–30.6% [16]), the reason for higher proportions of children with bacteremia at APH might be the lower prevalence of malaria as important differential diagnosis in these children with severe illness.

High total yearly incidences of bacteremia and especially invasive NTS infection demonstrate the impact of septicemia on children's morbidity in this area. This confirms results from Kumasi (2004) showing similarly high proportions of 20.3% bacteremia in children with signs of severe malaria [4]. Reasons, in particular for the high NTS infection rates, yet, remain unclear and deserve further investigation.

In our setting, NTS accounted for more than half of invasive bacterial infections (53.1%) in children below the age of five years, and NTS infection was positively associated with clinical malnutrition (i.e. wasting; OR = 1.9, CI = 1.2–3.4) and age above three months when compared to younger children. Similarly, high infection rates for NTS were found in Tanzania [15] reporting 52% NTS in malaria slide positive children. Bacteremia in general did not show this distinct age trend. In the NTS group, highest levels of infection were reached in infants after time of breast-feeding, possibly marking the onset of intake of contaminated weaning food and water [17,18].

Poor socio-economic status and chronic malnutrition could impair the immune response and predispose to invasive infection with NTS. In the latter case, however, one would expect an association with stunting (OR = 1.2, CI = 0.6–2.2), a parameter for chronic malnutrition.

*S. aureus* was the second most frequent isolate in our study. More than three quarters (78.1%) of all *S. aureus* isolates were found in children below two years of age, nearly half of them in infants under one year of age (46.9%) (Figure 1). This age distribution is typical for *S. aureus* in sub-Saharan Africa [19,20]. The fact that this pathogen often affects young children and neonates makes it particularly dangerous, especially if isolates are methicillin resistant. Antibiotic susceptibility testing revealed that already 17% of our isolates showed resistance to methicillin. None of the antibiotics tested were effective against all *S. aureus* isolates.



**Figure 1. Incidence of isolates (nontyphoidal salmonella (NTS), *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae*, *Salmonella ser. Typhi*) stratified by age.**

doi:10.1371/journal.pone.0044063.g001

Data from Kenya [12] and The Gambia [21] found a predominance of *S. pneumoniae* in children. Indeed, *S. pneumoniae* was estimated to be the leading bacterial cause of death in young children worldwide in the year 2000 [22] and was described in a recent meta-analysis as the most common isolate in children of community-acquired bloodstream infections in African countries [23]. In our study group, *S. pneumoniae* accounted for 9.1% of the identified pathogens. Previously, only one (2%) *S. pneumoniae* case was detected in another study carried out in Kumasi in 2004 [4]. The authors explained the low isolation rate with laboratory difficulties and previous antimicrobial self-medication of the patients. Other studies from Kumasi [24] and Accra [25] underlined the importance of invasive pediatric disease with *S. pneumoniae* in Ghana and advocated the importance of adjusted vaccination.

*Salmonella ser. Typhi* accounted for 7.1% of all isolated pathogens and thus fell under the four most important bacterial pathogens in children with systemic bacterial infection. This outcome is nearly congruent with earlier published results [26]. Typhoid fever vaccinations are available, however, they are not routinely used in sub-Saharan Africa but under consideration and regarded to be potentially cost-effective [27].

The only *Haemophilus influenzae* isolate in our study was found in a two months old boy that had only received BCG immunization until the onset of disease. The low incidence of *H. influenzae*, known to be the cause of pneumonia, meningitis and epiglottitis, especially in children below the age of three years [28], might reflect the success of vaccination programs.

Antibiotic resistance is an increasing problem in Ghana [29,30] and in other African countries [31] and often causes fatal outcomes [32]. This study has shown that MDR is very high in respective groups of bacteria but all NTS strains were still sensitive to ceftriaxone. Two NTS isolates (1.6%) were resistant to nalidixic acid and showed intermediate levels of resistance to ciprofloxacin. This might be first indication that resistance to FQ could become more important in the future in Ghana. The methods used for the detection of drug resistances followed the CLSI guidelines valid in 2011, and nalidixic acid was used as the screening method for the detection of FQ resistance. To note, in the new guidelines from 2012, it is recommended to use the ciprofloxacin E-test, as FQ resistance may be missed by exclusive nalidixic acid testing.

Due to relatively low susceptibility of *S. pneumoniae* (57%) to ciprofloxacin, this drug should be used cautiously as calculated antimicrobial therapy in children with clinical evidence of pneumococcal infections. In addition, recent data from Ghana underlines that sepsis with NTS should be considered in children with respiratory symptoms. NTS were the predominant organisms isolated from children with clinical pneumonia and significantly more frequent than *S. pneumoniae* [33]. In this case, ceftriaxone may be an alternative, as it fully covers NTS, *Salmonella ser. Typhi* and *S. pneumoniae*. The exclusive intravenous use of ceftriaxone may be limiting under resource-poor conditions, but otherwise protects from uncontrolled intake and the development of resistance. A recent study carried out in Mozambique in 2010 similarly suggests that quinolones (e.g. ciprofloxacin) and third generation cephalosporins (e.g. ceftriaxone) may be required to manage community-

acquired infections [34]. However, from other regions of the world, resistance of NTS to ceftriaxone has already been reported, which might be a consequence of widespread use of ceftriaxone [35] as a first line-drug treatment.

Routine antimicrobial treatment in children with signs of severe malaria has been discussed controversially [36,37]. Yet a clear association between malaria and bacteremia has not been proven [37]. In opposite to findings from The Gambia, which suggest an association between malaria and NTS by comparing temporal trends [38], NTS infection and *P. falciparum* parasitemia did not reveal any positive association in our setting. However, children caught in the vicious circle of poor socio-economic status, malnutrition and a tendency to develop systemic infection due to weak immune response may have both, a higher risk of severe malaria and of complicating bacterial co-infection.

Blood sampling in infants and young children is particularly difficult, and the amount of blood that can be sampled tends to be lower than required. Small volumes of inoculated blood and the use of antimicrobial treatment previous to blood sampling may compromise blood culture sensitivity and antimicrobial susceptibility testing. Technical difficulties are reflected in the decreasing frequency of contaminants with age. Thus we have to assume that there is a tendency to underestimate the burden of systemic bacterial infections in small children. Furthermore, by considering all children with non-pathogenic cultural isolates as negative, some true cases of sepsis might have been missed. Since the study was embedded into clinical routine, random loss of data on different operational levels occurred. The heterogeneous pattern of patients with missing data makes a significant selection bias unlikely. Reasons were e.g. technical difficulties and admissions at night resulting in missed documentation of clinical outcome and anthropometrical parameters.

## References

1. UNICEF: The state of the world's children (2004) Available: [http://www.unicef.org/publications/2004\\_OfficialSumm\\_ENG.pdf](http://www.unicef.org/publications/2004_OfficialSumm_ENG.pdf). Accessed 2004 Nov 18.
2. Petti CA, Polage CR, Quinn TC, Ronald AR, Sande MA (2006) Laboratory medicine in Africa: a barrier to effective health care. *Clin Infect Dis* 42: 377–382.
3. Crump JA, Ramadhani HO, Morrissey AB, Msuya LJ, Yang LY, et al. (2011) Invasive bacterial and fungal infections among hospitalized HIV-infected and HIV-uninfected children and infants in northern Tanzania. *Trop Med Int Health* 16: 830–837.
4. Evans JA, Aducci A, Timmann C, May J, Mack D, et al. (2004) High mortality of infant bacteraemia clinically indistinguishable from severe malaria. *QJM* 97: 591–597.
5. Ilic K, Jakovljevic E, Skodric-Trifunovic V (2012) Social-economic factors and irrational antibiotic use as reasons for antibiotic resistance of bacteria causing common childhood infections in primary healthcare. *Eur J Pediatr* 171: 767–77.
6. WHO: Agogo Presbyterian Hospital, Ghana (2011) Available: [http://www.who.int/buruli/events/agogo\\_hospital/en/index.html](http://www.who.int/buruli/events/agogo_hospital/en/index.html). Accessed 2012 July 10.
7. Ghana. Cities & Urban Localities. Census Data of the year 2000 (2011) Available: <http://www.citypopulation.de/Ghana-Cities.html>. Accessed 2012 July 10.
8. WHO: World malaria report 2009 (2009) Available: [http://www.who.int/malaria/publications/country-profiles/profile\\_gha\\_en.pdf](http://www.who.int/malaria/publications/country-profiles/profile_gha_en.pdf). Accessed 2011 March 21.
9. Sarpong N, Loag W, Fobil J, Meyer CG, Adu-Sarkodie Y, et al. (2010) National health insurance coverage and socio-economic status in a rural district of Ghana. *Trop Med Int Health* 15: 191–197.
10. CIA: CIA factbook 2012 (2012) Available: <https://www.cia.gov/library/publications/the-world-factbook/geos/gh.html>. Accessed 2012 June 17.
11. Renner LA, Newman MJ, Ahadzic L, Antwi-Agyei KO, Eshetu M (2007) Introduction of *Haemophilus influenzae* type B conjugate vaccine into routine immunization in Ghana and its impact on bacterial meningitis in children younger than five years. *Pediatr Infect Dis J* 26: 356–358.
12. Berkley JA, Lowe BS, Mwangi I, Williams T, Bauni E, et al. (2005) Bacteremia among children admitted to a rural hospital in Kenya. *N Engl J Med* 352: 39–47.
13. Berkley JA, Bejon P, Mwangi T, Gwer S, Maitland K, et al. (2009) HIV infection, malnutrition, and invasive bacterial infection among children with severe malaria. *Clin Infect Dis* 49: 336–343.

## Conclusion

Community-acquired bacteremia is an important differential diagnosis of malaria in Ghanaian children below the age of five and is closely linked to age and nutritional status of the child. If microbiological diagnostics are lacking, preventive antimicrobial treatment of severely ill children in malaria-endemic areas should be considered, particularly in children presenting with clinical signs of malnutrition. The data emphasizes the need for implementation of food and water sanitation besides the establishment of laboratory facilities for diagnostic testing. Moreover, it underlines the necessity of focusing research on child health programs as well as on vaccination against predominant organisms of systemic bacterial infections in African children.

## Acknowledgments

We thank all patients and their parents of APH, who consented to participate, and hospital staff for their support. We especially acknowledge those, who personally contributed to a successful implementation and execution of the study, additional to clinical routine work. We are also grateful for the continuous endeavors of the field workers of the Kumasi Center for Collaborative Research (KCCR) and affiliated contributors, without whose efforts this research would not have been possible. This work is part of the doctoral thesis of MVN.

## Author Contributions

Conceived and designed the experiments: JM YAS MVN. Performed the experiments: MVN DD SA AA FH. Analyzed the data: MVN NGS WL ACK RK. Contributed reagents/materials/analysis tools: RMH FH JM YAS NS. Wrote the paper: MVN RK NGS JM. Financially supported the study: FM. Critically reviewed the manuscript: FH RH FM AA ACK SA.

14. Sigauque B, Roca A, Mandomando I, Morais L, Quinto L, et al. (2009) Community-acquired bacteremia among children admitted to a rural hospital in Mozambique. *Pediatr Infect Dis J* 28: 108–113.
15. Nadjim B, Amos B, Mtowe G, Ostermann J, Chonya S, et al. (2010) WHO guidelines for antimicrobial treatment in children admitted to hospital in an area of intense *Plasmodium falciparum* transmission: prospective study. *BMJ* 340: c1350.
16. Vinnemeier CD, Schwarz NG, Sarpong N, Loag W, Acquah S, et al. (2012) Predictive value of fever and palmar pallor for *P. falciparum* parasitaemia in children from an endemic area. *PLoS One* 7: e36678.
17. Motarjemi Y, Kaferstein F, Moy G, Quevedo F (1993) Contaminated weaning food: a major risk factor for diarrhoea and associated malnutrition. *Bull World Health Organ* 71: 79–92.
18. Motarjemi Y, Kaferstein F, Moy G, Quevedo F (1994) Contaminated food, a hazard for the very young. *World Health Forum* 15: 69–71.
19. Ladhani S, Konana OS, Mwarumba S, English MC (2004) Bacteraemia due to *Staphylococcus aureus*. *Arch Dis Child* 89: 568–571.
20. Meremikwu MM, Nwachukwu CE, Asuquo AE, Okebe JU, Utsalo SJ (2005) Bacterial isolates from blood cultures of children with suspected septicemia in Calabar, Nigeria. *BMC Infect Dis* 5: 110.
21. Hill PC, Onyeama CO, Ikumapayi UN, Secka O, Ameyaw S, et al. (2007) Bacteraemia in patients admitted to an urban hospital in West Africa. *BMC Infect Dis* 7: 2.
22. O'Brien KL, Wolfson LJ, Watt JP, Henkle E, Deloria-Knoll M, et al. (2009) Burden of disease caused by *Streptococcus pneumoniae* in children younger than 5 years: global estimates. *Lancet* 374: 893–902.
23. Reddy EA, Shaw AV, Crump JA (2010) Community-acquired bloodstream infections in Africa: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Infect Dis* 10: 417–432.
24. Holliman RE, Liddy H, Johnson JD, Adjei O (2007) Epidemiology of invasive pneumococcal disease in Kumasi, Ghana. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 101: 405–413.
25. Donkor ES, Newman MJ, Oliver-Commey J, Bannerman E, Dayie NT, et al. (2010) Invasive disease and paediatric carriage of *Streptococcus pneumoniae* in Ghana. *Scand J Infect Dis* 42: 254–259.
26. Marks F, Adu-Sarkodie Y, Hunger F, Sarpong N, Ekuban S, et al. (2010) Typhoid fever among children, Ghana. *Emerg Infect Dis* 16: 1796–1797.
27. Cook J, Jeuland M, Whittington D, Poulos C, Clemens J, et al. (2008) The cost-effectiveness of typhoid Vi vaccination programs: calculations for four urban sites in four Asian countries. *Vaccine* 26: 6305–6316.



28. Commey JO, Rodrigues OP, Akita FA, Newman M (1994) Bacterial meningitis in children in southern Ghana. *East Afr Med J* 71: 113–117.
29. Mills-Robertson F, Crupper SS, Addy ME, Mensah P (2003) Antibiotic resistance and genotyping of clinical group B *Salmonella* isolated in Accra, Ghana. *J Appl Microbiol* 94: 289–294.
30. Wilkens J, Newman MJ, Commey JO, Seifert H (1997) *Salmonella* bloodstream infection in Ghanaian children. *Clin Microbiol Infect* 3: 616–620.
31. Bejon P, Mwangi I, Ngetsa C, Mwarumba S, Berkley JA, et al. (2005) Invasive Gram-negative bacilli are frequently resistant to standard antibiotics for children admitted to hospital in Kilifi, Kenya. *J Antimicrob Chemother* 56: 232–235.
32. Blomberg B, Manji KP, Urassa WK, Tamim BS, Mwakagile DS, et al. (2007) Antimicrobial resistance predicts death in Tanzanian children with bloodstream infections: a prospective cohort study. *BMC Infect Dis* 7: 43.
33. Schwarz NG, Sarpong N, Hunger F, Marks F, Acquah SE, et al. (2010) Systemic bacteraemia in children presenting with clinical pneumonia and the impact of non-typhoid *Salmonella* (NTS). *BMC Infect Dis* 10: 319.
34. Mandomando I, Sigauque B, Morais L, Espasa M, Valles X, et al. (2010) Antimicrobial drug resistance trends of bacteremia isolates in a rural hospital in southern Mozambique. *Am J Trop Med Hyg* 83: 152–157.
35. Parry CM, Threlfall EJ (2008) Antimicrobial resistance in typhoidal and nontyphoidal salmonellae. *Curr Opin Infect Dis* 21: 531–538.
36. Enwere G, Van Hensbroek MB, Adegbola R, Palmer A, Onyiora E, et al. (1998) Bacteraemia in cerebral malaria. *Ann Trop Paediatr* 18: 275–278.
37. Berkley J, Mwarumba S, Bramham K, Lowe B, Marsh K (1999) Bacteraemia complicating severe malaria in children. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 93: 283–286.
38. Mackenzie G, Ceesay SJ, Hill PC, Walther M, Bojang KA, et al. (2010) A decline in the incidence of invasive non-typhoidal *Salmonella* infection in The Gambia temporally associated with a decline in malaria infection. *PLoS One* 5: e10568.

## **Kapitel 4**

Nielsen MV, Amemasor S, Agyekum A, Loag W, Marks F, Sarpong N, Dekker D,  
Adu-Sarkodie Y, May J.

### **Clinical Indicators for Bacterial Co-Infection in Ghanaian Children with *P. falciparum* Infection**

PLoS One. **2015**; 10(4):e022139.

RESEARCH ARTICLE

# Clinical Indicators for Bacterial Co-Infection in Ghanaian Children with *P. falciparum* Infection

Maja Verena Nielsen<sup>1\*</sup>, Solomon Amemason<sup>2</sup>, Alex Agyekum<sup>2</sup>, Wibke Loag<sup>1,2</sup>, Florian Marks<sup>4</sup>, Nimako Sarpong<sup>2,5</sup>, Denise Dekker<sup>1</sup>, Yaw Adu-Sarkodie<sup>3</sup>, Jürgen May<sup>1,5</sup>

**1** Bernhard Nocht Institute for Tropical Medicine, Infectious Disease Epidemiology, Hamburg, Germany, **2** Kumasi Centre for Collaborative Research in Tropical Medicine, Kumasi, Ghana, **3** Kwame Nkrumah University of Science and Technology, School of Medical Sciences, Kumasi, Ghana, **4** International Vaccine Institute, Seoul, South Korea, **5** German Center for Infection Research (DZIF), partner site Hamburg-Borstel-Lübeck, Hamburg, Germany

\* [maja.v.nielsen@googlemail.com](mailto:maja.v.nielsen@googlemail.com)



 OPEN ACCESS

**Citation:** Nielsen MV, Amemason S, Agyekum A, Loag W, Marks F, Sarpong N, et al. (2015) Clinical Indicators for Bacterial Co-Infection in Ghanaian Children with *P. falciparum* Infection. PLoS ONE 10 (4): e0122139. doi:10.1371/journal.pone.0122139

**Academic Editor:** Adrian J.F. Luty, Institut de Recherche pour le Développement, FRANCE

**Received:** July 31, 2014

**Accepted:** February 16, 2015

**Published:** April 9, 2015

**Copyright:** © 2015 Nielsen et al. This is an open access article distributed under the terms of the [Creative Commons Attribution License](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.

**Data Availability Statement:** All relevant data are within the paper and its Supporting Information files.

**Funding:** This study was funded by a Swiss Foundation and the International Vaccine Institute, Seoul, South Korea. The funders had no role in study design, data collection and analysis, decision to publish, or preparation of the manuscript.

**Competing Interests:** The authors have declared that no competing interests exist.

## Abstract

Differentiation of infectious causes in severely ill children is essential but challenging in sub-Saharan Africa. The aim of the study was to determine clinical indicators that are able to identify bacterial co-infections in *P. falciparum* infected children in rural Ghana. In total, 1,915 severely ill children below the age of 15 years were recruited at Agogo Presbyterian Hospital in Ghana between May 2007 and February 2011. In 771 (40%) of the children malaria parasites were detected. This group was analyzed for indicators of bacterial co-infections using bivariate and multivariate regression analyses with 24 socio-economic variables, 16 terms describing medical history and anthropometrical information and 68 variables describing clinical symptoms. The variables were tested for sensitivity, specificity, positive predictive value and negative predictive value. In 46 (6.0%) of the children with malaria infection, bacterial co-infection was detected. The most frequent pathogens were non-typhoid salmonellae (45.7%), followed by *Streptococcus* spp. (13.0%). Coughing, dehydration, splenomegaly, severe anemia and leukocytosis were positively associated with bacteremia. Domestic hygiene and exclusive breastfeeding is negatively associated with bacteremia. In cases of high parasitemia (>10,000/μl), a significant association with bacteremia was found for splenomegaly (OR 8.8; CI 1.6–48.9), dehydration (OR 18.2; CI 2.0–166.0) and coughing (OR 9.0; CI 0.7–118.6). In children with low parasitemia, associations with bacteremia were found for vomiting (OR 4.7; CI 1.4–15.8), severe anemia (OR 3.3; CI 1.0–11.1) and leukocytosis (OR 6.8 CI 1.9–24.2). Clinical signs of impaired microcirculation were negatively associated with bacteremia. Ceftriaxone achieved best coverage of isolated pathogens. The results demonstrate the limitation of clinical symptoms to determine bacterial co-infections in *P. falciparum* infected children. Best clinical indicators are dependent on the parasitemia level. Even with a moderate sensitivity of >60%, only low positive predictive values can be obtained due to low prevalence of bacteremia. Rapid testing for distinguishing parasitemia and bacteremia is essential.

## Background

Differentiation of infectious causes of febrile illnesses in children presenting to hospitals in rural sub-Saharan areas is a challenge for clinicians, in particular in co-infections [1,2]. Due to an immature immune system, especially children tend to react with increasing body temperatures to various infectious agents. The synonymously use of *fever* and *malaria* is common in the general public and also plays an important role as presumptive diagnosis of clinicians.

Reasons for misdiagnosis can partly be accredited to overlapping clinical symptoms of malaria and acute bacterial infections as well as lacking diagnostic tools [3]. Deficient education of laboratory staff complicates the diagnostic process [4].

Recent studies evaluating WHO guidelines for antimicrobial treatment in children admitted to the hospital in an area of intense *Plasmodium falciparum* transmission reveals that guidelines failed to identify almost a third of bacteremic children [1].

According to WHO publication of 2011, Ghana is considered to be a high transmission area ( $\geq 1$  case per 1,000 inhabitants) for Malaria, which might contribute to demonstrable frequent misinterpretation of acute systemic bacterial infection for malaria resulting in inadequate treatment of bacteremia [5]. Recent data of settings with microscopy-based malaria diagnostics suggests that interpretation of parasite slides often generates false positive results, accounting for over-diagnosis of malaria [6]. Especially in the case of co-infection, bacteremia tends to be missed after detection of parasites.

