

Aus der Klinik und Poliklinik für Kinder- und Jugendmedizin  
der Universitätsmedizin der Johannes Gutenberg-Universität Mainz

Die Bedeutung von Harnwegsinfektionen bei Kindern unter Malariaverdacht –  
Epidemiologische und klinische Untersuchungen am Viktoriasee in Tansania

Inauguraldissertation  
zur Erlangung des Doktorgrades der  
Medizin  
der Universitätsmedizin  
der Johannes Gutenberg-Universität Mainz

Vorgelegt von

Nele Klamm  
aus Speyer

Mainz, 2024

Wissenschaftlicher Vorstand: Univ.-Prof. Dr. Hansjörg Schild

Tag der Promotion: 04. April 2