However, previous investigation of the study site revealed a surprisingly high percentage of almost 20% bacteremic children below the age of five years who were hospitalized due to severe non-traumatic illness [7]. These results underline the need of a focused investigation of bacteremia in high transmission areas of malaria and respective patterns of clinical occurrence in case of co-infection.

We report the results of a hospital-based study on severe illness of children, describing a population exposed to intense *P. falciparum* transmission. Our aim is to present clinical signs and symptoms of children, which could help to clinically identify bacterial co-infections in malaria slide positive children below 15 years of age in rural Ghana and which could complement information to current guidelines.

## Methods

Children were recruited at the Child Welfare Clinic of the Agogo Presbyterian Hospital (APH), a local teaching hospital in the Ashanti Region, Ghana, between May 2007 and February 2011 (46 months). The hospital catchment area encompasses approximately 149,500 people [8], with more than 28,000 inhabitants living in the town Agogo [9]. The area is holoendemic for malaria with reported transmission rates of  $>100$  per 1,000 inhabitants in 2008 [10]. Predominating species is *P. falciparum*, contributing to 92.4% of malarial infections [11] with two seasonal peaks [12].

In the study area, bacterial blood stream infections are responsible for one-fifth of hospital admissions in severely ill children below 5 years of age. Non-typhoidal salmonellae (NTS) contribute to more than half of infections (53.3%), leading to a cumulative incidence of 25.2 (CI 21.1–29.4) per 1,000 per year [7]. A National Health Insurance Scheme (NHIS) was officially launched in March 2004, covering 38% of the district population in 2009 [13]. The HIV prevalence was 1.8% for the adult Ghanaian population in 2009 [14]. In 2001, *Haemophilus influenzae* type B conjugate vaccine was introduced in the immunization schedule for children [15]. At the time of investigation, no routine pneumococcal vaccination was available, which was introduced in the national immunization program of Ghana in April 2012.

First-line treatment for severe malaria was parenteral quinine followed by oral administration. Antibiotics were not routinely used in treatment of all children admitted for malaria unless sepsis was also suspected on the basis of clinical parameters, in which case ceftriaxone, gentamicin plus ampicillin for pneumonia, or co-amoxiclav/cloxacillin plus metronidazole for sepsis resulting from abscess, or other combinations were used as first line treatments, with ceftriaxone as the main first choice in doubtful cases. Modifications or additions of the antibiotic regimen were made based on the clinical scenarios and results of bacteriologic culture and sensitivity testing.

## Recruitment

All patients below the age of 15 years who required admission because of severe illness were recruited. Exclusion criteria were defined as obvious non-infectious cause for admission, such as trauma, elective surgery, congenital abnormalities and exclusive dermatological cases.

Aims and principles of the study were explained in detail to participants and informed consent was given by signature or thumb print by the caregiver. Ethical approval for the study was obtained from the Committee on Human Research, Publications, and Ethics, School of Medical Science, Kwame Nkrumah University of Science and Technology (KNUST), Kumasi, Ghana.

## Clinical and laboratory data collection

Data collection was entirely embedded into the clinical routine. On admission of children, history and clinical data was recorded on standardized charts containing a 4-paged admission sheet, including a registration form and a 3-paged clinical recruitment chart. The set of clinical information contained WHO diagnostic criteria for septicemia in children and sepsis criteria of the international pediatric sepsis conference [16,17].

Socio-economic data such as educational background, financial situation and everyday life (e.g. housing, cooking, religion, health precautions) of the patient's family was assessed by interviewing a parent or the guardian with a structured questionnaire in English or the local language, Twi.

Standardized malaria parasite diagnosis was performed for each patient on admission, including thick and thin smears from capillary blood samples, described elsewhere (2).

1ml blood for aerobic and anaerobic blood cultures was taken at the children's ward through phlebotomy after alcoholic skin disinfection. The blood was inoculated into Becton Dickinson (BD) BACTEC PEDS PLUS/F bottles containing 20 ml of enriched broth with resin using a separate needle to pierce the rubber lid of the bottle after it had been cleaned with 70% Ethanol and allowed to dry. Bottles were incubated in a BD BACTEC 9050 Blood Culture system (BD Diagnostics, Sparks, Massachusetts, USA) [8]. Every positive vial flagged by the system was subcultured on standard media for species differentiation. Broth from the positive bottle was examined by direct methods, such as Gram stain. Isolates were identified based on colonial morphology, biochemical tests, Analytical Profile Index (API) reaction and serology as necessary. The sensitivity of amoxicillin/ampicillin, amoxiclav (amoxicillin & clavulanic acid), cefuroxime, ceftriaxone, co-trimoxazole, ciprofloxacin, gentamicin, tetracycline and chloramphenicol was tested using the Kirby-Bauer disc diffusion method following CLSI guidelines. *S. enterica* isolates were screened for resistance to fluoroquinolones by nalidixic acid disc diffusion following the Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) guidelines of 2011. Nalidixic acid resistant strains were further tested by ciprofloxacin E test. When referring to *Streptococcus* spp., it does not include *S. pneumoniae* throughout this study. Measurement of hemoglobin was conducted semi-automatic via Sysmex-tool.

## Data entry and data cleaning

Admission charts were filled in by doctors or study nurses and subsequently double entered by two independent data entry clerks using a 4<sup>th</sup> Dimension Database 2004.4 4D SA, 1985–2006. (Clichy-la-Garenne, France).

Initially, 512 crude variables covering socio-economic background, medical history and acute clinical symptoms were derived from questionnaires. Patients with missing data for sex, age, bacteriological results or malaria diagnostics were excluded.

Continuous variables (e.g. “heart rate”) were categorized in generally accepted clinical subgroups (e.g. “bradycardia”/“normocardia”/“tachycardia”). In some cases, variables were merged in order to establish a new, medically more reasonable variable, or to improve statistical power of variables with small case numbers (e.g. “bulging fontanel” and/or “stiff neck” combined to “clinical signs of meningitis”). Redundant, similar or variables with >50% missing values were excluded.

In order to create a variable that can be used to describe the socio-economic status of the patient’s households, we applied a principal component analysis (PCA) on the following variables: mother’s and father’s profession and education, type of homestead, water supply, existence of an indoor kitchen, electricity, indoor toilet, use of freezing as measure of conservation, existence of a relative abroad who might financially support the family, the self-rated ability to manage with the available monthly income as well as existing health insurance. The factor that showed the highest eigenvalue was divided in three tertiles, which accordingly represent three categories of socio-economic status, which we labeled “poor/average/high”. For further details see [18]. Single socio-economic values were still considered for further analysis.

After data cleaning, 24 socio-economic variables, 16 terms describing medical history and anthropometrical variables and 68 variables describing clinical signs and symptoms were effectively used for further analysis (see [S1 Table](#)).

## Statistical analysis

To screen variables for their influence on bacteremia in parasitemic children, we applied three consecutive analytical steps with bacteremia as the dependent variable using STATA 10 software (College Station, Texas, United States). First, bivariate regressions analysis was applied to all socio-economic, medical history and anthropometrical variables, as well as to all clinical signs and symptoms (see [S1 Table](#)). Basic data and major variables describing the socio-economic background of the children’s families are displayed in [Table 1](#). Variables of p-value  $\leq 0.1$  were then identified for further analysis in a multivariate regression model. This selective step was necessary, since multivariate regression analysis of all variables was not possible due to a large volume of variables attended by a small common denominator due to heterogeneous patterns of missing data. Unstratified results of bivariate and multivariate regression analysis (variables with identified p-value  $\leq 0.1$  in bivariate model) of all children with co-infection are shown in [Table 2](#). Variables with a sample size <300 cases were excluded from analysis for a better significance of the model. The multivariate model was applied to eliminate confounders and correlation across variables.

Second, we performed bivariate regression analysis for the respective subgroups of children stratified for parasite count (<10,000 parasites per  $\mu\text{l}$  blood/ $\geq 10,000$  parasites per  $\mu\text{l}$  blood) (variables of p-value  $\leq 0.1$  in bivariate model shown in [Table 3](#)). Out of these two sets of variables, all factors positively associated with co-infection (“positive clinical predictors”) were then entered into a parsimonious stepwise multivariate regressions model to identify the strongest factors associated with co-infection ([Table 4](#)).

**Table 1. Basic data of the study group and socio-economic status.**

Characteristic		Total (%)	Malarial parasite +ve (%)	Malarial parasite -ve (%)
Sex (n = 1,915)	Female	866 (45.2)	355 (46.0)	511 (44.7)
	Male	1,049 (54.8)	416 (54.0)	633 (55.3)
Age (n = 1,915)	0–1 month	127 (6.6)	8 (1.0)	119 (10.4)
	1–11 months	429 (22.4)	108 (14.0)	321 (28.0)
	1–<5 years	947 (49.5)	501 (65.0)	446 (39.0)
	5–<15 years	412 (21.5)	154 (20.0)	258 (22.6)
	Median (IQR)	24 (11–54)	32	20
Religion (n = 1,607)	Christian	1,338 (83.3)	559 (82.5)	779 (83.8)
	Moslem	197 (12.2)	85 (12.5)	112 (12.1)
	Other	72 (4.5)	34 (5.0)	38 (4.1)
Ethnicity (n = 1,911)	Akan	1,344 (70.3)	521 (67.6)	823 (72.1)
	Northerners	444 (23.2)	203 (26.4)	241 (21.1)
	Others	123 (6.5)	46 (6.0)	77 (6.8)
Access to electricity (n = 1,607)	No	652 (40.6)	275 (40.6)	377 (40.6)
	Yes	955 (59.4)	403 (59.4)	552 (59.4)
Water supply (n = 1,606)	River/well	283 (17.6)	113 (16.7)	170 (18.3)
	Tap/pipe	1,323 (82.4)	565 (83.3)	758 (81.7)
House type (n = 1,607)	Wood/Mud	423 (26.3)	179 (26.4)	244 (26.3)
	Cement/brick	1,184 (73.7)	499 (73.6)	685 (73.7)
Mother literate (n = 776)	No	568 (73.2)	199 (80.6)	369 (69.8)
	Yes	208 (26.8)	48 (19.4)	160 (30.2)
Father literate (n = 773)	No	265 (34.3)	94 (38.2)	171 (32.4)
	Yes	508 (65.7)	152 (61.8)	356 (67.6)
Health insurance (n = 1,604)	No	523 (32.6)	249 (36.7)	274 (29.6)
	Yes	1,081 (67.4)	429 (63.3)	652 (70.4)
Income management (n = 1,605)	„Not difficult“	414 (25.8)	139 (20.6)	275 (29.6)
	„Difficult“	1,191 (74.2)	537 (79.4)	654 (70.4)

doi:10.1371/journal.pone.0122139.t001

Third, positive and negative predictive values of resulting factors were calculated, displayed in [Table 5](#). Negative and positive predictive values were compiled for each of six variables using STATA 10 software.

## Results

In total, 13,399 children below the age of 15 years were admitted to the children outpatient department of Agogo Presbyterian Hospital between May 2007 and March 2011. Out of 3,004 (22.4%) children requiring inpatient care due to severe febrile or non-febrile internal illness, 718 cases (23.9%) were excluded because of missing malaria slides, of which another 174 (5.8%) were excluded since bacteriological results were missing. Of remaining 2,112 patients, 197 (9.3%) showed a pathogen spectrum indication contamination, leaving 1,915 for further analysis ([Fig 1](#)).

The proportion of female (45%) and male (55%) children in the study population was comparable. The age pattern showed a median of 24 and a mean of 39 months. Seventy-eight percent (n = 1,503) of children were younger than five years, 29% (n = 556) younger than 1 year and 7% (n = 127) younger than one month ([Table 1](#)).

**Table 2. Unstratified bivariate and multivariate analysis of characteristics associated with bacteremia in parasitemic children <15 years (with p < 0.1).**

Characteristics		Bacteremia					
		No	Yes (%)	Bivariate analysis		Multivariate analysis <sup>5</sup> (n = 377)	
				OR (CI) <sup>1</sup>	p-value	OR (CI) <sup>1</sup>	p-value
Age (n = 771)	<5 years	575	42 (6.8)	1		*	
	5 - <15 years	150	4 (2.6)	0.4 (0.1–1.0)	0.06		
Developmental delay <sup>2</sup> (n = 145)	No	129	2 (1.5)	1		-	
	Yes	12	2 (14.3)	10.8 (1.4–83.3)	0.02		
Exclusive breastfeeding (n = 187)	No	111	14 (11.2)	1		-	
	Yes	61	1 (1.6)	0.1 (0.0–1.0)	0.05		
History of cough (n = 767)	No	526	25 (4.5)	1		1	
	Yes	196	20 (9.3)	2.1 (1.2–4.0)	0.01	19.3 (0.0–15428.3)	0.39
Able to breastfeed (n = 656)	No	403	28 (6.5)	1		1	
	Yes	219	6 (2.7)	0.4 (0.2–1.0)	0.04	1.9 (0.4–9.1)	0.40
Convulsions (n = 749)	No	476	39 (7.6)	1		1	
	Yes	224	7 (3.0)	0.4 (0.2–0.9)	0.02	0.5 (0.1–2.7)	0.42
Circulation impaired <sup>3</sup> (n = 722)	No	42	7 (14.3)	1		*	
	Yes	644	29 (4.3)	0.3 (0.1–0.7)	<0.001		
Capillary refill time ≥2 (n = 715)	No	144	23 (13.8)	1		1	
	Yes	536	12 (2.2)	0.1 (0.1–0.3)	<0.001	2.6 (**)	**
Cough (n = 767)	No	477	23 (4.6)	1		1	
	Yes	245	22 (8.2)	1.9 (1.0–3.4)	0.04	0.1 (0.0–68.4)	0.47
Watery stool (n = 295)	No	143	22 (13.3)	1		-	
	Yes	121	9 (6.9)	0.5 (0.2–1.1)	0.08		
Thirsty drinking (n = 766)	No	303	30 (9.0)	1		1	
	Yes	418	15 (3.5)	0.4 (0.2–0.7)	<0.001	1.0 (0.2–5.0)	0.98
Splenomegaly (n = 573)	No	497	11 (2.2)	1		1	
	Yes	58	7 (10.8)	5.5 (2.0–14.6)	<0.001	1.3 (1.3–1.4)	<0.001
Dehydration <sup>4</sup> (n = 703)	No	50	2 (3.9)	1		1	
	Yes	656	32 (4.7)	5.1 (1.4–19.1)	0.02	206.0 (4.5–9503.9)	0.006
Leukocytosis >10,000/μl (n = 768)	No	456	18 (3.8)	1		1	
	Yes	266	28 (9.5)	2.7 (1.4–4.9)	<0.001	0.9 (0.2–4.5)	0.94
Severe anemia <8 mg/dl (n = 769)	No	442	18 (3.9)	1		1	
	Yes	281	28 (9.1)	2.5 (1.3–4.5)	<0.001	2.3 (0.5–10.8)	0.28
Parasitemia (n = 626)	<10,000/μl	153	15 (8.9)	1		1	
	>10,000/μl	441	17 (3.7)	0.4 (0.2–0.8)	0.01	0.2 (0.1–1.1)	0.06
Mosquito net (n = 676)	No	523	33 (5.9)	1		1	
	Bed/ window net	119	1 (0.1)	0.1 (0.0–1.0)	0.05	0.5 (0.0–5.4)	0.54
Washing their hands (n = 677)	Not before meals	50	8 (13.8)	1		1	
	Before meals	592	27 (4.4)	0.3 (0.1–0.7)	<0.001	0.25 (0.0–1.6)	0.14

<sup>1</sup> OR (CI), odds ratio (95% confidence interval)

<sup>2</sup> Children who cannot hold their head at the age of three months, roll over at the age of 6 months, sit unsupported at the age of 9 months, stand unsupported at the age of 12 months or walk single steps at the age of 18 months

<sup>3</sup> Circulation impaired = cold extremities and/or capillary refill time >2 sec. and/or tachycardia

<sup>4</sup> Dehydration ≥dehydration grade 1 (3–5%)

<sup>5</sup> Variables *developmental delay*, *exclusive breastfeeding* and *watery stool* were removed from multivariate analysis due to small case number (<300 cases)

\* Predicts failure perfectly

\*\* No calculation possible due to small case numbers

doi:10.1371/journal.pone.0122139.t002



**Table 3. Bivariate analysis of characteristics associated with bacteremia in parasitemic children <15 years stratified for parasite count (with p < 0.1).**

Characteristics		Bacteremia							
		<10,000 parasites/ $\mu$ l				>10,000 parasites/ $\mu$ l			
		No	Yes (%)	OR (CI)	p-value	No	Yes (%)	OR (CI)	p-value
Intake of antimalarials	No	135	10 (6.9)	1		396	14 (3.4)	1	
	Yes	17	5 (22.7)	4.00 (1.21–13.18)	0.02	38	1 (2.6)	0.74 (0.09–5.76)	0.77
History of cough	No	107	11 (9.3)	1		324	7 (2.1)	1	
	Yes	46	4 (8)	0.86 (0.26–2.86)	0.81	115	9 (7.3)	3.58 (1.31–9.84)	0.01
Cold extremities	No	-	-	1		421	14 (3.2)	1	
	Yes	-	-	-	-	4	1 (20.0)	7.66 (0.80–73.05)	0.077
Capillary refill time $\geq$ 2	No	21	8 (27.6)	1		70	10 (12.5)	1	
	Yes	128	5 (3.8)	0.11 (0.03–0.36)	0.000	349	4 (1.1)	0.08 (0.02–0.26)	0.000
Abnormal skin	No	-	-	1		165	9 (5.2)	1	
	Yes	-	-	-	-	7	3 (30.0)	7.90 (1.75–35.77)	0.01
High fever $\geq$ 38.5°C	No	90	6 (6.3)	1		177	11 (5.9)	1	
	Yes	63	9 (12.5)	2.19 (0.74–6.47)	0.16	264	6 (2.2)	0.37 (0.13–1.01)	0.05
Circulation impaired <sup>1</sup>	No	7	3 (30.0)	1		20	4 (16.7)	1	
	Yes	142	10 (6.6)	0.17 (0.04–0.77)	0.02	404	11 (2.7)	0.13 (0.04–0.46)	0.001
Cough	No	99	11 (10.0)	1		290	6 (2.0)	1	
	Yes	54	4 (6.9)	0.69 (0.21–2.28)	0.54	150	10 (6.3)	3.18 (1.14–8.92)	0.03
Drawing-in of chest wall	No	-	-	1		430	15 (3.4)	1	
	Yes	-	-	-	-	9	2 (18.2)	5.83 (1.17–28.95)	0.03
Respiratory distress	No	-	-	1		409	13 (3.1)	1	
	Yes	-	-	-	-	13	2 (13.3)	4.93 (1.01–24.15)	0.05
Heavy diarrhoea <sup>2</sup>	No	14	1 (6.7)	1		54	2 (3.6)	1	
	Yes	4	3 (42.9)	14.00 (1.06–185.49)	0.05	28	1 (3.5)	0.93 (0.08–10.71)	0.95
Vomiting	No	102	5 (4.7)	1		222	8 (3.5)	1	
	Yes	51	10 (16.4)	1.02 (0.38–2.76)	0.97	218	8 (3.5)	4.17 (1.35–12.89)	0.01
Vomiting everything	No	32	3 (8.6)	1		125	6 (4.6)	1	
	Yes	19	6 (24.0)	3.53 (0.78–15.95)	0.10	91	2 (2.2)	0.46 (0.09–2.31)	0.34
Tenting of skin	No	-	-	1		423	14 (3.2)	1	
	Yes	-	-	-	-	2	1 (33.3)	15.39 (1.32–179.95)	0.03
Splenomegaly	No	121	5 (4.0)	1		331	3 (0.9)	1	
	Yes	12	1 (7.7)	1.88 (0.20–17.48)	0.58	27	4 (12.9)	16.74 (3.56–78.67)	0.00
Dehydration <sup>3</sup>	No	-	-	1		411	12 (2.8)	1	
	Yes	-	-	-	-	6	3 (33.3)	17.46 (3.90–78.24)	0.00
White blood cell count	Normocytic	83	3 (3.5)	1		227	5 (2.2)	1	
	Leukocytosis <sup>4</sup>	50	11 (18.0)	6.16 (1.64–23.23)	0.01	160	12 (7.0)	3.40 (1.18–9.84)	0.02
	Leukopenia	17	1 (5.6)	1.65 (0.16–16.85)	0.68	54	0 (0.0)	-	-
Severe anemia <8 mg/dl	No	95	5 (5.0)	1		281	9 (3.1)	1	
	Yes	56	10 (15.2)	3.61 (1.17–11.13)	0.03	160	8 (4.8)	1.53 (0.58–4.04)	0.39
Toilet in house	No	75	9 (10.7)	1		184	9 (4.7)	1	
	Yes	63	4 (6.0)	0.52 (0.15–1.77)	0.29	218	3 (1.4)	0.29 (0.08–1.07)	0.06
Socioeconomic status	Low	46	8 (14.8)	1		134	4 (2.9)	1	
	Medium	49	2 (3.9)	0.23 (0.05–1.14)	0.07	124	5 (3.9)	1.36 (0.36–5.17)	0.65

(Continued)

Table 3. (Continued)

Characteristics	Bacteremia							
	<10,000 parasites/ $\mu$ l				>10,000 parasites/ $\mu$ l			
	No	Yes (%)	OR (CI)	p-value	No	Yes (%)	OR (CI)	p-value
High	51	4 (7.3)	0.42 (0.12–1.49)	0.18	166	6 (3.5)	1.24 (0.34–4.48)	0.74

<sup>1</sup> Circulation impaired = cold extremities and/or capillary refill time  $\leq$ 2 sec. and/or tachycardia

<sup>2</sup> Diarrhea >7 days

<sup>3</sup> Dehydration  $\geq$ dehydration grade 1 (3–5%)

<sup>4</sup> Leukocytosis = white blood cell count  $\geq$ 10,000/ $\mu$ l; Leukopenia = white blood cell count <4,000/ $\mu$ l

doi:10.1371/journal.pone.0122139.t003

Malaria parasitemia was detected in 771 (40.3%) children, whereas 458 (73.2%) out of all counted slides showed parasite concentrations >10,000 parasites/ml and 195 (31.3%) concentrations above the WHO defined threshold of 4% for hyperparasitemia.

In 46 (6.0%) of parasitemic cases, bacteremia was detected in blood samples indicating a co-infection. In 69.6% (n = 32) of co-infections, data on parasite count (amount of parasites per  $\mu$ l blood) was available. A low parasite count (<10,000/ $\mu$ l) was found in 46.9% (n = 15) and a high parasite count in 53.1% (n = 17) of cases.

Comparable to earlier published data of the same study site [7], NTS dominates the isolated pathogens accounting for 45.7% (n = 21) of all isolates in parasitemic children <15 years, followed by *Streptococcus* spp. (n = 6; 13.0%), *S. aureus* (n = 4; 8.7%), *S. pneumoniae* and *Pseudomonas* spp. (n = 3; 6.5%, respectively). *Salmonella ser. Typhi*, *Escherichia coli* and *Acinetobacter* spp. accounted for two isolates each (4.4% respectively). One isolate (2.2%) was detected for

Table 4. Parsimonious multivariate regressions model of characteristics positively associated with bacteremia in parasitemic children, stratified for parasite count.

	Risk for bacteremia		
		OR (CI)	<sup>1</sup> p-value
<b>Parasitemic children with &lt;10,000 parasites/<math>\mu</math>l (n = 164)</b>			
Severe anemia <8 mg/dl	No	1	
	Yes	3.3 (1.0–11.1)	0.05
Vomiting	No	1	
	Yes	4.7 (1.4–15.8)	0.01
Leukocytosis >10,000/ $\mu$ l	No	1	
	Yes	6.8 (1.9–24.2)	0.00
<b>Highly parasitemic children with <math>\geq</math>10,000 parasites/<math>\mu</math>l (n = 357)</b>			
Cough	No	1	
	Yes	9.0 (0.7–118.6)	0.10
Dehydration <sup>2</sup>	No	1	
	Yes	18.2 (2.0–166.0)	0.01
Splenomegaly	No	1	
	Yes	8.8 (1.6–48.9)	0.01

<sup>1</sup> OR (CI), odds ratio (95% confidence interval)

<sup>2</sup> Dehydration  $\geq$  grade 1 (3–5%)

doi:10.1371/journal.pone.0122139.t004

Table 5. Test accuracy.

	Prevalence %	Sensitivity % (CI)	Specificity % (CI)	PPV (%) <sup>1</sup>	NPV (%) <sup>2</sup>
<b>Parasitemic children with &lt;10,000 parasites/μl</b>					
Severe anemia <8 mg/dl (n = 166)	9.0	67 (38–88)	63 (55–71)	15	95
Vomiting (n = 168)	8.9	67 (38–88)	67 (59–74)	16	95
Leukocytosis >10,000/μl (n = 165)	9.1	73 (45–92)	67 (59–74)	18	96
<b>Highly parasitemic children with ≥10,000 parasites/μl</b>					
Cough (n = 456)	3.5	63 (35–85)	66 (61–70)	6	98
Dehydration <sup>3</sup> (n = 432)	3.5	20 (4–48)	99 (97–100)	33	97
Splenomegaly (n = 365)	1.9	57 (18–90)	93 (89–95)	13	99

<sup>1</sup> PPV, positive predictive value for bacteremia (for prevalence 12.7%)

<sup>2</sup> NPV, negative predictive value for bacteremia (for prevalence 12.7%)

<sup>3</sup> Dehydration ≥ grade 1 (3–5%)

doi:10.1371/journal.pone.0122139.t005

*Klebsiella* spp., *Shigella* spp. and *Chryseobacter* spp. each. In children below the age of five years, the frequency of the three most prevalent species remained equal.

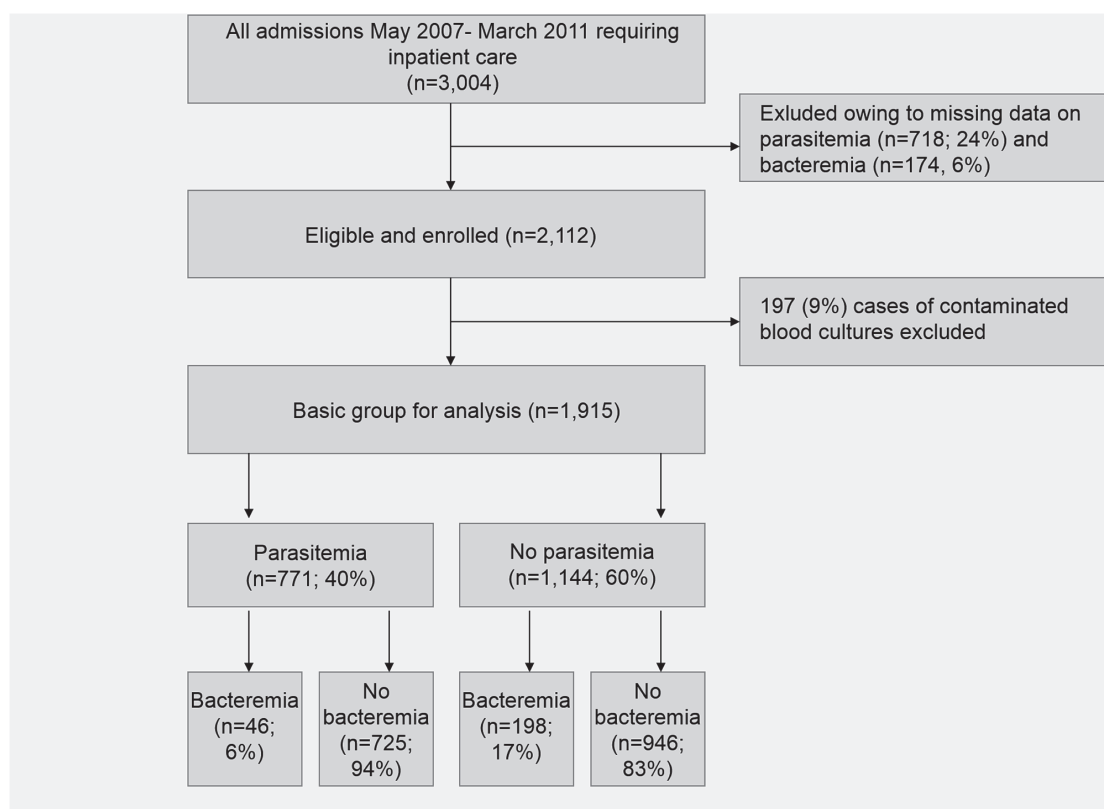


Fig 1. Admissions, enrollment, frequencies and percentages of parasitemia/bacteremia.

doi:10.1371/journal.pone.0122139.g001

Comparing the subgroups of under five children with parasite count below 10,000/μl blood with those showing a high parasitemia, the dominating effect of NTS in those with a low parasitemia is more distinct (n = 7; 53.9%) than in the other group (n = 7; 43.8%). While *Streptococcus* spp. and *Staphylococcus aureus* played a minor role in children with low parasitemia (n = 1; 7.7%, respectively), they accounted for the three most frequent isolates in cases with high parasitemia (n = 4; 25.0% and n = 3; 18.8% respectively).

Invasive bacterial infection was more likely in slide negative children (n = 198; 17.3%) than in slide positive children (n = 46; 6.0%). Compared to the group of children with a negative parasite count (n = 198), *Streptococcus* spp. is represented more than ten times more frequently in the group of parasitemic children. On the other hand, *Salmonella* ser. Typhi only accounts for 4.4% (n = 2) in parasitemic children, whereas 17.7% (n = 35) of isolates were detected in non-parasitemic children. Similar effects were seen for *S. pneumoniae* that accounted for 12.6% in non-parasitemic (n = 25), but only for 6.5% (n = 3) in parasitemic children. NTS and *S. aureus* showed similar percentages in non-parasitemic children (40.4%; n = 80 and 11.6%; n = 23%) compared to the children with positive parasite count.

The outcome of disease at discharge was documented in 89.4% (n = 1,712) of cases. Other unknown underlying conditions of children might have influenced recovery and clinical expression of bacterial infection. Cases of co-infection were fatal in 1 child (2.2%), 2 children suffered from ongoing disabilities (4.3%) and 12 children (67.4%) fully recovered.

Overall, mortality of bacteremic children was 7.0% (n = 13) compared to 2.8% (n = 42) of children without invasive bacterial blood stream infection. Isolates from fatal cases were four NTS, three *S. pneumoniae*, two *S. aureus*, two *Klebsiella* spp., one *Salmonella* ser. Typhi and one *Acinetobacter* spp.

In the only fatal case of co-infection, the child was highly parasitemic. High parasitemia was found in 75% of non-bacteremic children who died during hospitalization.

NTS, *S. pneumoniae*, *Pseudomonas* spp. and *Salmonella* ser. Typhi were 100% susceptible to ceftriaxone, whereas ciprofloxacin fully covered NTS, *S. aureus* and *Pseudomonas* spp. Sixty-seven percent of *S. pneumoniae* were resistant towards ciprofloxacin. *Streptococcus* spp., the second frequent isolate showed 20% resistance to ceftriaxone and 33% resistance to ciprofloxacin. If presenting with symptoms of diarrhea and respiratory infection, ceftriaxone fully covered isolated pathogens. In 85% of NTS, 17% of *Streptococcus* spp. and 100% of *Pseudomonas* spp., amoxicillin was tested resistant. *S. pneumoniae* has not built resistance yet, but was partly intermediately susceptible. Gentamicin only covered 48% of NTS and 50% of *S. pneumoniae* isolates. Multi drug resistance against amoxicillin, chloramphenicol and cotrimoxazole was detected in one NTS and one *Salmonella* ser. Typhi strain.

When evaluating presumption diagnosis after clinical examination but without knowledge of laboratory testing results, malaria was suspected in 1,272 cases (66.4%), whereas bacteremia/sepsis was suspected in 1,155 cases (60.3%). Co-infection, respectively strong suspicion of both diagnoses, was documented in 852 cases (48.2%). During primary inspection, if health care professionals suspected an isolated malaria infection, 43.5% (n = 266) actually were parasitemic, whereas 7.5% (n = 46) showed positive blood cultures without clinical prediction. On the other hand, 7.4% (n = 37) out of suspected bacteremic cases were predicted correctly, and 6.0% (n = 30) of parasitemia could not be clinically detected.

### Clinical factors associated with bacteremia in parasitemic children

Applying bivariate regression analysis to the 107 derived anamnestic and clinical characteristics, 18 showed a significant association (p-value < 0.1) with bacteremia in parasitemic children (Table 2).

Coughing or a history of coughing seems to increase the risk of suffering from bacteremia in this study group. Dehydration (dehydration >grade 1≈3–5%) as well as splenomegaly as an unspecific reaction to acute or chronic infectious condition show a strong positive association with bacteremia. As laboratory parameters, severe anemia (<8 mg/dl) and leukocytosis (>10,000/ $\mu$ l) indicate a strong association with bacteremia in parasitemic children. This effect dissolves for severe anemia when stratifying for cases with parasitemia of >10,000/ $\mu$ l only (Table 3). A general developmental delay of the sick child can also be evidence of an additional bacteremia. In multivariate analysis of significant factors in bivariate analysis, splenomegaly and dehydration remain significantly associated with a co-infection, whereas all other factors lose significance (Table 2).

In our analysis, the calculated variable of “socio-economic status” showed a slight negative association of medium and high social standard with bacterial co-infection in bivariate model but this association turned out to be irrelevant upon further analysis. Other particular socio-economic aspects, like the domestic application of procedures improving hygiene (e.g. washing their hands before eating), are negatively associated with bacteremia in this age group. Furthermore, the utilization of mosquito nets has a strong protective influence on bacteremia. The risk of bacteremia is decreased if children have exclusively been breastfed till onset of the disease or at least were able to breastfeed with or without intake of solid food or were simply strong enough to drink thirstily. Anamnestic private preadmission intake of antimalarials without reduction of signs of severe illness in children with low parasite count is an indicator for clinicians of invasive bacterial disease.

Interestingly, signs of impaired microcirculation, like prolonged capillary refill time or cold extremities as well as convulsions, were negatively associated with bacteremia and seem to suggest malaria as a primary diagnosis.

In general, children below the age of five years with a low parasite count of <10,000/l are at higher risk for bacteremic co-infection than others.

When stratifying for high parasite count of >10,000/ $\mu$ l blood, clinical signs of respiratory infection like coughing, drawing-in of chest wall and respiratory distress gain even more in importance. Dehydration and tenting of skin fold are also strongly associated with systemic blood stream infection. Skin infections were not detected very often, but in cases of any skin abnormalities of the severely ill child, the likelihood of a bacteremic co-infection was higher than without pathologic skin aspects. In this subgroup, high fever was not positively associated with bacteremia.

In order to identify the most influential clinical predictors for co-infection with bacteremia, we applied parsimonious stepwise multivariate regression analysis on the subgroup presenting with high parasitemia. We could select coughing, dehydration and splenomegaly as the three factors with strongest association. In the subgroup of low parasitemia, cellular blood parameters like severe anemia and leukocytosis as well as vomiting were highly associated. Even with a moderate sensitivity of >60%, only low positive predictive values <40% can be obtained due to low prevalence of bacteremia (Tables 4 and 5).

A combination of two or all clinical predictors in terms of an algorithm could not increase the positive or negative predictive value of single variables.

## Discussion

Differentiation of causative infectious agents in children with severe disease in malaria endemic areas in sub-Saharan Africa is a challenge for clinicians. Many efforts have been made to detect clinical or laboratory discriminators powerful and feasible enough to support clinicians in the diagnosis finding process [1,2,5,19,20,21].

Unlike frequently quoted related studies from Tanzania and Kenya [1,2], we did not apply currently recommended guidelines on our data to analyze their validity, but tested a comprehensive set of clinical, socio-economic, history and laboratory data for their association with and prediction of bacteremia in children with malaria parasitemia. With this approach, we intended to find indicators that might complement existing clinical algorithms. In a recent prospective study from Tanzania, it has been demonstrated that in a population exposed to intense *P. falciparum* transmission, WHO guidelines failed to identify almost one-third of invasive bacterial infections [1]. Because of overlapping clinical symptoms, sensitivity for clinical diagnosis of bacteremia was reduced with increasing *P. falciparum* density from 70% in slide negative children to 53% in children with a parasite count of more than 50,000 parasites/ $\mu$ l. Knowledge of parasite count might therefore be critical for a diagnostic algorithm to screen for an additional bacteremia. In our study design, we referred to this hypothesis and generated different algorithms for high (>10,000/ $\mu$ l) and low parasite counts.

Out of 771 children with *P. falciparum* parasitemia, 6% were co-infected with invasive bacteria. Non-typhoidal salmonellae and *Streptococcus* spp. were the most frequent isolates irrespective of a positive or negative malaria count. This was twice as high as in observations of a Kenyan study, where 3.0% of children had invasive bacterial infections and positive malarial slides [2]. Direct comparability of the results is limited since children in Kenya were younger (median 17 months) and children with bacteremia and meningitis were included in the group of invasive bacterial infections. In general, co-infection is more commonly reported in areas of high malaria transmission than in areas with low transmission intensity [22].

### Clinical factors associated with bacteremia in parasitemic children

Results from Tanzania [1] identified “severe anemia” (hemoglobin <5 g/dl), “prostration” and “current fever >38°C” to increase sensitivity of current WHO guidelines, resulting in a significant increase of detection of bacteremic children. Our findings confirm a positive association of severe anemia (<8 g/dl) with bacteremia in the group of all children below the age of 15 years. In this special setting of co-infection, prostration and fever was not identified as an important distinguishing factor, but fever and especially high fever was obviously significantly positively associated with bacteremia, when not stratified for parasitemia. Prostration did not show a significant predictive value in our models. In conclusion, considering our results, severe anemia should further be investigated as a valuable factor of identifying bacterial co-infection in high transmission areas for malaria. Additional factors that should be considered in algorithms to identify a bacterial co-infection are coughing, dehydration, splenomegaly and leukocytosis as well as a developmental delay of the child (Table 2).

### Positive clinical predictors for bacteremia in children with high parasite count

Asymptomatic parasitemia in children is frequent in high transmission areas. Data from Uganda suggests an occurrence of 30% in school children [23]. After acquiring semi-immunity, asymptomatic infections account for 12–52%, depending on the diagnostic method [24]. In this study, the subgroup of children with high parasitemia is large, arguing against co-existing asymptomatic parasitemia.

According to stepwise multivariate analysis, dehydration, splenomegaly and coughing show strong association with invasive bacterial co-infection in children with high parasite counts (Table 4). Due to low prevalence of bacteremia, even the best positive predictive values detected, namely for dehydration, are only 33% (Table 5). Indeed, signs of dehydration, e.g. tenting of the skin, are strongly associated with bacteremia in highly parasitemic children

(Table 3). Dehydration can be the result of limited rehydration due to the inability to breastfeed or drink, due to diarrhea or generalized reactions like fever or shock. Diarrhea and vomiting are typical symptoms for gastroenteritis with NTS but can also occur in cases with NTS bacteremia [25].

Clinical presentation of invasive NTS infection is diverse. Recently published review data on invasive non-typhoidal salmonella disease describes clinical presentation with fever [25], hepatosplenomegaly and respiratory symptoms [26] as common features, whereas symptoms of enterocolitis are often absent [27]. The data presented here can statistically reproduce this finding, since coughing (OR = 9.0) and splenomegaly (OR = 8.8) in parasitemic children are strongly associated with bacteremia. After all, in our model, high parasite counts go along with increased mortality in children without co-infection as well as in the only case with additional bacteremia, stressing the importance of this parameter.

### Positive clinical predictors for bacteremia in children with low parasite count

In multivariate regression analysis, laboratory factors that are typically altered in invasive bacteremic infection, like leukocytosis and low hemoglobin, can prevail despite similar symptom complexes occurring in clinical malaria. Additionally, vomiting was detected as a major positive clinical predictor of bacteremia in children with low parasite count. Besides fever, vomiting is a commonly reported symptom (90%) of malaria in children [28]. Recent data from Ghana describes a history of vomiting in 41% of children with parasites detected in thick smear. In our study collective, half of highly parasitemic children were reported by guardians to have vomited previously, and only 36% of those with low parasite count were affected. The percentage of children vomiting in the bacteremic group was similarly high with 35%. However, vomiting seems to be associated with bacteremia and bacterial co-infection, although it is known as a clinical feature linked to parasitemia.

### Impaired microcirculation—a valuable discriminating factor?

In a bivariate regression model, prolonged capillary refill time  $>2$  sec was significantly negatively associated with systemic bacterial blood stream infections independent of level of parasitemia. In contrast, cold extremities, another clinical sign for an impaired cardiovascular system, indicated a bacterial co-infection in children with high parasitemia. It has been reported that a prolonged capillary refill time is highly associated with severe malaria [29]. Nevertheless, signs of cardiovascular dysfunction (prolonged capillary refill  $>5$  sec; core to peripheral temperature gap  $>3^{\circ}\text{C}$ ) belong to the organ dysfunction criteria of the latest definition of pediatric severe sepsis and septic shock criteria and might rather be a sign of severe disease [17].

Many epidemiological, clinical and molecular studies suggest a positive association between malaria and invasive NTS bacteremia, reasoning that invasive NTS infections could be reduced by eliminating malaria [30,31,32]. Our findings may support this theory, since usage of mosquito nets was significantly associated with a lower occurrence of bacteremia. Another explanation for this strong association could be confounding through higher hygiene standards and health education in these families. This is in accordance with our finding that a high social-economic background allowing a water closet and proper cooking facilities in the house are negatively associated with bacterial co-infections. Young children who have not been weaned, but are exclusively breastfed, show significantly less invasive bacterial infections in this study group compared to children receiving other liquids or solid food, indicating oral transmission through contaminated food. In general, wealthy families seem to have the financial

opportunities to seek professional medical help more often, represented in the association of invasive bacterial disease and a high level of education (see [S1 Table](#)). Nevertheless, these results need to be interpreted carefully, since they may be confounded.

### Validity and generalizability of results

In this study, a large set of socio-economic, clinical and laboratory parameters was analyzed including basic clinical WHO criteria of the manual “management of the child with a serious infection or severe malnutrition: guidelines for care at first-referral level in developing countries”. The focus of this study was to investigate clinical parameters for the use under limited conditions. However, additional laboratory diagnostic suggested by WHO (e.g. bacteriological culture carried out on the urine, lumbar puncture [16]) as well as HIV co-infection were not evaluated and may be considered in further studies. Although the total number of patients in this study was large, the absolute number of children with malaria and a positive blood culture was too small to achieve sufficient statistical power for further association analyses and stratification for specific bacterial pathogens. The study was linked to the hospital routine health care and missing data points were not completely preventable. Missing admissions at night and weekends might have led to a selection bias with underestimation of severe diseases. Future projects should consider these obstacles in terms of study design and data management. Some variables, such as assessment of “cold extremities,” sometimes underlie subjective interpretation. Assessment of socio-economic and socio-demographic data was prone to reporting bias.

### Conclusions

The results presented here demonstrate the limitation of clinical algorithms to clinically determine bacterial co-infections in children with malarial parasitemia. Best clinical indicators are dependent on the parasite level, and even with an acceptable sensitivity of >60%, only low positive predictive values can be obtained due to the low prevalence of bacteremia. In children with parasite counts >10,000/μl presenting to a rural hospital in a malaria endemic area of Ghana, best indicators for bacterial co-infection were dehydration, splenomegaly and coughing. In children with lower parasite counts, best indicators were severe anemia, leukocytosis and vomiting. These symptom constellations indicate that presumptive antimicrobial treatment, e.g. with ceftriaxone, would be beneficial.

Nevertheless, the combination of clinical and demographic indicators cannot replace thorough microbiological diagnosis. Rapid testing on the basis of biochemical markers for distinguishing parasitemia and bacteremia should be further optimized for countries with limited resources.

### Supporting Information

**S1 Table. Bivariate regression analysis of all variables in parasitemic children <15 years. (DOCX)**

### Acknowledgments

We thank all patients and their parents of APH who consented to participating and all hospital staff for their support. We especially acknowledge those who personally contributed to a successful implementation and execution of the study, additional to clinical routine work. We are also grateful for the continuous endeavors of the field workers of the Kumasi Center for



Collaborative Research (KCCR) and affiliated contributors, without whose efforts this research would not have been possible. This work is part of the doctoral thesis of MVN.

### Author Contributions

Conceived and designed the experiments: MVN SA WL NS JM. Performed the experiments: MVN SA AA DD. Analyzed the data: MVN WL JM. Contributed reagents/materials/analysis tools: FM NS YAS JM. Wrote the paper: MVN JM.

### References

- Nadim B, Amos B, Mtove G, Ostermann J, Chonya S, Wangai H, et al. WHO guidelines for antimicrobial treatment in children admitted to hospital in an area of intense Plasmodium falciparum transmission: prospective study. *BMJ*. 2010; 340: c1350. doi: [10.1136/bmj.c1350](https://doi.org/10.1136/bmj.c1350) PMID: [20354024](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20354024/)
- Berkley JA, Maitland K, Mwangi I, Ngetsa C, Mwarumba S, Lowe BS, et al. Use of clinical syndromes to target antibiotic prescribing in seriously ill children in malaria endemic area: observational study. *BMJ*. 2005; 330: 995. PMID: [15797893](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15797893/)
- Evans JA, Adusei A, Timmann C, May J, Mack D, Agbenyega T, et al. High mortality of infant bacteraemia clinically indistinguishable from severe malaria. *QJM*. 2004; 97: 591–597. PMID: [15317928](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15317928/)
- Amexo M, Tolhurst R, Barnish G, Bates I. Malaria misdiagnosis: effects on the poor and vulnerable. *Lancet*. 2004; 364: 1896–1898. PMID: [15555670](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15555670/)
- Reyburn H, Mbatia R, Drakeley C, Carneiro I, Mwakasungula E, Mwerinde O, et al. Overdiagnosis of malaria in patients with severe febrile illness in Tanzania: a prospective study. *BMJ*. 2004; 329: 1212. PMID: [15542534](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15542534/)
- Kahama-Maró J, D'Acremont V, Mtasiwa D, Genton B, Lengeler C. Low quality of routine microscopy for malaria at different levels of the health system in Dar es Salaam. *Malar J*. 2011; 10: 332. doi: [10.1186/1475-2875-10-332](https://doi.org/10.1186/1475-2875-10-332) PMID: [22047131](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22047131/)
- Nielsen MV, Sarpong N, Krumkamp R, Dekker D, Loag W, Amemasor S, et al. Incidence and Characteristics of Bacteremia among Children in Rural Ghana. *PLoS One*. 2012; 7: e44063. doi: [10.1371/journal.pone.0044063](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0044063) PMID: [22970162](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22970162/)
- WHO: Agogo Presbyterian Hospital, Ghana. 2011; Available: [http://www.who.int/buruli/events/agogo\\_hospital/en/index.html](http://www.who.int/buruli/events/agogo_hospital/en/index.html) Accessed 2015 February 14.
- Ghana. Cities & Urban Localities. Census Data of the year 2000. 2011; Available: <http://www.citypopulation.de/Ghana-Cities.html> Accessed 2015 February 14.
- WHO. World malaria report 2009. 2009; Available: [http://www.who.int/malaria/publications/country\\_profiles/2009/mal2009\\_ghana\\_0022.pdf](http://www.who.int/malaria/publications/country_profiles/2009/mal2009_ghana_0022.pdf) Accessed 2015 February 14.
- Browne EN, Frimpong E, Sievertsen J, Hagen J, Hamelmann C, Dietz K, et al. Malariometric update for the rainforest and savanna of Ashanti region, Ghana. *Ann Trop Med Parasitol*. 2000; 94: 15–22. PMID: [10723520](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10723520/)
- Krefis AC, Schwarz NG, Kruger A, Fobil J, Nkrumah B, Acquah S, et al. Modeling the relationship between precipitation and malaria incidence in children from a holoendemic area in Ghana. *Am J Trop Med Hyg*. 2011; 84: 285–291. doi: [10.4269/ajtmh.2011.10-0381](https://doi.org/10.4269/ajtmh.2011.10-0381) PMID: [21292900](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21292900/)
- Sarpong N, Loag W, Fobil J, Meyer CG, Adu-Sarkodie Y, May J, et al. National health insurance coverage and socio-economic status in a rural district of Ghana. *Trop Med Int Health*. 2010; 15: 191–197. doi: [10.1111/j.1365-3156.2009.02439.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-3156.2009.02439.x) PMID: [19961565](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19961565/)
- CIA: CIA factbook 2012. 2012; Available: <https://www.cia.gov/library/publications/the-world-factbook/geos/gh.html> Accessed 2015 February 14.
- Renner LA, Newman MJ, Ahadzie L, Antwi-Agyei KO, Eshetu M. Introduction of Haemophilus influenzae type B conjugate vaccine into routine immunization in Ghana and its impact on bacterial meningitis in children younger than five years. *Pediatr Infect Dis J*. 2007; 26: 356–358. PMID: [17414404](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17414404/)
- WHO Management of the child with a serious infection or severe malnutrition: guidelines for care at the first-referral level in developing countries. 2000; Available: [http://whqlibdoc.who.int/hq/2000/WHO\\_FCH\\_CAH\\_00.1.pdf](http://whqlibdoc.who.int/hq/2000/WHO_FCH_CAH_00.1.pdf) Accessed 2015 February 14.
- Goldstein B, Giroir B, Randolph A. International pediatric sepsis consensus conference: definitions for sepsis and organ dysfunction in pediatrics. *Pediatric critical care medicine: a journal of the Society of Critical Care Medicine and the World Federation of Pediatric Intensive and Critical Care Societies*. 2005; 6: 2–8.

18. Krefis AC, Schwarz NG, Nkrumah B, Acquah S, Loag W, Sarpong N, et al. Principal component analysis of socioeconomic factors and their association with malaria in children from the Ashanti Region, Ghana. *Malar J*. 2010; 9: 201. doi: [10.1186/1475-2875-9-201](https://doi.org/10.1186/1475-2875-9-201) PMID: [20626839](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20626839/)
19. Lathia TB, Joshi R. Can hematological parameters discriminate malaria from nonmalarious acute febrile illness in the tropics? *Indian J Med Sci*. 2004; 58: 239–244. PMID: [15226575](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15226575/)
20. Planche T, Agbenyega T, Bedu-Addo G, Ansong D, Owusu-Ofori A, Micah F, et al. A prospective comparison of malaria with other severe diseases in African children: prognosis and optimization of management. *Clin Infect Dis*. 2003; 37: 890–897. PMID: [13130399](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/13130399/)
21. Ayoola OO, Adeyemo AA, Osinusi K. Predictors of bacteraemia among febrile infants in Ibadan, Nigeria. *J Health Popul Nutr*. 2002; 20: 223–229. PMID: [12430758](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12430758/)
22. Church J, Maitland K. Invasive bacterial co-infection in African children with *Plasmodium falciparum* malaria: a systematic review. *BMC medicine*. 2014; 12: 31. doi: [10.1186/1741-7015-12-31](https://doi.org/10.1186/1741-7015-12-31) PMID: [24548672](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24548672/)
23. Nankabirwa J, Wandera B, Kiwanuka N, Staedke SG, Kanya MR, Brooker SJ. Asymptomatic *Plasmodium* infection and cognition among primary schoolchildren in a high malaria transmission setting in Uganda. *The American journal of tropical medicine and hygiene*. 2013; 88: 1102–1108. doi: [10.4269/ajtmh.12-0633](https://doi.org/10.4269/ajtmh.12-0633) PMID: [23589533](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23589533/)
24. Dal-Bianco MP, Koster KB, Kombila UD, Kun JF, Grobusch MP, Ngoma GM, et al. High prevalence of asymptomatic *Plasmodium falciparum* infection in Gabonese adults. *The American journal of tropical medicine and hygiene*. 2007; 77: 939–942. PMID: [17984357](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17984357/)
25. Kariuki S, Revathi G, Kariuki N, Kiiru J, Mwituria J, Hart CA. Characterisation of community acquired non-typhoidal *Salmonella* from bacteraemia and diarrhoeal infections in children admitted to hospital in Nairobi, Kenya. *BMC microbiology*. 2006; 6: 101. PMID: [17173674](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17173674/)
26. Schwarz NG, Sarpong N, Hunger F, Marks F, Acquah SE, Agyekum A, et al. Systemic bacteraemia in children presenting with clinical pneumonia and the impact of non-typhoid salmonella (NTS). *BMC infectious diseases*. 2010; 10: 319. doi: [10.1186/1471-2334-10-319](https://doi.org/10.1186/1471-2334-10-319) PMID: [21050455](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21050455/)
27. Feasey NA, Dougan G, Kingsley RA, Heyderman RS, Gordon MA. Invasive non-typhoidal salmonella disease: an emerging and neglected tropical disease in Africa. *Lancet*. 2012; 379: 2489–2499. doi: [10.1016/S0140-6736\(11\)61752-2](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(11)61752-2) PMID: [22587967](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22587967/)
28. Choge JK, Magak NG, Akhwale W, Koech J, Ngeiywa MM, Oyoo-Okoth E, et al. Symptomatic malaria diagnosis overestimate malaria prevalence, but underestimate anaemia burdens in children: results of a follow up study in Kenya. *BMC public health*. 2014; 14: 332. doi: [10.1186/1471-2458-14-332](https://doi.org/10.1186/1471-2458-14-332) PMID: [24712340](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24712340/)
29. Evans JA, May J, Ansong D, Antwi S, Asafo-Adjei E, Nguah SB, et al. Capillary refill time as an independent prognostic indicator in severe and complicated malaria. *The Journal of pediatrics*. 2006; 149: 676–681. PMID: [17095342](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17095342/)
30. Scott JA, Berkley JA, Mwangi I, Ochola L, Uyoga S, Macharia A, et al. Relation between *falciparum* malaria and bacteraemia in Kenyan children: a population-based, case-control study and a longitudinal study. *Lancet*. 2011; 378: 1316–1323. doi: [10.1016/S0140-6736\(11\)60888-X](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(11)60888-X) PMID: [21903251](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21903251/)
31. Maltha J, Guiraud I, Kabore B, Lompo P, Ley B, Bottieau E, et al. Frequency of severe malaria and invasive bacterial infections among children admitted to a rural hospital in Burkina Faso. *PLoS One*. 2014; 9: e89103. doi: [10.1371/journal.pone.0089103](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0089103) PMID: [24551225](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24551225/)
32. Lokken KL, Mooney JP, Butler BP, Xavier MN, Chau JY, Schaltenberg N, et al. Malaria Parasite Infection Compromises Control of Concurrent Systemic Non-typhoidal *Salmonella* Infection via IL-10-Mediated Alteration of Myeloid Cell Function. *PLoS pathogens*. 2014; 10: e1004049. doi: [10.1371/journal.ppat.1004049](https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1004049) PMID: [24787713](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24787713/)

## Supporting Information

**Table S1** Bivariate regression analysis of all variables in parasitemic children <15 years.

		Bacteremia (n=771)			
		n		p-value	OR (CI)
		No	Yes (%)		
Sex	Male	153	14 (8.4)		1
	Female	168	21 (11.1)	0.72	0.90 (0.49-1.63)
Age	<5 years	575	42 (6.8)		1
	≥5 years	150	4 (2.6)	0.06	0.37 (0.13-1.03)
Vaccination status <sup>1</sup>	None/Incomplete	28	1 (3.5)		1
	Complete	674	45 (6.3)	0.54	1.87 (0.25-14.05)
Weight-for-age Z-score<-2 (Underweight) <sup>2</sup>	No	502	32 (6.0)		1
	Yes	104	11 (9.6)	0.17	1.66 (0.81-3.40)
Weight-for-length Z-score<-2 (Wasting) <sup>2</sup>	No	219	21 (8.8)		1
	Yes	53	7 (11.7)	0.49	1.38 (0.56-3.41)
Length-for-age Z-score<-2 (Stunting) <sup>2</sup>	No	207	22 (9.6)		1
	Yes	65	7 (9.7)	0.98	1.01 (0.41-2.48)
Developmental delay <sup>3</sup>	No	129	2 (1.5)		1
	Yes	12	2 (14.3)	0.027	10.18 (1.39-79.53)
Exclusive breastfeeding	No	111	14 (11.2)		1
	Yes	61	1 (1.6)	0.051	0.13 (0.02-1.01)
Intake of antimalarials	No	636	37 (5.5)		1
	Yes	73	7 (8.8)	0.25	1.65 (0.71-3.83)
Intake of antibiotics	No	654	43 (6.2)		1
	Yes	64	1 (1.5)	0.16	0.24 (0.03-1.75)
Intake of antihelmints	No	460	27 (5.5)		1
	Yes	209	13 (5.9)	0.87	1.06 (0.54-2.09)
Intake of paracetamol	No	190	10 (5.0)		1
	Yes	529	35 (6.2)	0.54	1.26 (0.61-2.59)
History of fever	No	53	1 (1.9)		1
	Yes	670	44 (6.2)	0.22	3.48 (0.47-25.76)
History of cough	No	526	25 (4.5)		1
	Yes	196	20 (9.3)	0.014	2.15 (1.17-3.95)
History of vomiting	No	406	31 (7.1)		1
	Yes	316	14 (4.2)	0.10	0.58 (0.30-1.11)
History of diarrhea	No	611	36 (5.6)		1
	Yes	111	9 (7.5)	0.41	1.38 (0.64-2.94)
Skin abnormalities	No	289	31 (9.7)		1
	Yes	14	3 (17.7)	0.30	2.00 (0.54-7.34)
Skin rash	No	290	33 (10.2)		1
	Yes	11	1 (8.3)	0.83	0.80 (0.10-6.39)
Skin depigmentation	No	294	34 (10.4)		1
	Yes	9	0 (0.0)	-	-
Lymphadenopathy	No	684	36 (5.0)		1
	Yes	3	0 (0.0)	-	-
Body temperature (axillary)	Normothermia (35.0-37.4°C)	141	9 (6.0)		1
	Hypothermia (<35.0°C)	2	0 (0.0)	-	-

	Hyperthermia ( $\geq 37.5^{\circ}\text{C}$ )	582	37 (6.0)	0.10	1.00 (0.47-2.11)
High fever $\geq 38.5^{\circ}\text{C}$		336	21 (5.9)		1
		389	25 (6.0)	0.93	1.03 (0.57-1.87)
Fever > 5 days	No	152	31 (16.9)		1
	Yes	13	1 (7.1)	0.36	0.38 (0.05-2.99)
Stiff neck	No	708	45 (6.0)		1
	Yes	12	1 (7.7)	0.80	1.31 (0.17-10.31)
Bulging of fontanel	No	484	26 (5.1)		1
	Yes	14	0 (0.0)	-	-
Signs of meningitis	No	479	26 (5.2)		1
	Yes	23	1 (4.2)	0.83	0.80 (0.10-6.16)
Able to breastfeed	No	403	28 (6.5)		1
	Yes	219	6 (2.7)	0.042	0.39 (0.16-0.97)
Weakness	No	474	23 (4.6)		1
	Yes	211	17 (7.5)	0.13	1.66 (0.87-3.17)
Unconsciousness	No	632	36 (5.4)		1
	Yes	48	3 (5.9)	0.96	1.03 (0.30-3.50)
Restlessness	No	666	37 (5.3)		1
	Yes	15	1 (6.3)	0.86	1.2 (0.15-9.33)
Convulsions	No	476	39 (7.6)		1
	Yes	224	7 (3.0)	0.019	0.38 (0.17-0.85)
Blantyre come scale $\leq 4$	No	640	39 (5.7)		1
	Yes	56	6 (9.7)	0.22	1.76 (0.71-4.33)
Cardiac fatigue <sup>4</sup>	No	260	32 (11.0)		1
	Yes	34	2 (5.6)	0.33	0.48 (0.11-2.08)
Cyanosis	No	662	35 (5.0)		1
	Yes	3	0 (0.0)	-	-
Heartrate <sup>5</sup>	Normocardia	265	12 (4.3)		1
	Tachycardia	318	23 (6.7)	0.20	1.60 (0.78-3.27)
	Bradycardia	37	1 (2.6)	0.63	0.60 (0.07-4.72)
Circulation impaired <sup>6</sup>	No	42	7 (14.3)		1
	Yes	644	29 (4.3)	0.004	0.27 (0.11-0.65)
Cold extremities	No	686	35 (4.9)		1
	Yes	6	1 (14.3)	0.28	3.27 (0.38-27.88)
Capillary refill time $\geq 2$	No	144	23 (13.8)		1
	Yes	536	12 (2.2)	0.000	0.14 (0.07-0.29)
Prostration	No	534	33 (5.8)		1
	Yes	161	13 (7.5)	0.43	1.31 (0.67-2.54)
Palmar pallor	No	292	11 (3.6)		1
	Yes	401	25 (5.9)	0.17	1.65 (0.80-3.42)
Poor general conditions	No	301	16		1
	Yes	360	22 (5.8)	0.68	1.15 (0.59-2.23)
Cough	No	477	23 (4.6)		1
	Yes	245	22 (8.2)	0.04	1.86 (1.02-3.41)
Difficulties breathing	No	692	43 (5.9)		1
	Yes	30	2 (6.3)	0.93	1.07 (0.25-4.64)
Fast breathing	No	650	39 (5.7)		1
	Yes	49	6 (10.9)	0.12	2.04 (0.82-5.06)
Breathing deeply	No	696	45 (6.1)		1
	Yes	25	1 (3.9)	0.64	0.62 (0.08-4.67)
Drawing-in of chest wall	No	687	44 (6.0)		1
	Yes	34	2 (5.6)	0.91	0.92 (0.21-3.95)

Stridor	No	688	36 (5.0)		1
	Yes	2	0 (0.0)	-	-
Respiratory distress	No	654	32 (4.7)		1
	Yes	35	3 (7.9)	0.41	1.43 (0.61-3.35)
Breathing rate <sup>7</sup>	Normal	300	14 (4.5)		1
	Fast	266	16 (5.7)	0.50	1.29 (0.62-2.69)
	Slowly	50	3 (5.7)	0.70	1.29 (0.36-4.64)
Diarrhea	No	580	35 (5.7)		1
	Yes	142	9 (6.0)	0.90	1.05 (0.49-2.23)
Heavy diarrhoea <sup>8</sup>	No	86	5 (5.5)		1
	Yes	42	4 (8.7)	0.48	1.64 (0.42-6.42)
Watery stool	No	143	22 (13.3)		1
	Yes	121	9 (6.9)	0.08	0.48 (0.21-1.09)
Mucous stool	No	64	5 (7.3)		1
	Yes	78	4 (4.9)	0.54	0.66 (0.17-2.55)
Bloody stool	No	138	8 (5.5)		1
	Yes	4	1 (20.0)	0.21	4.31 (0.43-43.20)
Vomiting	No	388	22 (5.4)		1
	Yes	334	23 (6.4)	0.53	1.21 (0.66-2.22)
Vomiting everything	No	192	10 (5.0)		1
	Yes	139	12 (8.0)	0.25	1.66 (0.70-3.95)
Thirsty drinking	No	303	30 (9.0)		1
	Yes	418	15 (3.5)	0.002	0.36 (0.19-0.69)
Sunken eyes	No	686	36 (5.0)		1
	Yes	6	0 (0.0)	-	-
Apathy	No	668	36 (5.1)		1
	Yes	24	0 (0.0)	-	-
Tenting of skin	No	689	35 (4.8)		1
	Yes	3	1 (25.0)	0.11	6.56 (0.67-64.70)
Ascites	No	691	35 (4.8)		1
	Yes	1	0 (0.0)	-	-
Splenomegaly	No	497	11 (2.2)		1
	Yes	58	7 (10.8)	0.001	5.45 (2.03-14.61)
Hepatomegaly	No	501	12 (2.3)		1
	Yes	50	2 (3.9)	0.51	1.67 (0.36-7.67)
Dehydration <sup>9</sup>	No	656	32 (4.7)		1
	Yes	12	3 (20.0)	0.015	5.13 (1.38-19.07)
Acute malnutrition	No	465	28 (5.7)		1
	Yes	127	11 (8.0)	0.33	1.44 (0.70-2.97)
Wasted <sup>10</sup>	No	709	46 (6.1)		1
	Yes	14	0 (0.0)	-	-
Malnourished	No	675	44 (6.1)		1
	Yes	44	1 (2.2)	0.30	0.35 (0.47-2.59)
Poor feeding	No	268	16 (5.6)		1
	Yes	425	28 (6.2)	0.76	1.10 (0.59-2.08)
Reduced skin turgor	No	159	28 (15.0)		1
	Yes	0	1 (100.0)	-	-
Jaundice	No	624	31 (4.7)		1
	Yes	68	5 (6.9)	0.43	1.48 (0.56-3.93)
Edema of feed	No	685	36 (5.0)		1
	Yes	6	0 (0.0)	-	-
Kwashiorkor	No	680	41 (5.7)		1
	Yes	4	0 (0.0)	-	-
Ear pain	No	297	33 (10.0)		1
	Yes	6	1 (14.3)	0.71	1.50 (0.18-12.84)

Ear discharge	No	302	34 (10.1)		1
	Yes	1	0 (0.0)	-	-
Any ear symptoms	No	247	27 (9.9)		1
	Yes	6	1 (14.3)	0.70	1.52 (0.10-13.14)
Throat pain	No	303	33 (9.8)		1
	Yes	0	1 (100.0)	-	-
Ear pus	No	253	28 (10.0)		1
	Yes	0	0 (0.0)	-	-
Blocked nose	No	612	41 (6.3)		1
	Yes	87	4 (4.4)	0.48	0.69 (0.24-1.96)
Rhinorrhea	No	478	33 (6.5)		1
	Yes	220	12 (5.2)	0.50	0.79 (0.40-1.56)
Rhinitis	No	456	31 (6.4)		1
	Yes	242	14 (5.5)	0.63	0.85 (0.44-1.63)
White blood cell count <sup>11</sup>	Normocytic	379	15 (3.8)		1
	Leukocytosis	266	28 (9.5)	0.003	2.66 (1.39-5.08)
	Leukopenia	77	3 (3.8)	0.98	0.98 (0.28-3.48)
Anemia <sup>12</sup>	No	98	6 (5.8)		1
	Yes	625	40 (6.0)	0.92	1.05 (0.43-2.53)
Severe anemia <8 mg/dl	No	442	18 (3.9)		1
	Yes	281	28 (9.1)	0.004	2.45 (1.33-4.51)
Parasitemia	<10,000/ $\mu$ l	153	15 (8.9)		1
	>10,000/ $\mu$ l	441	17 (3.7)	0.01	0.39 (0.19-0.81)
From Agogo	No	392	24 (5.8)		1
	Yes	333	22 (6.2)	0.80	1.08 (0.59-1.96)
Born in hospital	No	173	4 (2.3)		1
	Yes	380	15 (3.8)	0.35	1.70 (0.56-5.22)
Religion	Christian	527	32 (5.7)		1
	Moslem	83	2 (2.4)	0.21	0.40 (0.09-1.69)
	Other	32	2 (5.9)	0.97	1.03 (0.24-4.49)
Traditional healer	No	82	17 (17.2)		1
	Yes	17	6 (26.1)	0.33	1.70 (0.59-4.95)
Ethnicity	Akan and Others	536	31 (5.5)		1
	Northerners	188	15 (7.4)	0.32	1.38 (0.73-2.61)
Number children <5 <sup>13</sup>	No	157	9 (5.4)		1
	Yes	525	31 (5.6)	0.94	1.03 (0.48-2.21)
Mother $\geq$ 30 years	No	326	25 (7.1)		1
	Yes	334	21 (5.9)	0.82	0.52 (0.45-1.49)
Mosquito net	No	523	33 (5.9)		1
	Bed/ window net	119	1 (0.1)	0.05	0.13 (0.02-0.98)
Income management	Difficult	508	29 (5.4)		1
	Not difficult	132	7 (5.0)	0.87	0.93 (0.40-2.17)
Washing their hands	Not before meals	50	8 (13.8)		1
	Before meals	592	27 (4.4)	0.003	0.29 (0.12-0.66)
Cooking	Outside	40	5 (11.1)		1
	Kitchen	134	19 (12.4)	0.81	1.13 (0.40-3.23)
People eating from one jar	1-4	173	22 (11.3)		1
	5-12	44	9 (17.0)	0.27	1.60 (0.69-3.74)
Electricity	No	259	16 (5.8)		1
	Yes	383	20 (5.0)	0.59	0.73 (0.23-2.29)
Food storage	Heating/ smoking	82	21 (20.4)		1
	Freezing	16	2 (11.1)	0.36	0.49 (0.10-2.29)

Water supply	River/Well	103	10 (8.9)		1
	Tap/pipe	539	26 (4.6)	0.07	0.50 (0.23-1.06)
Toilet in house	No	312	25 (7.4)		1
	Yes	330	10 (2.9)	0.29	0.52 (0.15-1.77)
House type	Cement/Brick	473	26 (5.2)		1
	Wood/ Mud	169	10 (5.6)	0.85	1.08 (0.51-2.28)
Relative abroad	No	185	28 (13.2)		1
	Yes	31	3 (8.8)	0.48	0.64 (0.18-2.23)
Mother literate	No	175	24 (12.1)		1
	Yes	41	7 (14.6)	0.64	1.24 (0.50-3.01)
Father literate	No	85	9 (9.6)		1
	Yes	130	22 (14.5)	0.26	1.60 (0.70-3.64)
Mother employment	No	50	4 (7.4)		1
	Yes	591	32 (5.1)	0.48	0.68 (0.23-1.99)
Father employment	No	28	1 (3.5)		1
	Yes	599	35 (5.5)	0.63	1.64 (0.22-12.38)
Health insurance	No	236	13 (5.2)		1
	Yes	406	23 (5.4)	0.38	0.60 (0.19-1.88)
Socioeconomic status	Low	218	17 (7.2)		1
	Medium	216	11 (4.9)	0.29	0.65 (0.30-1.43)
	High	254	13 (4.9)	0.27	0.66 (0.31-1.38)

<sup>1</sup> Vaccination against tuberculosis, diphtheria, pertussis, tetanus, measles and yellow fever

<sup>2</sup> Underweight (weight-for-age), wasting (weight-for-height) and stunting (height/length-for-age) using 2006 WHO child growth standards. Cut-off points were Z-scores of  $\pm 2$  as suggested by WHO in 1997.

<sup>3</sup> Children, who cannot hold their head at the age of three months, roll over at the age of 6 months, sit unsupported at the age of 9 months, stand unsupported at the age of 12 months or walk single steps at the age of 18 months

<sup>4</sup> Clinical signs of heart failure

<sup>5</sup> Bradycardia defined as <110 beats per minute (bpm) aged 0-<1 month, <100 bpm aged 1-35 months, <80 bpm aged 36-155 months, <70 bpm aged 156-179 months; Tachycardia defined as >150 beats per minute (bpm) aged 0-<1 month, >140 bpm aged 1-11 months, >120 bpm aged 12-35 months, >110 bpm aged 36-155 months, >100 bpm aged 156-179 months

<sup>6</sup> Circulation impaired=cold extremities and/or capillary refill time  $\leq 2$  sec. and/or tachycardia

<sup>7</sup> Bradypnea defined as <46 breaths per minute (brpm) aged 0-<1 month, <34 brpm aged 1-11 months, <16 brpm aged 12-35 months, <20 brpm aged 36-71 months, <16 brpm aged 72-155 months, <12 brpm aged 156-179 months<sup>f</sup>; Tachypnea defined as <46 breaths per minute (brpm) aged 0-<1 month, <34 brpm aged 1-11 months, <16 brpm aged 12-35 months, <20 brpm aged 36-71 months, <16 brpm aged 72-155 months, <12 brpm aged 156-179 months

<sup>8</sup> Diarrhea >7 days

<sup>9</sup> Dehydration  $\geq$ dehydration grade 1 (3-5%)

<sup>10</sup> Subjective interpretation of clinician

<sup>11</sup> Leukocytosis=white blood cell count  $\geq 10,000$  / $\mu$ l; Leukopenia=white blood cell count  $< 4,000$  / $\mu$ l

<sup>12</sup> Anemia: Hemoglobin  $< 11$  aged  $< 7$  years, Hemoglobin  $< 12$  aged 7-14 years

<sup>13</sup> Number of children living in the family



## Kapitel 5 Ergebnisse und Diskussion

### 5.1 Zusammenfassung der wichtigsten Ergebnisse

Die wichtigsten Ergebnisse dieser Arbeit umfassen die Beschreibung der Inzidenzen bakterieller Erreger in einem malariaendemischen Gebiet in Ghana bei Kindern unter 5 Jahren, sowie die Identifikation von klinischen Prädiktoren für eine Bakteriämie bei Kindern unter 15 Jahren mit einer mikroskopisch bestätigten Malaria.

Nicht-typhoide Salmonellen (NTS) waren die am häufigsten isolierten Erreger bei Kindern unter 5 Jahren (n=129; 53,3%). Das höchste Risiko für eine invasive NTS-Infektion wurde in den Altersgruppen 6-11 (OR=4,2; CI=1,9-9,4) und 12-23 Monaten (OR=4,4; CI=2,0-9,5) festgestellt, bei denen jeweils in 13,8% (n=30) und 14,3% (n=45) NTS im Blut nachgewiesen wurden. Die häufigsten Erreger in der Altersgruppe unter einem Monat waren *S. aureus* (n=6; 26,1%) und *Klebsiella* spp. (n=6; 26,1%). Die jährliche kumulative Inzidenz von Bakteriämien war 46,6 Fälle/1000 Kinder (CI=40,9-52,2). Die kumulative Inzidenz der vier häufigsten isolierten Erreger war 25,2 (CI=21,1-29,4) für NTS, 6,3 (CI=4,1-8,4) für *S. aureus*, 4,3 (CI=2,5-6,1) für *S. pneumoniae*, und 3,3 (CI=1,8-4,9) für *Salmonella* ser. Typhi. 9,1% (n=11) der Kinder mit Bakteriämie sind verstorben im Gegensatz zu 4,8% (n=27) der Kinder ohne nachweisliche Bakteriämie. Siebenundvierzig Kinder (69,1%) wurden präklinisch von ihren Eltern mit Amoxicillin anbehandelt, wogegen 85% der NTS-Isolate resistent waren. Die beste antibiotische Abdeckung konnte mit Ceftriaxon erreicht werden, für das alle Isolate von NTS, *S. pneumoniae* und *Salmonella* ser. Typhi sensibel waren. Kinder unter 5 Jahren, bei denen eine Bakteriämie nachgewiesen wurde, waren häufiger zu leicht (*underweight*) für ihr Alter und ihre Größe (*wasted*), jedoch nicht signifikant zu klein für ihr Alter (*stunted*).

Im Rahmen der medizinischen Erstuntersuchung wurden im Falle einer vermuteten isolierten Malariainfektion 46 Kinder (7,5%) mit einer Bakteriämie klinisch primär nicht erkannt. Umgekehrt wurde im Falle einer vermuteten isolierten Sepsis in 6,0% der Fälle eine Malaria-Infektion klinisch nicht diagnostiziert.

Bei fast dreiviertel der Kinder mit Malaria-Parasitämie zeigte sich eine hohe Parasitämie mit  $\geq 10.000$  Plasmodien/ml, bzw. in 31,3% der Fälle eine 4%-Hyperparasitämie nach WHO. In 46% wurde eine bakteriämische Koinfektion nachgewiesen.

Im bivariaten Regressionsmodell verdoppelten sich beim Vorhandensein der Symptome „Husten“ oder „Husten in jüngster Vergangenheit“ die Wahrscheinlichkeit für unter 15-Jährige an einer Bakteriämie zu leiden. Bei Stratifizierung der Ergebnisse nach hoher Parasitenzahl  $\geq 10.000$  zeigt sich dieser Effekt für „Husten“, „interkostale Einziehungen“ und „respiratorischer Distress“ noch deutlicher. Dehydrierung und Splenomegalie erhöhen ebenfalls die Wahrscheinlichkeit einer Bakteriämie bei Kindern. Hautinfektionen wurden selten diagnostiziert, im Falle eines Nachweises vervierfachten diese jedoch die Wahrscheinlichkeit einer bakteriämischen Koinfektion.

In den laborchemischen Untersuchungen wiesen die Parameter „schwere Anämie“ (Hämoglobinwert  $< 8$  mg/dl) und „Leukozytose“ ( $> 10.000/\mu\text{l}$ ) auf eine Koinfektion hin. Dieser Effekt hebt sich für die „schwere Anämie“ bei Kindern mit hoher Parasitämie auf.

Wurden dem Kind vor dem Eintreffen im Krankenhaus Malariamedikamente verabreicht und trotzdem nicht die klinische Symptomatik verbessert, war das Risiko einer Koinfektion um das Vierfache erhöht. Dahingegen können Hygienemaßnahmen wie Händewaschen vor der Mahlzeit das Risiko einer Koinfektion halbieren.

In der multivariaten Regressionsanalyse zeigten die klinischen Parameter „Dehydratation“, „Splenomegalie“ und „Husten“ bei Kindern mit hoher Parasitenzahl die stärkste Assoziation mit einer Koinfektion. Bei Kindern mit niedriger Parasitenzahl waren es „schwere Anämie“, „Leukozytose“ und „Erbrechen“.

Eine Kombination mehrerer Parameter oder die Erstellung eines Algorithmus durch eine CART-Analyse erbrachte keine Verbesserung der Aussagekraft der Einzelvariablen oder konnte auf Grund zu geringer Fallzahl nicht durchgeführt werden.

## **5.2 Limitierungen der Studie**

Interpretation und Übertragbarkeit der Studienergebnisse werden durch den Studienaufbau und die methodologische Vorgehensweise limitiert und sollen im Folgenden diskutiert werden.

Die Daten, welche als Ergebnisgrundlage für beide Veröffentlichungen dienten, wurden in einem ländlichen ghanaischen Lehrkrankenhaus und dessen Einzugsgebiet erhoben. Auf diesen Daten basierende Ergebnisse können nur

bedingt auf andere Regionen mit ähnlichen sozialen, epidemiologischen und medizinischen Voraussetzungen übertragen werden. Nur Kinder, welche aus eigenem Antrieb durch ihre erwachsenen Begleiter in der pädiatrischen Notaufnahme vorgestellt und auf Grund ihrer schweren Erkrankung in die stationäre Behandlung aufgenommen wurden, wurden in die Analysen eingeschlossen. Hierdurch könnte ein Selektionsfehler entstehen, da finanziell schlechter gestellte Familien, Kinder, die durch traditionelle Heiler behandelt wurden, oder die ein anderes Krankenhaus aufsuchten, in der Berechnung der Inzidenz nicht erfasst wurden. Wir versuchten diesen Effekt zu mildern, indem der Wert  $p$  in der Gleichung 1, Veröffentlichung I, berücksichtigt wurde, welcher den prozentualen Anteil an Eltern in gezielten Umfragen beschreibt, die ihr Kind im Falle einer bestimmten Symptomatik nach Agogo ins Krankenhaus bringen würden. Der Nenner zur Berechnung der Inzidenzen beruht auf Zensus-Daten aus dem Jahr 2004, so dass sich möglicherweise die Inzidenz etwas falsch geschätzt wurde, ein signifikanter Unterschied kann aber nicht erwartet werden. Grundsätzlich sind unterschiedliche Aufnahmezeiten ins Krankenhaus, Selektion der Aufnahmen und Reporting-Fehler häufige Fehlerquellen bei der Inzidenzberechnung von invasiven bakteriellen Erkrankungen, so dass in der Literatur ein Populations-basiertes Modell empfohlen wird [116].

Die Studie wurde vollständig in die Routine des Krankenhauses integriert, so dass Abläufe und Diagnoseschemata realitätsnah abgebildet werden konnten. Jedoch war die Datenqualität im Routineablauf schwer kontrollierbar und Informationen gingen zum Teil auf verschiedenen Handlungsebenen verloren. Sozioökonomische Daten und Informationen zur Krankheitsgeschichte des Kindes durch die erwachsene Begleitperson wurden eventuell selektiv berichtet und unterlagen damit einem Reporting-Fehler.

Im methodologischen Vorgehen gibt es Aspekte, welche bezüglich der Interpretation und Übertragbarkeit der Ergebnisse berücksichtigt werden müssen. Kinder, in deren Blutkulturen bakterielle Kontaminanten gefunden wurden, wurden als nicht-bakteriämisch klassifiziert. Hierdurch wurden möglicherweise ungewöhnliche Erreger von Sepsis als Kontaminanten fehlzugeordnet, was zu einer differentiellen Fehlklassifikation geführt hätte. Bei jüngeren Kindern fiel das Blutvolumen, welches in die Blutkulturflasche inokuliert wurde, manchmal sehr gering aus, was aufgrund

der verringerten Sensitivität zu falsch negativen Ergebnissen und damit zu einer insgesamt geringeren Anzahl an bakteriämischen Fällen geführt haben könnte.

Im Rahmen der klinischen Untersuchung musste der behandelnde Arzt mehrere klinische Kriterien erfassen, welche seiner subjektiven Einschätzung unterlagen, z.B. „kalte Hände“, so dass die direkte Vergleichbarkeit unterschiedlicher Untersucher nicht sicher gestellt werden konnte. Seltene klinische Symptome oder Zeichen (z.B. „Nackensteifigkeit“, „Meningismus“) wurden in inhaltsähnlichen Symptomenkomplexen zusammengefasst (z.B. „Zeichen einer Meningitis“). Hierdurch können falsche Zusammenhänge suggeriert worden sein.

Zur Stratifizierung der Symptomenkomplexe in der Veröffentlichung II wurde der Schwellenwert einer Hyperparasitämie auf Grund von lokalen Beobachtungen auf  $\geq 10.000$  Parasiten/ $\mu\text{l}$  festgelegt. Die WHO definiert eine Hyperparasitämie bei  $>4\%$  Parasiten/ gezählten Erythrozyten, in Gegenden mit niedrigen Übertragungsraten von *P. falciparum* wird häufig  $0,5\%$  als Schwellenwert für schwere Malaria gewählt [117]. Die Heterogenität der Definitionen der Hyperparasitämie kann die Vergleichbarkeit mit anderen Studien vermindern, zeigt aber Tendenzen auf.

Auf Grund des großen Daten- und Variablenvolumens besteht die Gefahr des sogenannten *Confounding*. Ein *Confounder* ist ein Faktor, der sowohl die abhängige, als auch die unabhängige Variable beeinflusst und damit zu einer scheinbaren Assoziation zwischen den beiden Variablen führt [118]. Durch den Einsatz selektiver Stratifizierung und die Anwendung von einer multivariaten Regressionsanalyse wurde das *Confounding* reduziert.

Bei der Interpretation der Daten muss die relativ geringe absolute Anzahl an Koinfektion ( $n=46$ ;  $6\%$ ) berücksichtigt werden. Die geringe Zahl kann durch Datenverluste im Rahmen der Erhebung zustande gekommen sein. Allerdings beschreibt die aktuelle Studienlage bakterielle Koinfektionen je nach Altersgruppe und Malariavorkommen ebenfalls nur in  $0,4-18,5\%$  der Kinder mit schweren fieberhaften Erkrankungen [56,106]. Ein noch größeres Patientenkollektiv und eine kontrollierte Datenakquise könnten gegebenenfalls Differenzierungskriterien hervorheben, die in unseren Berechnungen statistisch nicht gefunden werden konnten. Im Rahmen der Datenerfassung und -auswertung könnten genetische (z.B. Sichelzellenanämie) und andere gesundheitliche (z.B. HIV-Infektion) Aspekte außer

Acht gelassen worden sein, welche die Klinik, den Krankheitsverlauf und Krankheitsausgang relevant beeinflusst haben könnten.

### 5.3 Diskussion und Ausblick

Eine Koinzidenz von Malaria und systemischen bakteriellen Infektionen (SBI) wurde seit den 1920er Jahren durch Guyana und Giglioli beschrieben, die einen Anstieg der SBI in der Malariasaison beobachteten. Invasive bakterielle Erkrankungen sind eine häufige Ursache für Krankenhauseinweisungen im subsaharischen Afrika, wobei NTS der am häufigsten isolierte Erreger bei Erwachsenen ist und *S. pneumoniae* bei Kindern dominiert [4]. Die höchste Letalität bei kindlichen invasiven bakteriellen Infektionen ist für *S. pneumoniae* beschrieben [119]. Speziell NTS gewinnt an Bedeutung und etabliert sich in einer immunologischen und epidemiologischen Nische als Koinfektion bei HIV, Malaria und Unterernährung. Gleichzeitig ist die klinische Diagnostik schwierig, da die Symptomatik heterogen ist und unterschiedliche Organsysteme betroffen sein können. Die Autoren sprechen hier von NTS als einer vernachlässigten tropischen Erkrankung [5]. Ergebnisse aus Malawi zeigen zusätzlich die Korrelation von invasiven NTS und *M. tuberculosis* sowie *Cryptococcus neoformans* Infektionen.

In unserem Studiengebiet wiesen 20% der pädiatrischen Patienten, die auf Grund der Schwere der Erkrankung stationär eingewiesen werden mussten, eine Bakteriämie auf, wovon mehr als die Hälfte durch NTS verursacht wurden. Das entspricht einer jährlichen Inzidenz von 25,2/1000 Kindern. Studien aus Kenia und Tansania beschreiben Infektionsraten von zwischen 11 und 13% abhängig von Einschlusskriterien und Alter [56,119,120]. Daten aus Kumasi in Ghana [6] beschreiben ebenfalls 20% invasive bakterielle Infektionen und bestätigen hiermit höhere Inzidenz für Bakteriämien in Ghana im Vergleich zu anderen subsaharischen Ländern.

Bei Kindern aus Gambia konnte gezeigt werden, dass trotz konstanter jährlicher Inzidenzrate von intestinalen NTS-Infektionen die invasiv-systemischen NTS-Infektionen in der Regenzeit parallel mit den Malariafällen anstieg [121]. Ein kausaler Zusammenhang wird durch eine solche Beobachtung nicht begründet, da es sich um einen Paralogismus (in der Epidemiologie engl. *Ecological fallacy*) handeln kann. *S. pneumoniae* als dominanter Erreger der Trockenzeit [122] und häufigste Ursache

von pädiatrischen invasiven bakteriellen Infektionen zeigt im Gegensatz dazu diese zeitliche Korrelation nicht [4].

Es wird postuliert, dass für die Koinzidenz von NTS und Malaria eine eingeschränkte mechanische und biologische Barrierefunktion der Darmschleimhaut ursächlich sein könnte. Im Maus-Experiment konnte der Zusammenhang zwischen einem erhöhten Spiegel an Hämoxygenase, welches bei einer Infektion mit Malariaerregern produziert wird, und einer reduzierten Immunabwehr im Gastrointestinaltrakt nachgewiesen werden [123]. Die Häufung von *P.-falciparum*-infizierten Erythrozyten und damit einhergehende veränderte rheologische Eigenschaften in intestinalen Villi können die Zellfunktion stören [124,125]. Ein Review aus dem Jahr 2014, welches bakterielle Koinfektionen bei febrilen Kindern mit Malaria analysiert, bestätigte ein prozentual häufigeres Vorkommen von NTS als Koinfektion bei Kindern mit Malaria als bei alleiniger bakterieller Infektion [106,107,126]. Allgemein zeigten Kinder mit Koinfektion eine fast verdoppelte Mortalität (22%) verglichen mit Kindern bei denen lediglich eine Malaria diagnostiziert wurde (12%) [106]. Im bivariaten Regressionsmodell konnten wir die positive Assoziation von Malaria und Bakteriämie jedoch nicht bestätigen, was eventuell durch die Heterogenität der Erreger zu erklären ist. Eine Stratifizierung nach Erregertyp war auf Grund der kleinen Fallzahlen nicht möglich.

Algorithmen zur Diagnostik invasiver bakterieller Erkrankungen bei Kindern sind klinisch etabliert, jedoch zeigen Studien, dass die Anwendbarkeit in malariaendemischen Gebieten nur begrenzt zuverlässig ist [55,56]. So werden ein Drittel der invasiven bakteriellen Infektionen durch aktuelle WHO-Kriterien [54] in malariaendemischen Gebieten nicht identifiziert und die Sensitivität der klinischen Diagnosekriterien sinkt mit steigender Parasitenzahl [55]. Als Ursache steht die große Überschneidung der klinischen Manifestation im Vordergrund. So wird durch Studien belegt, dass Infektionen mit Malariaerregern häufig von einer Pneumonie, Meningitis oder Durchfallerkrankung klinisch schwer zu differenzieren sind [10,85,99]. Ergebnisse aus Tansania zeigen für die klinischen Kriterien "schwere Anämie" (Hämoglobin <5 g/dl), "schwerer Erschöpfungszustand" und "Fieber >38°C" eine signifikante Verbesserung der Sensitivität der klinischen WHO-Kriterien bezüglich der Anzahl der detektierten Bakteriämien. Unsere Ergebnisse weisen

entsprechend eine Abhängigkeit klinischer Symptome zur Identifizierung von bakteriellen Koinfektionen von der Höhe der Parasitämie auf. Die Analysen bestätigen die positive Assoziation von bakteriellen Koinfektionen mit schwerer Anämie, unabhängig von der Parasitenzahl. Wird nach niedriger Parasitenzahl stratifiziert ( $<10,000/\mu\text{l}$ ) bleibt die schwere Anämie als wichtigstes Differenzierungskriterium neben Leukozytose und Erbrechen bestehen. Für Kinder mit hoher Parasitämie ( $\geq 10.000/\mu\text{l}$ ) zeigen die Parameter „Dehydrierung“, „Splénomegalie“ und „Husten“ die stärkste Assoziation. Hohes Fieber konnte nicht als Differenzierungskriterium identifiziert werden, war jedoch signifikant mit einer invasiven bakteriellen Infektion unabhängig vom Parasitenstatus assoziiert. Ein schwerer Erschöpfungszustand zeigte in unseren Berechnungen keine Relevanz in der Diagnostik einer Koinfektion.

Die effektivste antibiotische Abdeckung der vier häufigsten Erreger, NTS, *S. aureus*, *S. pneumoniae* und *S. Typhi*, konnte durch Ceftriaxon erreicht werden. Hiermit werden die WHO-Empfehlungen zur kalkulierten Antibiotikatherapie von 2000 bestätigt, welche häufige Resistenzen gegen Aminopenicilline im subsaharischen Afrika beschreiben [127]. Eine hohe Anzahl an NTS-Isolaten, welche Resistenzen gegen Amoxicillin zeigten, konnte sowohl in der Gruppe der Koinfektionen (85%) als auch bei bakteriämischen Kindern ohne Malaria (82%) diagnostiziert werden, was u.a. durch die inkorrekte häusliche Anwendung dieses Medikamentes verursacht werden könnte. Sechssundsiebzig Prozent der stationär aufgenommenen Kinder der vorliegenden Studie erhielten in häuslicher Umgebung durch ihre Eltern oder Betreuer Amoxicillin und lediglich 7% Cloxacillin sowie jeweils 4% Cefuroxim, Flucloxacillin oder Erythromycin [25]. Resistenzmuster aus Tansania bestätigen ausgeprägte Resistenzen von gramnegativen Erregern gegen die gängigen Antibiotika Ampicillin (95%), Co-Trimoxazol (90%), Tetracyclin (90%) und Gentamycin (80%) [128]. Ciprofloxacin bietet eine ähnlich gute Abdeckung wie Ceftriaxon bei Salmonellen-Infektionen, jedoch konnten in mehr als 30% Resistenzen für *S. aureus* und *S. pneumoniae* getestet werden.

In nachfolgenden Studien sollten neben klinischen Parametern auch potentielle labordiagnostische Blutparameter untersucht werden, welche in die Entwicklung von

Schnelltests einfließen könnten. Zusammenfassend ist eine klinische Differenzierung von bakteriell koinfizierten Kindern und rein parasitärischen Kindern eine Herausforderung und sollte durch Labordiagnostik und die Anwendung von Blutkulturen untermauert werden.



## Kapitel 6 Zusammenfassung

In den tropischen Entwicklungsländern des subsaharischen Afrikas besteht immer noch ein deutlicher Wissensrückstand bezüglich Inzidenz, Klinik und Therapiemöglichkeiten vieler vorherrschenden Infektionskrankheiten. Speziell die systemische Infektion mit nicht-typhoiden Salmonellen (NTS), welche häufig mit Malaria, HIV und Unterernährung assoziiert ist, ist ein ernstzunehmendes Gesundheitsproblem bei Kindern und kann als vernachlässigte Krankheit angesehen werden. Eine flächendeckende Erfassung der Erreger von bakterieller Sepsis im subsaharischen Afrika existiert noch nicht. Speziell in malariaendemischen Gebieten ist die diagnostische Differenzierung von Malaria und Sepsis eine Herausforderung für die behandelnden Ärzte. Studien zeigen, dass Malaria häufig überdiagnostiziert und invasive bakterielle Erkrankungen unterdiagnostiziert werden.

Ziel dieser Arbeit war es, die Inzidenzen der häufigsten Erreger in einem ländlichen Gebiet in Ghana zu schätzen und deren Empfänglichkeit gegenüber Antibiotika zu untersuchen. Durch die Erfassung und Analyse einer großen Anzahl klinischer und sozioökonomischer Faktoren bei der stationären Aufnahme des Kindes sollten Parameter bestimmt werden, welche die Verdachtsdiagnose einer bakteriellen Koinfektion malariakrankter Kinder stärken können.

Der Studienzeitraum erstreckte sich von Mai 2007 bis Februar 2011. Nicht-typhoide Salmonellen waren die am häufigsten isolierten Erreger bei Kindern unter 5 Jahren ( $n=129$ ; 53,3%). Die kumulative Inzidenzen der vier häufigsten isolierten Erreger waren 25,2 Fälle/1000 Kinder (CI 21,1-29,4) für NTS, 6,3 (CI 4,1-8,4) für *S. aureus*, 4,3 (CI 2,5-6,1) für *S. pneumoniae*, und 3,3 (CI 1,8-4,9) für *S. Typhi*. Die beste antibiotische Abdeckung konnte mit Ceftriaxon erreicht werden, für das alle Isolate von NTS, *S. pneumoniae* und *S. Typhi* sensibel waren.

In 46% der parasitärischen Kinder wurde eine Koinfektion von Bakterien und Malariaparasiten nachgewiesen. In der multivariaten Regressionanalyse zeigten „Dehydratation“, „Splenomegalie“ und „Husten“ bei Kindern mit hoher Parasitenzahl die stärkste Assoziation mit einer Koinfektion. Bei Kindern mit niedriger Parasitenzahl waren es „schwere Anämie“, „Leukozytose“ und „Erbrechen“. Eine Kombination mehrerer Parameter oder die Erstellung eines Algorithmus erbrachte keine

Verbesserung der Aussagekraft der Einzelvariablen. Die in dieser Arbeit herausgearbeiteten klinischen Diagnosekriterien einer Koinfektion sollten in größeren Patientenkollektiven unter kontrollierten Studienverhältnissen verifiziert und in bereits etablierte Algorithmen integriert werden. Die Kombination von klinischen Diagnosekriterien mit labordiagnostischen Schnelltests zur Erfassung und Differenzierung von Malaria und Bakteriämien ist hierbei essenziell.

## Kapitel 7 Summery

A lack of knowledge about incidence, clinical presentation und therapy of infectious disease is still a challenge for clinicians in sub-Saharan Africa. Invasive blood stream infection with non-typhoidal salmonella constitutes a relevant health issue and is often associated with malaria, HIV and malnutrition. A comprehensive assessment of epidemiological data of systemic bacterial blood stream infection in sub-Saharan Africa has not been performed yet. Clinical differentiation of Malaria and Sepsis is still a problem to clinicians, especially in malaria endemic areas. Studies suggest that bacteremia is often misdiagnosed as malaria, which results in overdiagnosis of malaria and accordingly underestimation of incidence of systemic bacterial blood stream infections.

The objective of this study was to calculate the incidence of the most frequent bacterial pathogens in a rural area in Ghana and to analyze sensitivity to common antibiotics. Furthermore, by systematical collection of clinical and socioeconomic data, we aimed to identify clinical signs and syndromes, which are associated with bacterial co-infection. The study period was defined from May 2007 to February 2011.

The most frequently isolated pathogen was non-typhoidal salmonella in children <5 years of age (n=129; 53.3%). The cumulative incidence of the four most frequent isolates were 25.2 cases/1,000 children (CI 21.1-29.4) for NTS, 6.3 (CI 4.1-8.4) for *S. aureus*, 4.3 (CI 2.5-6.1) for *S. pneumoniae* and 3.3 (CI 1.8-4.9) for *S. Typhi*. Best antibiotic coverage was generated by ceftriaxone to which all isolates of NTS, *S. pneumoniae* and *S. Typhi* were sensitive.

In 6% (n=46) of parasitemic children bacterial co-infection was detected. *Dehydration*, *splenomegaly* and *caughing* showed the strongest association with co-infection in highly parasitemic children (parasites  $\geq 10,000/\mu\text{l}$ ). In children with low parasite count ( $<10,000/\mu\text{l}$ ), *severe anemia*, *leukocytosis* and *vomiting* were strongest factors. A combination of multiple variables or the generation of an algorithm with these factors could not increase validity of the results.

Clinical diagnostic criteria should be validated in a larger patient population under standardized conditions. Clinical algorithms for detection of bacterial infections may be extended for malaria endemic areas, accordingly. The combination of clinical diagnostic criteria and diagnostic rapid tests is essential.

## Kapitel 8 Referenzen

1. Bhutta ZA, Sommerfeld J, Lassi ZS, Salam RA, Das JK. Global burden, distribution, and interventions for infectious diseases of poverty. *Infect Dis poverty*. 2014;3: 21. doi:10.1186/2049-9957-3-21.
2. Molyneux DH, Hotez PJ, Fenwick A. “Rapid-impact interventions”: how a policy of integrated control for Africa’s neglected tropical diseases could benefit the poor. *PLoS Med*. 2005/10/11 ed. 2005;2: e336. doi:10.1371/journal.pmed.0020336.
3. Hotez PJ, Molyneux DH, Fenwick A, Kumaresan J, Sachs SE, Sachs JD, et al. Control of neglected tropical diseases. *N Engl J Med*. 2007/09/07 ed. 2007;357: 1018–1027. doi:10.1056/NEJMra064142.
4. Reddy EA, Shaw A V, Crump JA. Community-acquired bloodstream infections in Africa: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Infect Dis*. 2010/06/01 ed. 2010;10: 417–432. doi:10.1016/S1473-3099(10)70072-4.
5. Feasey NA, Dougan G, Kingsley RA, Heyderman RS, Gordon MA. Invasive non-typhoidal salmonella disease: an emerging and neglected tropical disease in Africa. *Lancet*. 2012/05/17 ed. 2012;379: 2489–2499. doi:10.1016/S0140-6736(11)61752-2.
6. Evans JA, Adusei A, Timmann C, May J, Mack D, Agbenyega T, et al. High mortality of infant bacteraemia clinically indistinguishable from severe malaria. *QJM*. 2004/08/20 ed. 2004;97: 591–597. doi:10.1093/qjmed/hch093 97/9/591 [pii].
7. Leslie T, Mikhail A, Mayan I, Anwar M, Bakhtash S, Nader M, et al. Overdiagnosis and mistreatment of malaria among febrile patients at primary healthcare level in Afghanistan: observational study. *BMJ*. 2012/07/27 ed. 345: e4389.
8. O’Dempsey TJ, McArdle TF, Laurence BE, Lamont AC, Todd JE, Greenwood BM. Overlap in the clinical features of pneumonia and malaria in African children. *Trans R Soc Trop Med Hyg*. 1993/11/01 ed. 1993;87: 662–665.
9. English M, Punt J, Mwangi I, McHugh K, Marsh K. Clinical overlap between malaria and severe pneumonia in Africa children in hospital. *Trans R Soc Trop Med Hyg*. 1996/11/01 ed. 1996;90: 658–662.
10. Berkley JA, Mwangi I, Mellington F, Mwarumba S, Marsh K. Cerebral malaria versus bacterial meningitis in children with impaired consciousness. *QJM*. 1999/05/18 ed. 1999;92: 151–157.
11. Crump JA, Ramadhani HO, Morrissey AB, Msuya LJ, Yang LY, Chow SC, et al. Invasive bacterial and fungal infections among hospitalized HIV-infected and HIV-uninfected children and infants in northern Tanzania. *Trop Med Int Heal*. 2011/04/08 ed. doi:10.1111/j.1365-3156.2011.02774.x.
12. Gwer S, Newton CR, Berkley JA. Over-diagnosis and co-morbidity of severe malaria in African children: a guide for clinicians. *Am J Trop Med Hyg*. 2008/01/31 ed. 2007;77: 6–13.

13. Amexo M, Tolhurst R, Barnish G, Bates I. Malaria misdiagnosis: effects on the poor and vulnerable. *Lancet*. 2004/11/24 ed. 2004;364: 1896–1898. doi:S0140-6736(04)17446-1 [pii] 10.1016/S0140-6736(04)17446-1.
14. Semmelweis IP. Die Aetiologie, der Begriff und die Prophylaxis des Kindbettfiebers. Budapest and Vienna: Hartleben. 1861.
15. Lister J. On the Antiseptic Principle in the Practice of Surgery. *Br Med J*. 1867/09/21 ed. 1867;2: 246–248.
16. Lister J. An Address on the Antiseptic System of Treatment in Surgery. *Br Med J*. 1868/07/18 ed. 1868;2: 53–56.
17. Lister J. Remarks on Some Points in the History of Antiseptic Surgery. *Br Med J*. 1908/06/27 ed. 1908;1: 1557–1558.
18. Verhandlungen des 31. Deutschen Kongresses für Innere Medizin. 1914;Band 31: 257–280.
19. Schuster HP. Definition und Diagnose von Sepsis und Multiorganversagen. In: *Intensivtherapie bei Sepsis und Multiorganversagen*. Schuster HP, Werdan K (Hrsg) Berlin, Heidelberg. 1999; 3–26.
20. Bone RC, Balk RA, Cerra FB, Dellinger RP, Fein AM, Knaus WA, et al. Definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis. The ACCP/SCCM Consensus Conference Committee. American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine. 1992. *Chest*. 2010/02/18 ed. 2009;136: e28.
21. Levy MM, Fink MP, Marshall JC, Abraham E, Angus D, Cook D, et al. 2001 SCCM/ESICM/ACCP/ATS/SIS International Sepsis Definitions Conference. *Crit Care Med*. 2003/04/12 ed. 2003;31: 1250–1256. doi:10.1097/01.CCM.0000050454.01978.3B.
22. Goldstein B, Giroir B, Randolph A. International pediatric sepsis consensus conference: definitions for sepsis and organ dysfunction in pediatrics. *Pediatr Crit Care Med*. 2005/01/08 ed. 2005;6: 2–8. doi:10.1097/01.PCC.0000149131.72248.E6.
23. Zaritsky AL. *Pediatric Advanced Life Support Provider Manual*. Dallas, TX: American Heart Association; 2002.
24. Carcillo JA, Fields AI. Clinical practice parameters for hemodynamic support of pediatric and neonatal patients in septic shock. *J Pediatr (Rio J)*. 2003/12/04 ed. 2002;78: 449–466.
25. Nielsen M V, Sarpong N, Krumkamp R, Dekker D, Loag W, Amemasor S, et al. Incidence and Characteristics of Bacteremia among Children in Rural Ghana. *PLoS One*. 2012/09/13 ed. 7: e44063. doi:10.1371/journal.pone.0044063 PONE-D-12-04543 [pii].
26. WHO. Global Health Observatory (GHO) data: Causes of child mortality. 2013; Verfügbar: [http://www.who.int/gho/child\\_health/mortality/causes/en/](http://www.who.int/gho/child_health/mortality/causes/en/).
27. Akpede GO, Akenzua GI. Management of children with prolonged fever of unknown origin and difficulties in the management of fever of unknown origin in children in developing countries. *Paediatr Drugs*. 2001/05/17 ed. 2001;3: 247–262.
28. Akpede GO, Akenzua GI. Aetiology and management of children with acute fever of unknown origin. *Paediatr Drugs*. 2001;3: 169–193.

29. Martin GS, Mannino DM, Eaton S, Moss M. The epidemiology of sepsis in the United States from 1979 through 2000. *N Engl J Med.* 2003/04/18 ed. 2003;348: 1546–1554. doi:10.1056/NEJMoa022139
30. Bates DW, Sands K, Miller E, Lanken PN, Hibberd PL, Graman PS, et al. Predicting bacteremia in patients with sepsis syndrome. Academic Medical Center Consortium Sepsis Project Working Group. *J Infect Dis.* 1997/12/12 ed. 1997;176: 1538–1551.
31. Rainhart K und Brunkhorst FM et al. Prävention, Diagnose, Therapie und Nachsorge der Sepsis: 1. Revision der S-2k Leitlinien der Deutschen Sepsis-Gesellschaft e.V. (DSG) und der Deutschen Interdisziplinären Vereinigung für Intensiv- und Notfallmedizin (DIVI). *GMS Ger Med Sci.* 2010.
32. Brunkhorst FM, Wegscheider K, Forycki ZF, Brunkhorst R. Procalcitonin for early diagnosis and differentiation of SIRS, sepsis, severe sepsis, and septic shock. *Intensive Care Med.* 2008/05/13 ed. 2000;26 Suppl 2: S148–52. doi:10.1007/BF02900728.
33. Harbarth S, Holeckova K, Froidevaux C, Pittet D, Ricou B, Grau GE, et al. Diagnostic value of procalcitonin, interleukin-6, and interleukin-8 in critically ill patients admitted with suspected sepsis. *Am J Respir Crit Care Med.* 2001/08/14 ed. 2001;164: 396–402. doi:10.1164/ajrccm.164.3.2009052.
34. Dandona P, Nix D, Wilson MF, Aljada A, Love J, Assicot M, et al. Procalcitonin increase after endotoxin injection in normal subjects. *J Clin Endocrinol Metab.* 1994/12/01 ed. 1994;79: 1605–1608. doi:10.1210/jcem.79.6.7989463.
35. Page AL, de Rekeneire N, Sayadi S, Aberrane S, Janssens AC, Dehoux M, et al. Diagnostic and prognostic value of procalcitonin and C-reactive protein in malnourished children. *Pediatrics.* 2014/01/22 ed. 2014;133: e363–70. doi:10.1542/peds.2013-2112.
36. Urbonas V, Eidukaite A, Tamuliene I. The diagnostic value of interleukin-6 and interleukin-8 for early prediction of bacteremia and sepsis in children with febrile neutropenia and cancer. *J Pediatr Hematol Oncol.* 2012/03/01 ed. 2012;34: 122–127. doi:10.1097/MPH.0b013e3182446a60.
37. Paakkonen M, Kallio MJ, Kallio PE, Peltola H. Sensitivity of erythrocyte sedimentation rate and C-reactive protein in childhood bone and joint infections. *Clin Orthop Relat Res.* 2009/06/18 ed. 2010;468: 861–866. doi:10.1007/s11999-009-0936-1.
38. Paakkonen M, Kallio MJ, Kallio PE, Peltola H. C-reactive protein versus erythrocyte sedimentation rate, white blood cell count and alkaline phosphatase in diagnosing bacteraemia in bone and joint infections. *J Paediatr Child Health.* 2013/02/27 ed. 2013;49: E189–92. doi:10.1111/jpc.12122.
39. Berezin EN, Iazzetti MA. Evaluation of the incidence of occult bacteremia among children with fever of unknown origin. *Braz J Infect Dis.* 2007/04/11 ed. 2006;10: 396–399.
40. Pierrakos C, Vincent JL. Sepsis biomarkers: a review. *Crit care.* 2010/02/11 ed. 2010;14: R15. doi:10.1186/cc8872.
41. Henriquez-Camacho C, Losa J. Biomarkers for Sepsis. *Biomed Res Int.* 2014/05/07 ed. 2014;2014: 547818. doi:10.1155/2014/547818.

42. Tunkel AR, Hartman BJ, Kaplan SL, Kaufman BA, Roos KL, Scheld WM, et al. Practice guidelines for the management of bacterial meningitis. *Clin Infect Dis*. 2004/10/21 ed. 2004;39: 1267–1284. doi:10.1086/425368.
43. Bloos F, Hinder F, Becker K, Sachse S, Mekontso Dessap A, Straube E, et al. A multicenter trial to compare blood culture with polymerase chain reaction in severe human sepsis. *Intensive Care Med*. 2009/11/20 ed. 2010;36: 241–247. doi:10.1007/s00134-009-1705-z.
44. Arabestani MR, Fazzeli H, Nasr Esfahani B. Identification of the most common pathogenic bacteria in patients with suspected sepsis by multiplex PCR. *J Infect Dev Ctries*. 2014/04/15 ed. 2014;8: 461–468. doi:10.3855/jidc.3856.
45. Stelter L, Steffen I, Pinkernelle JG, von Dossow-Hanfstingl V, Kastrup M, Denecke T, et al. Computed tomography findings in septic patients with acute respiratory distress syndrome: correlation with survival and pulmonary versus extrapulmonary septic focus. *J Comput Assist Tomogr*. 2013/07/19 ed. 2013;37: 602–609. doi:10.1097/RCT.0b013e318295d0c8.
46. Montgomery CO, Siegel E, Blasier RD, Suva LJ. Concurrent septic arthritis and osteomyelitis in children. *J Pediatr Orthop*. 2013/05/09 ed. 2013;33: 464–467. doi:10.1097/BPO.0b013e318278484f.
47. Szucs B, Nagy E, Talev S, Garai I, Galuska L. [The role of FDG PET/CT for detecting the cause of fever of unknown origin in a clinical case]. *Orv Hetil*. 2012/02/03 ed. 2012;153: 227–231. doi:10.1556/OH.2012.29296.
48. Bleeker-Rovers CP, van der Meer JW, Oyen WJ. Fever of unknown origin. *Semin Nucl Med*. 2009/02/04 ed. 2009;39: 81–87. doi:10.1053/j.semnuclmed.2008.10.002.
49. Lambrechts T, Bryce J, Orinda V. Integrated management of childhood illness: a summary of first experiences. *Bull World Health Organ*. 1999/08/13 ed. 1999;77: 582–594. Verfügbar: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10444882>
50. Patwari AK, Raina N. Integrated Management of Childhood Illness (IMCI): a robust strategy. *Indian J Pediatr*. 2002/03/06 ed. 2002;69: 41–48. Verfügbar: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11876120>.
51. Nguyen DT, Leung KK, McIntyre L, Ghali WA, Sauve R. Does integrated management of childhood illness (IMCI) training improve the skills of health workers? A systematic review and meta-analysis. *PLoS One*. 2013/06/19 ed. 2013;8: e66030. doi:10.1371/journal.pone.0066030.
52. Lulseged S. Integrated management of childhood illness: a review of the Ethiopian experience and prospects for child health. *Ethiop Med J*. 2002/09/21 ed. 2002;40: 187–201.
53. Goga AE, Muhe LM. Global challenges with scale-up of the integrated management of childhood illness strategy: results of a multi-country survey. *BMC Public Health*. 2011/06/29 ed. 2011;11: 503. doi:10.1186/1471-2458-11-503.
54. WHO. Management of the child with a serious infection or severe malnutrition : guidelines for care at the first-referral level in developing countries. [Internet]. 2000. Verfügbar: [http://whqlibdoc.who.int/hq/2000/WHO\\_FCH\\_CAH\\_00.1.pdf?ua=1](http://whqlibdoc.who.int/hq/2000/WHO_FCH_CAH_00.1.pdf?ua=1)

55. Nadjm B, Amos B, Mtove G, Ostermann J, Chonya S, Wangai H, et al. WHO guidelines for antimicrobial treatment in children admitted to hospital in an area of intense *Plasmodium falciparum* transmission: prospective study. *BMJ*. 2010/04/01 ed. 340: c1350.
56. Berkley JA, Maitland K, Mwangi I, Ngetsa C, Mwarumba S, Lowe BS, et al. Use of clinical syndromes to target antibiotic prescribing in seriously ill children in malaria endemic area: observational study. *BMJ*. 2005/03/31 ed. 2005;330: 995. doi:bmj.38408.471991.8F [pii] 10.1136/bmj.38408.471991.8F.
57. Dagan R, Powell KR, Hall CB, Menegus MA. Identification of infants unlikely to have serious bacterial infection although hospitalized for suspected sepsis. *J Pediatr*. 1985/12/01 ed. 1985;107: 855–860.
58. Jaskiewicz JA, McCarthy CA, Richardson AC, White KC, Fisher DJ, Dagan R, et al. Febrile infants at low risk for serious bacterial infection--an appraisal of the Rochester criteria and implications for management. Febrile Infant Collaborative Study Group. *Pediatrics*. 1994/09/01 ed. 1994;94: 390–396.
59. Henry D, Lexchin J. The pharmaceutical industry as a medicines provider. *Lancet*. 2002/11/22 ed. 2002;360: 1590–1595. doi:10.1016/S0140-6736(02)11527-3.
60. Kaiser RE, Cerra FB. Progressive necrotizing surgical infections--a unified approach. *J Trauma*. 1981/05/01 ed. 1981;21: 349–355.
61. Kariuki S, Revathi G, Kariuki N, Kiiru J, Mwituria J, Hart CA. Characterisation of community acquired non-typhoidal *Salmonella* from bacteraemia and diarrhoeal infections in children admitted to hospital in Nairobi, Kenya. *BMC Microbiol*. 2006/12/19 ed. 2006;6: 101. doi:10.1186/1471-2180-6-101.
62. Rivers E, Nguyen B, Havstad S, Ressler J, Muzzin A, Knoblich B, et al. Early goal-directed therapy in the treatment of severe sepsis and septic shock. *N Engl J Med*. 2002/01/17 ed. 2001;345: 1368–1377. doi:10.1056/NEJMoa010307.
63. Meier-Hellmann A. Hämodynamische Stabilisierung in der Sepsis. *Anästhesiologie Intensivmed*. 2000;41(7):601-.
64. Dart AB, Mutter TC, Ruth CA, Taback SP. Hydroxyethyl starch (HES) versus other fluid therapies: effects on kidney function. *Cochrane database Syst Rev*. 2010/01/22 ed. 2010; CD007594. doi:10.1002/14651858.CD007594.pub2.
65. Vinsonneau C, Camus C, Combes A, Costa de Beauregard MA, Klouche K, Boulain T, et al. Continuous venovenous haemodiafiltration versus intermittent haemodialysis for acute renal failure in patients with multiple-organ dysfunction syndrome: a multicentre randomised trial. *Lancet*. 2006/08/01 ed. 2006;368: 379–385. doi:10.1016/S0140-6736(06)69111-3.
66. Hopkins RO, Weaver LK, Pope D, Orme JF, Bigler ED, Larson L V. Neuropsychological sequelae and impaired health status in survivors of severe acute respiratory distress syndrome. *Am J Respir Crit Care Med*. 1999/07/03 ed. 1999;160: 50–56.
67. Bernard GR, Margolis BD, Shanies HM, Ely EW, Wheeler AP, Levy H, et al. Extended evaluation of recombinant human activated protein C United States Trial (ENHANCE US): a single-arm, phase 3B, multicenter study of drotrecogin alfa (activated) in severe sepsis. *Chest*. 2004/06/11 ed. 2004;125: 2206–2216.



68. Kreymann KG, de Heer G, Nierhaus A, Kluge S. Use of polyclonal immunoglobulins as adjunctive therapy for sepsis or septic shock. *Crit Care Med.* 2007/12/13 ed. 2007;35: 2677–2685.
69. Heyland DK. Selenium supplementation in critically ill patients: can too much of a good thing be a bad thing? *Crit care.* 2007/08/19 ed. 2007;11: 153. doi:10.1186/cc5975.
70. Bone RC, Fisher Jr. CJ, Clemmer TP, Slotman GJ, Metz CA, Balk RA. A controlled clinical trial of high-dose methylprednisolone in the treatment of severe sepsis and septic shock. *N Engl J Med.* 1987/09/10 ed. 1987;317: 653–658. doi:10.1056/NEJM198709103171101.
71. The Veterans Administration Systemic Sepsis Cooperative Study Group. Effect of high-dose glucocorticoid therapy on mortality in patients with clinical signs of systemic sepsis. *N Engl J Med.* 1987/09/10 ed. 1987;317: 659–665. doi:10.1056/NEJM198709103171102.
72. Brunkhorst FM, Engel C, Bloos F, Meier-Hellmann A, Ragaller M, Weiler N, et al. Intensive insulin therapy and pentastarch resuscitation in severe sepsis. *N Engl J Med.* 2008/01/11 ed. 2008;358: 125–139. doi:10.1056/NEJMoa070716.
73. Warren BL, Eid A, Singer P, Pillay SS, Carl P, Novak I, et al. Caring for the critically ill patient. High-dose antithrombin III in severe sepsis: a randomized controlled trial. *JAMA.* 2001/10/26 ed. 2001;286: 1869–1878.
74. Cox FE. History of the discovery of the malaria parasites and their vectors. *Parasit Vectors.* 2010/03/09 ed. 2010;3: 5. doi:10.1186/1756-3305-3-5.
75. Browne EN, Frimpong E, Sievertsen J, Hagen J, Hamelmann C, Dietz K, et al. Malariometric update for the rainforest and savanna of Ashanti region, Ghana. *Ann Trop Med Parasitol.* 2000/03/21 ed. 2000;94: 15–22.
76. Jeremiah S, Janagond AB, Parija SC. Challenges in diagnosis of Plasmodium knowlesi infections. *Trop Parasitol.* 2014/04/23 ed. 2014;4: 25–30. doi:10.4103/2229-5070.129156.
77. Schlagenhauf P. *Travelers' Malaria 2001*. London: BC Decker Inc. Hamilton; 2001.
78. Thomas Löscher G-DB. *Tropenmedizin in Klinik und Praxis mit Reise und Migrationsmedizin.* Stuttgart: Thieme Verlag KG; 2010.
79. Hay SI, Okiro EA, Gething PW, Patil AP, Tatem AJ, Guerra CA, et al. Estimating the global clinical burden of Plasmodium falciparum malaria in 2007. *PLoS Med.* 2010/06/22 ed. 2010;7: e1000290. doi:10.1371/journal.pmed.1000290.
80. WHO. *World Malaria Report: 2013.* 2013. Verfügbar: [http://www.who.int/malaria/publications/world\\_malaria\\_report\\_2013/en/](http://www.who.int/malaria/publications/world_malaria_report_2013/en/).
81. Final Report for the WHO Commission on Intellectual Property Rights, Innovation and Public Health. *A Review of IP and Non-IP Incentives for R&D for Diseases of Poverty.* 2005. Verfügbar: <http://www.who.int/intellectualproperty/en/>.
82. Malaria RB. *Global Malaria Action Plan for a Malaria-free World.* 2014. Verfügbar: <http://www.rollbackmalaria.org/gmap/2-5.html>.

83. White MT, Conteh L, Cibulskis R, Ghani AC. Costs and cost-effectiveness of malaria control interventions--a systematic review. *Malar J*. 2011/11/05 ed. 2011;10: 337. doi:10.1186/1475-2875-10-337.
84. Choge JK, Magak NG, Akhwale W, Koech J, Ngeiywa MM, Oyoo-Okoth E, et al. Symptomatic malaria diagnosis overestimate malaria prevalence, but underestimate anaemia burdens in children: results of a follow up study in Kenya. *BMC Public Health*. 2014/04/10 ed. 2014;14: 332. doi:10.1186/1471-2458-14-332.
85. Vinnemeier CD, Schwarz NG, Sarpong N, Loag W, Acquah S, Nkrumah B, et al. Predictive value of fever and palmar pallor for *P. falciparum* parasitaemia in children from an endemic area. *PLoS One*. 2012/05/11 ed. 7: e36678. doi:10.1371/journal.pone.0036678 PONE-D-12-01646 [pii].
86. WHO. Guidelines for the treatment of malaria. Second edition. 2010. Verfügbar: [http://whqlibdoc.who.int/publications/2010/9789241547925\\_eng.pdf?ua=1](http://whqlibdoc.who.int/publications/2010/9789241547925_eng.pdf?ua=1).
87. WHO. Severe falciparum malaria. World Health Organization, Communicable Diseases Cluster. *Trans R Soc Trop Med Hyg*. 2000/12/05 ed. 2000;94 Suppl 1: S1–90. Verfügbar: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11103309>.
88. Marsh K, Forster D, Waruiru C, Mwangi I, Winstanley M, Marsh V, et al. Indicators of life-threatening malaria in African children. *N Engl J Med*. 1995/05/25 ed. 1995;332: 1399–1404. doi:10.1056/NEJM199505253322102.
89. Kopel E, Marhoom E, Sidi Y, Schwartz E. Successful oral therapy for severe falciparum malaria: the World Health Organization criteria revisited. *Am J Trop Med Hyg*. 2012/03/10 ed. 2012;86: 409–411. doi:10.4269/ajtmh.2012.11-0567.
90. Oluwayemi OI, Brown BJ, Oyedeji OA, Adegoke SA, Adebami OJ, Oyedeji GA. Clinical and laboratory predictors of outcome in cerebral malaria in suburban Nigeria. *J Infect Dev Ctries*. 2013/08/21 ed. 2013;7: 600–607. doi:10.3855/jidc.2769.
91. WHO. Management of severe malaria: a practical handbook – 3rd ed. Geneva; 2012. Verfügbar: [http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/79317/1/9789241548526\\_eng.pdf](http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/79317/1/9789241548526_eng.pdf)
92. Long EG. Requirements for diagnosis of malaria at different levels of the laboratory network in Africa. *Am J Clin Pathol*. 2009/05/23 ed. 2009;131: 858–860. doi:10.1309/AJCPVX71BXWVWBY.
93. Trape JF. Rapid evaluation of malaria parasite density and standardization of thick smear examination for epidemiological investigations. *Trans R Soc Trop Med Hyg*. 1985/01/01 ed. 1985;79: 181–184.
94. Kahama-Marro J, D’Acremont V, Mtasiwa D, Genton B, Lengeler C. Low quality of routine microscopy for malaria at different levels of the health system in Dar es Salaam. *Malar J*. 2011/11/04 ed. 10: 332. doi:1475-2875-10-332 [pii] 10.1186/1475-2875-10-332.
95. Bruxvoort K, Kalolella A, Nchimbi H, Festo C, Taylor M, Thomson R, et al. Getting antimalarials on target: impact of national roll-out of malaria rapid diagnostic tests on health facility treatment in three regions of Tanzania. *Trop Med Int Health*. 2013/08/14 ed. 2013;18: 1269–1282. doi:10.1111/tmi.12168.

96. Wilson ML. Laboratory diagnosis of malaria: conventional and rapid diagnostic methods. *Arch Pathol Lab Med.* 2013/06/01 ed. 2013;137: 805–811. doi:10.5858/arpa.2011-0602-RA.
97. WHO. Ghana. 2013. Verfügbar: [http://www.who.int/malaria/publications/country-profiles/profile\\_gha\\_en.pdf?ua=1](http://www.who.int/malaria/publications/country-profiles/profile_gha_en.pdf?ua=1)
98. Berkley JA, Mwangi I, Mellington F, Mwarumba S, Marsh K. Cerebral malaria versus bacterial meningitis in children with impaired consciousness. *QJM.* 1999/05/18 ed. 1999;92: 151–157.
99. Kallander K, Nsungwa-Sabiiti J, Peterson S. Symptom overlap for malaria and pneumonia--policy implications for home management strategies. *Acta Trop.* 2004/06/05 ed. 2004;90: 211–214. doi:10.1016/j.actatropica.2003.11.013.
100. Planche T, Agbenyega T, Bedu-Addo G, Ansong D, Owusu-Ofori A, Micah F, et al. A prospective comparison of malaria with other severe diseases in African children: prognosis and optimization of management. *Clin Infect Dis.* 2003/09/18 ed. 2003;37: 890–897. doi:CID30856 [pii].
101. Mtove G, Amos B, von Seidlein L, Hendriksen I, Mwambuli A, Kimera J, et al. Invasive salmonellosis among children admitted to a rural Tanzanian hospital and a comparison with previous studies. *PLoS One.* 2010/02/20 ed. 2010;5: e9244. doi:10.1371/journal.pone.0009244.
102. Dougle ML, Hendriks ER, Sanders EJ, Dorigo-Zetsma JW. Laboratory investigations in the diagnosis of septicaemia and malaria. *East Afr Med J.* 1997/06/01 ed. 1997;74: 353–356.
103. Lathia TB, Joshi R. Can hematological parameters discriminate malaria from nonmalarious acute febrile illness in the tropics? *Indian J Med Sci.* 2004/07/01 ed. 2004;58: 239–244.
104. Were T, Davenport GC, Hittner JB, Ouma C, Vulule JM, Ong'echa JM, et al. Bacteremia in Kenyan children presenting with malaria. *J Clin Microbiol.* 2010/11/26 ed. 2011;49: 671–676. doi:10.1128/JCM.01864-10.
105. Walsh AL, Phiri AJ, Graham SM, Molyneux EM, Molyneux ME. Bacteremia in febrile Malawian children: clinical and microbiologic features. *Pediatr Infect Dis J.* 2000/04/27 ed. 2000;19: 312–318.
106. Church J, Maitland K. Invasive bacterial co-infection in African children with *Plasmodium falciparum* malaria: a systematic review. *BMC Med.* 2014/02/20 ed. 2014;12: 31. doi:10.1186/1741-7015-12-31.
107. Bassat Q, Guinovart C, Sigauque B, Mandomando I, Aide P, Sacarlal J, et al. Severe malaria and concomitant bacteraemia in children admitted to a rural Mozambican hospital. *Trop Med Int Health.* 2009/06/26 ed. 2009;14: 1011–1019. doi:10.1111/j.1365-3156.2009.02326.x.
108. Diez-Padrisa N, Bassat Q, Roca A. Serum biomarkers for the diagnosis of malaria, bacterial and viral infections in children living in malaria-endemic areas. *Drugs of today.* 2011/03/05 ed. 2011;47: 63–75. doi:10.1358/dot.2011.47.1.1534821.
109. WHO. WHO. Global Health Observatory Data Repository. 2011; Verfügbar: <http://apps.who.int/ghodata/?vid=9300&theme=country>.

110. WHO: Agogo Presbyterian Hospital, Ghana. 2011; Verfügbar: [http://www.who.int/buruli/events/agogo\\_hospital/en/index.html](http://www.who.int/buruli/events/agogo_hospital/en/index.html).
111. Ghana. Cities & Urban Localities. Census Data of the year 2000. 2011; Verfügbar: <http://www.citypopulation.de/Ghana-Cities.html>.
112. WHO: World malaria report 2009. 2009; Verfügbar: [http://www.who.int/malaria/publications/country-profiles/profile\\_gha\\_en.pdf](http://www.who.int/malaria/publications/country-profiles/profile_gha_en.pdf).
113. CIA: CIA factbook 2012 . 2012; Verfügbar: <https://www.cia.gov/library/publications/the-world-factbook/geos/gh.html>.
114. Renner LA, Newman MJ, Ahadzie L, Antwi-Agyei KO, Eshetu M. Introduction of Haemophilus influenzae type B conjugate vaccine into routine immunization in Ghana and its impact on bacterial meningitis in children younger than five years. *Pediatr Infect Dis J*. 2007/04/07 ed. 2007;26: 356–358. doi:10.1097/01.inf.0000258693.19247.8e 00006454-200704000-00019 [pii].
115. Sarpong N, Loag W, Fobil J, Meyer CG, Adu-Sarkodie Y, May J, et al. National health insurance coverage and socio-economic status in a rural district of Ghana. *Trop Med Int Heal*. 2009/12/08 ed. 15: 191–197. doi:TMI2439 [pii] 10.1111/j.1365-3156.2009.02439.x.
116. Laupland KB. Defining the epidemiology of bloodstream infections: the “gold standard” of population-based assessment. *Epidemiol Infect*. 2012/12/12 ed. 2013;141: 2149–2157. doi:10.1017/S0950268812002725.
117. Tangpukdee N, Krudsood S, Kano S, Wilairatana P. Falciparum malaria parasitemia index for predicting severe malaria. *Int J Lab Hematol*. 2012/01/10 ed. 34: 320–327. doi:10.1111/j.1751-553X.2011.01398.x.
118. L. Kreienbrock SS. *Epidemiologische Methoden*. München: Elsevier; 2005.
119. Berkley JA, Lowe BS, Mwangi I, Williams T, Bauni E, Mwarumba S, et al. Bacteremia among children admitted to a rural hospital in Kenya. *N Engl J Med*. 2005/01/07 ed. 2005;352: 39–47. doi:352/1/39 [pii] 10.1056/NEJMoa040275.
120. Nadjm B, Mtove G, Amos B, Walker NF, Diefendal H, Reyburn H, et al. Severe febrile illness in adult hospital admissions in Tanzania: a prospective study in an area of high malaria transmission. *Trans R Soc Trop Med Hyg*. 2012/10/02 ed. 2012;106: 688–695. doi:10.1016/j.trstmh.2012.08.006.
121. Mabey DC, Brown A, Greenwood BM. Plasmodium falciparum malaria and Salmonella infections in Gambian children. *J Infect Dis*. 1987/06/01 ed. 1987;155: 1319–1321.
122. Bell M, Archibald LK, Nwanyanwu O, Dobbie H, Tokars J, Kazembe PN, et al. Seasonal variation in the etiology of bloodstream infections in a febrile inpatient population in a developing country. *Int J Infect Dis*. 2001/07/27 ed. 2001;5: 63–69.
123. Cunnington AJ, de Souza JB, Walther M, Riley EM. Malaria impairs resistance to Salmonella through heme- and heme oxygenase-dependent dysfunctional granulocyte mobilization. *Nat Med*. 2011/12/20 ed. 2012;18: 120–127. doi:10.1038/nm.2601.
124. Olsson RA, Johnston EH. Histopathologic changes and small-bowel absorption in falciparum malaria. *Am J Trop Med Hyg*. 1969/05/01 ed. 1969;18: 355–359.

125. Dondorp AM, Kager PA, Vreeken J, White NJ. Abnormal blood flow and red blood cell deformability in severe malaria. *Parasitol today*. 2000/05/29 ed. 2000;16: 228–232.
126. Berkley JA, Bejon P, Mwangi T, Gwer S, Maitland K, Williams TN, et al. HIV infection, malnutrition, and invasive bacterial infection among children with severe malaria. *Clin Infect Dis*. 2009/06/25 ed. 2009;49: 336–343. doi:10.1086/600299.
127. WHO. Management of the child with a serious infection or severe malnutrition : guidelines for care at the first-referral level in developing countries. Hong Kong ; 2000. Verfügbar: [http://www.who.int/maternal\\_child\\_adolescent/documents/fch\\_cah\\_00\\_1/en/](http://www.who.int/maternal_child_adolescent/documents/fch_cah_00_1/en/).
128. Christopher A, Mshana SE, Kidenya BR, Hokororo A, Morona D. Bacteremia and resistant gram-negative pathogens among under-fives in Tanzania. *Ital J Pediatr*. 2013;39: 27. doi:10.1186/1824-7288-39-27.

# Kapitel 9 Anhang

## Rekrutierungsformular

<b>CHILD WELFARE CLINIC</b> <small>Version 4.0 (16/04/2007)</small>		Barcode
OPD number <input style="width: 100%;" type="text"/>	Date <input style="width: 100%;" type="text"/>	
<b>Study child data</b> <span style="float: right;"><small>Registration</small></span>		
Is the guardian the child's mother? <input type="radio"/> No <input type="radio"/> Yes <input type="radio"/> Alone		Address/Telephone <input style="width: 100%; height: 50px;" type="text"/>
Family name _____ Given name _____ Sex <input type="radio"/> Male <input type="radio"/> Female		
Date of birth ___/___/___ or age _____ <input type="radio"/> Month <input type="radio"/> Years		Village _____
Mother's ethnicity _____		<i>--&gt; if parents ethnicities differ from each other:</i>
Parent's ethnicity differs from each other? <input type="radio"/> No <input type="radio"/> Yes		Father's ethnicity _____
Mother's name _____		<i>--&gt; if the guardian is the father:</i> Father's name _____
Mother's age _____		Father's age _____
Mother's occupation _____		Father's occupation _____
<b>Informed consent</b>		
<p>We want to collect all the information about the ill children who come to the under fiver clinic and put it on a computer. We will then be able to see what diseases are important in and around Agogo. All the computer information will be anonymous and confidential.</p> <p>However if we find your child has a certain infection we will inform the doctors in the clinic so you can be prescribed the correct treatment. Sometimes this will be immediately and sometimes this will be some days later.</p>		
<div style="border: 1px solid black; padding: 5px;"> <p>Do you agree to including your child's information on our computer?  <input type="checkbox"/> Yes <input type="checkbox"/> No</p> <p>Do you agree to your child providing a stool sample to be tested for different infections?  <input type="checkbox"/> Yes <input type="checkbox"/> No</p> <p>Do you agree to your child providing a sputum sample to be tested for different infections?  <input type="checkbox"/> Yes <input type="checkbox"/> No</p> <p><i>--&gt; If your child is admitted to the paediatric ward:</i>            Do you agree to your child providing a blood sample to look for bacteria in the blood?  <input type="checkbox"/> Yes <input type="checkbox"/> No</p> </div>		
<b>Signed/Thumb Print</b> <span style="float: right;"><input type="checkbox"/> MOTHER <input type="checkbox"/> FATHER <input type="checkbox"/> GUARDIAN:</span>		
_____ <small>Sign</small>	_____ <small>Guardian</small>	___/___/___ <small>Date</small>
<b>Witnessed by</b>		
_____ <small>Sign</small>	_____ <small>Name in block letters</small>	___/___/___ <small>Date</small>
<b>Consent obtained by</b>		
_____ <small>Sign</small>	_____ <small>Name in block letters</small>	___/___/___ <small>Date</small>
<b>Registering person:</b> _____ <b>Sign:</b> _____		

# Anamneseformular

<b>OPD-number</b> <input style="width: 95%;" type="text"/>	<b>Visit no.</b> <input style="width: 95%;" type="text"/>	<b>Date of admission</b> ___ / ___ / ___	<i>Barcode</i>
<b>Inpatient number</b> <input style="width: 95%;" type="text"/>		<b>Time of admission</b> ___ / ___ / ___	

<p><b>8) General condition</b></p> <p>Is the child...          unable to breastfeed or drink? <input type="radio"/> No <input type="radio"/> Yes <input type="radio"/> NA          weak/lethargic? <input type="radio"/> No <input type="radio"/> Yes <input type="radio"/> NA          unconscious? <input type="radio"/> No <input type="radio"/> Yes <input type="radio"/> NA          restless or irritable? <input type="radio"/> No <input type="radio"/> Yes <input type="radio"/> NA          severely wasted? <input type="radio"/> No <input type="radio"/> Yes <input type="radio"/> NA</p> <p>Is the child convulsing now? <input type="radio"/> No <input type="radio"/> Yes          Is there a history of convulsions?          --&gt; if yes During the last 24 hours? <input type="radio"/> No <input type="radio"/> Yes          --&gt; if yes number _____          type <input type="radio"/> generalized <input type="radio"/> focal          longest fit lasting &gt;5minutes <input type="radio"/> No <input type="radio"/> Yes          Is the child malnourished? <input type="radio"/> No <input type="radio"/> Yes</p>	<p style="text-align: right;"><i>Nurse</i></p> <p>Are the extremities cold? <input type="radio"/> No <input type="radio"/> Yes          Capillary refill time <input type="radio"/> ≤2 sec <input type="radio"/> &gt;2 sec          Is the child prostrated? <input type="radio"/> No <input type="radio"/> Yes          Blantyre coma score:          motor: ___ /2          voice: ___ /2          eyes: ___ /1          Total: ___ /5</p> <p>Were anticonvulsant drugs administered prior to assessment of coma score? <input type="radio"/> No <input type="radio"/> Yes          --&gt; if yes Time _____</p> <p>Is there palmar pallor? <input type="radio"/> No <input type="radio"/> Some <input type="radio"/> Severe          Are there oedema of both feet? <input type="radio"/> No <input type="radio"/> Yes          Is there generalised lymphadenopathy? <input type="radio"/> No <input type="radio"/> Yes          Is the child severely wasted? <input type="radio"/> No <input type="radio"/> Yes          Does the child have Kwashiorkor? <input type="radio"/> No <input type="radio"/> Yes</p>
---	--

<p><b>9) Skin</b></p> <p>Are there any skin abnormalities? <input type="radio"/> No <input type="radio"/> Yes          Does the child have... rash? <input type="radio"/> No <input type="radio"/> Yes          depigmentation? <input type="radio"/> No <input type="radio"/> Yes          Others? <input type="radio"/> No <input type="radio"/> Yes</p>	<p style="text-align: right;"><i>Doctor</i></p> <p>Description</p> <div style="border: 1px solid black; height: 40px;"></div>
--	---

<p><b>10) Fever</b></p> <p>Fever of child reported? <input type="radio"/> No <input type="radio"/> Yes          --&gt; if yes For how long? ___ days <input type="radio"/> today          --&gt; if more than 7 days          Was fever there every day? <input type="radio"/> No <input type="radio"/> Yes          Has she given paracetamol? <input type="radio"/> No <input type="radio"/> Yes          --&gt; if yes Last dose: ___ days ago or  <input type="radio"/> today <input type="radio"/> &gt;1 week</p>	<p style="text-align: right;"><i>Doctor</i></p> <p>Does the child have...          a stiff neck? <input type="radio"/> No <input type="radio"/> Yes          fontanelle bulging? <input type="radio"/> No <input type="radio"/> Yes <input type="radio"/> NA          Sepsis suspected <input type="radio"/> No <input type="radio"/> Yes          Malaria suspected <input type="radio"/> No <input type="radio"/> Yes</p>
--	---

<p><b>11) Cardiac system</b></p> <p>Does the child have easy fatiguability? <input type="radio"/> No <input type="radio"/> Yes</p>	<p style="text-align: right;"><i>Doctor</i></p> <p>Heart rate _____ bpm          Auscultation          Cyanosis <input type="radio"/> No <input type="radio"/> Yes          Pulse _____</p>
--	---

<p><b>12) Respiratory condition</b></p> <p>Does the child have a cough? <input type="radio"/> No <input type="radio"/> Yes          --&gt; if yes How many days? ___ days <input type="radio"/> today          Is it now <input type="radio"/> productive <input type="radio"/> dry          Does it have difficult breathing? <input type="radio"/> No <input type="radio"/> Yes          --&gt; if yes How many days? ___ days <input type="radio"/> today          Does it have...          fast breathing? <input type="radio"/> No <input type="radio"/> Yes          a blocked nose? <input type="radio"/> No <input type="radio"/> Yes          a running nose? <input type="radio"/> No <input type="radio"/> Yes</p>	<p style="text-align: right;"><i>Doctor</i></p> <p>Count the breaths in one minute _____ cpm          Chest indrawing <input type="radio"/> No <input type="radio"/> Yes          Stridor <input type="radio"/> No <input type="radio"/> Yes          Deep breathing <input type="radio"/> No <input type="radio"/> Yes          Pulse oximetry _____ %          Respiratory distress <input type="radio"/> No <input type="radio"/> Yes          Auscultation</p>
---	--

<b>13) Gastrointestinal system condition</b>		<i>Nurse</i>	<i>Doctor</i>
Does the child have diarrhoea?	<input type="radio"/> No <input type="radio"/> Yes	Does it have sunken eyes?	<input type="radio"/> No <input type="radio"/> Yes
--> if yes For how long? _____ days	<input type="radio"/> today	<i>Pinch the skin on the abdomen</i>	
How many times in the last day? _____ times		Does it go back slowly ( $\geq 2$ secs)?	<input type="radio"/> No <input type="radio"/> Yes
Stool consistency		Is the child apathic?	<input type="radio"/> No <input type="radio"/> Yes
<input type="checkbox"/> watery <input type="checkbox"/> mucoid <input type="checkbox"/> blood stained		Dehydration	<input type="radio"/> No <input type="radio"/> 3-5% <input type="radio"/> 6-9% <input type="radio"/> $\geq 10\%$
Is the child vomiting?	<input type="radio"/> No <input type="radio"/> Yes	Abdomen palpation	
--> if yes For how long? _____ days	<input type="radio"/> today	Spleen size	_____ cm
How many times in the last day? _____ times		Liver size below costal arch	_____ cm
Vomiting everything it takes?	<input type="radio"/> No <input type="radio"/> Yes	Is there ascites?	<input type="radio"/> No <input type="radio"/> Yes
Drinking eagerly, thirsty?	<input type="radio"/> No <input type="radio"/> Yes		

<b>14) Ear, Nose, Throat</b>		<i>Nurse</i>	<i>Doctor</i>
Is there ear pain?	<input type="radio"/> No <input type="radio"/> Yes	Is there pus draining from the ear?	<input type="radio"/> No <input type="radio"/> Yes
--> if yes For how long? _____ days	<input type="radio"/> today	Tender swelling behind the ear?	<input type="radio"/> No <input type="radio"/> Yes
Is there ear discharge?	<input type="radio"/> No <input type="radio"/> Yes	Otoscopy	
--> if yes For how long? _____ days	<input type="radio"/> today	Nose	
Is there throat pain?	<input type="radio"/> No <input type="radio"/> Yes	Throat	
--> if yes For how long? _____ days	<input type="radio"/> today	Lymphnodes	
		Mouth	

<b>15) Additional findings</b>	<b>Laboratory</b>

<b>16) Impression</b>	<b>Diagnosis</b>
_____	<input type="radio"/> Confirmed <input type="radio"/> Suspected
_____	<input type="radio"/> Confirmed <input type="radio"/> Suspected
_____	<input type="radio"/> Confirmed <input type="radio"/> Suspected
_____	<input type="radio"/> Confirmed <input type="radio"/> Suspected
_____	<input type="radio"/> Confirmed <input type="radio"/> Suspected
_____	<input type="radio"/> Confirmed <input type="radio"/> Suspected

<b>17) Treatment prescribed</b>	<b>Doses</b>
_____	_____
_____	_____
_____	_____
_____	_____

<b>Nurse:</b> Initials: _____ Sign: _____	<b>1st data entry:</b> Initials: _____ Date: ____/____/____
<b>Doctor:</b> Initials: _____ Sign: _____	<b>2nd data entry:</b> Initials: _____ Date: ____/____/____

Version 1.0 (19/06/2007)



# Verlaufsformular

<b>OPD-number</b> <input style="width: 90%;" type="text"/>	<b>Visit no.</b> <input style="width: 80%;" type="text"/>	<b>Date of admission</b> ___/___/___	<i>Barcode</i>
<b>Inpatient-number</b> <input style="width: 90%;" type="text"/>		<b>Time of admission</b> ___:___	

## Clinical progress

		Date	___/___/___	___/___/___	___/___/___	___/___/___
		Time	___:___	___:___	___:___	___:___
Is the child prostrated?		<input type="radio"/> No <input type="radio"/> Yes	<input type="radio"/> No <input type="radio"/> Yes	<input type="radio"/> No <input type="radio"/> Yes	<input type="radio"/> No <input type="radio"/> Yes	<input type="radio"/> No <input type="radio"/> Yes
Respiratory signs:						
lower chest wall indrawing?		<input type="radio"/> No <input type="radio"/> Yes	<input type="radio"/> No <input type="radio"/> Yes	<input type="radio"/> No <input type="radio"/> Yes	<input type="radio"/> No <input type="radio"/> Yes	<input type="radio"/> No <input type="radio"/> Yes
abnormally deep breathing?		<input type="radio"/> No <input type="radio"/> Yes	<input type="radio"/> No <input type="radio"/> Yes	<input type="radio"/> No <input type="radio"/> Yes	<input type="radio"/> No <input type="radio"/> Yes	<input type="radio"/> No <input type="radio"/> Yes
Blantyre coma score:	motor response:	___/2	___/2	___/2	___/2	___/2
	verbal response:	___/2	___/2	___/2	___/2	___/2
	eye movements:	___/1	___/1	___/1	___/1	___/1
Total:		___/5	___/5	___/5	___/5	___/5
Were anti-convulsant drugs administered prior to this assessment of the coma score?		<input type="radio"/> No <input type="radio"/> Yes	<input type="radio"/> No <input type="radio"/> Yes	<input type="radio"/> No <input type="radio"/> Yes	<input type="radio"/> No <input type="radio"/> Yes	<input type="radio"/> No <input type="radio"/> Yes
Time of administration:		___*___	___*___	___*___	___*___	___*___
Are there convulsions?		<input type="radio"/> No <input type="radio"/> Yes	<input type="radio"/> No <input type="radio"/> Yes	<input type="radio"/> No <input type="radio"/> Yes	<input type="radio"/> No <input type="radio"/> Yes	<input type="radio"/> No <input type="radio"/> Yes
--> if yes    Number of convulsions		<input type="radio"/> 1 <input type="radio"/> 2 <input type="radio"/> 3 <input type="radio"/> >3	<input type="radio"/> 1 <input type="radio"/> 2 <input type="radio"/> 3 <input type="radio"/> >3	<input type="radio"/> 1 <input type="radio"/> 2 <input type="radio"/> 3 <input type="radio"/> >3	<input type="radio"/> 1 <input type="radio"/> 2 <input type="radio"/> 3 <input type="radio"/> >3	<input type="radio"/> 1 <input type="radio"/> 2 <input type="radio"/> 3 <input type="radio"/> >3
Type of convulsions		<input type="radio"/> generalized <input type="radio"/> focal	<input type="radio"/> generalized <input type="radio"/> focal	<input type="radio"/> generalized <input type="radio"/> focal	<input type="radio"/> generalized <input type="radio"/> focal	<input type="radio"/> generalized <input type="radio"/> focal
Longest fit lasting >5minutes		<input type="radio"/> No <input type="radio"/> Yes	<input type="radio"/> No <input type="radio"/> Yes	<input type="radio"/> No <input type="radio"/> Yes	<input type="radio"/> No <input type="radio"/> Yes	<input type="radio"/> No <input type="radio"/> Yes
Does the child have a stiff neck?		<input type="radio"/> No <input type="radio"/> Yes	<input type="radio"/> No <input type="radio"/> Yes	<input type="radio"/> No <input type="radio"/> Yes	<input type="radio"/> No <input type="radio"/> Yes	<input type="radio"/> No <input type="radio"/> Yes
Does the child have a bulging fontanelle?		<input type="radio"/> No <input type="radio"/> Yes <input type="radio"/> NA	<input type="radio"/> No <input type="radio"/> Yes <input type="radio"/> NA	<input type="radio"/> No <input type="radio"/> Yes <input type="radio"/> NA	<input type="radio"/> No <input type="radio"/> Yes <input type="radio"/> NA	<input type="radio"/> No <input type="radio"/> Yes <input type="radio"/> NA
Does the child have prolonged skin turgor (≥2secs)?		<input type="radio"/> No <input type="radio"/> Yes	<input type="radio"/> No <input type="radio"/> Yes	<input type="radio"/> No <input type="radio"/> Yes	<input type="radio"/> No <input type="radio"/> Yes	<input type="radio"/> No <input type="radio"/> Yes
Does the child have watery stools?		<input type="radio"/> No <input type="radio"/> Yes	<input type="radio"/> No <input type="radio"/> Yes	<input type="radio"/> No <input type="radio"/> Yes	<input type="radio"/> No <input type="radio"/> Yes	<input type="radio"/> No <input type="radio"/> Yes
Blood Glucose (mmol/L)		___*___	___*___	___*___	___*___	___*___
Hb (g/dL)		___*___	___*___	___*___	___*___	___*___
Blood transfusion		<input type="radio"/> No <input type="radio"/> Yes	<input type="radio"/> No <input type="radio"/> Yes	<input type="radio"/> No <input type="radio"/> Yes	<input type="radio"/> No <input type="radio"/> Yes	<input type="radio"/> No <input type="radio"/> Yes
Sign						

<b>Outcome</b> <input type="radio"/> Survived (full recovery) <input type="radio"/> Survived (ongoing disability) <input type="radio"/> Survived (permanent disability) <input type="radio"/> Died <input type="radio"/> Absconded/lost to follow up	<b>Diagnosis on discharge</b> <div style="border: 1px solid black; height: 40px; width: 100%;"></div>	<b>Date of discharge</b> ___/___/___
---	--	---

<b>Nurse:</b> Initials: _____ Sign: _____	<b>1st data entry:</b> Initials: _____ Date: ___/___/___
<b>Doctor:</b> Initials: _____ Sign: _____	<b>2nd data entry:</b> Initials: _____ Date: ___/___/___

Version 1.0 (19/06/2007)

## Sozioökonomischer Fragebogen

### Socioeconomic questionnaire:

ID:  
Date:  
Name:  
Ethnicity:  
Religion:  
GPS data:

<b>Education/ job /income</b>	
School education of mother:	Primary/Secondary/Post Secondary/none
School education of father:	Primary/Secondary/Post Secondary/none
Mothers job:	Trader/Artisans/Full time housewife/Civil Servant/Farmer/Other:
Is the mothers job	Inside/ Outside
If the mother has a job where is the child during this time?	With the mother at work/with the family/neighbours at home/some where else
Father's job:	Trader/Artisans/Civil Servant/unemployed/Farmer/Other:
Income (family income weekly):	In Cedi
Managing of income:	Not difficult/difficult/ very difficult

<b>Information about the house/ household</b>	
Mother's age:	In years
No. of births:	
At child birth: place selected/ hygienic conditions	Home/health facility
Attendant selected	Self/family/traditional attendant/qualified midwife/physician
No. of own children in the household:	
Total no. of children in household:	
No. of adults in household:	
No. of beds in the household	
No. of pets in the household	
House type:	Mud, cement, wood
Does the house have a roof?	Yes/no

If yes What kind of roof?	Straw/corrugated iron
Does the house have a door?	Yes/no
Does the house have windows?	Yes/no
Flooring	Tile/dirt/other
Water supply:	Inside tap/stand pipe/stored in barrels/ well/river/lake
If there is a water supply in the household does the family use additionally public water sites?	Yes/no
Electricity:	Yes/no
Refrigerator:	Yes/no
If yes: does it work?	Yes/no
Television:	Yes/no
If yes: does it work?	Yes/no
Kitchen:	Inside/outside
Radio:	Yes/no

<b>Information about the environment</b>	
River, Lake, Pond:	Estimated distance in km
Forest:	Estimated distance in km
Infrastructure/ transportation:	Asphalt roads/ tracks/path
Next health facility/ hospital	In cedis?/hours?

<b>Sanitary condition</b>	
Presence /type of toilet facilities	Flush toilet/other
Food handling (preparation/storage)	
Waste disposal	

<b>Management of sick child/ Medical Knowledge:</b>	
Visit to traditional healer:	Yes/no
Meantime elapsed from onset of the first symptom to visit at the hospital	In days
Knowledge of malaria:( what causes malaria?)	
Mosquito protection: If yes: what kind of mosquito protection?	Yes/no Bed net/insecticide (spray/repellent)/ window nets (screens)
Does the child sleep under the bed net?	Yes/no

## **Kapitel 10 Danksagung**

Ich danke meinem Doktorvater Prof. Dr. Jürgen May dafür, dass ich in seiner Arbeitsgruppe meine Doktorarbeit anfertigen und lernen durfte wissenschaftlich zu arbeiten.

Genauso danke ich meiner Arbeitsgruppe für deren fachliche und menschliche Unterstützung sowohl in Ghana als auch in Hamburg.

Meiner Familie danke ich für die Rücksicht und das Interesse und deren Besuch in Ghana.

Mein besonderer Dank gilt den Kindern in Ghana, für die wir diese Studie durchgeführt habe, und allen Begegnungen dort, die mich wachsen ließen.

Zuletzt danke ich dem DAAD für die Finanzierung meines Forschungsaufenthaltes in Ghana von April bis Oktober 2007 im Rahmen des Stipendium “Kurzfristige Studienaufenthalte für Abschlussarbeiten”.

## **Kapitel 11 Eidesstattliche Erklärung**

Ich versichere ausdrücklich, dass ich die Arbeit selbstständig 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: Maja Verena Nielsen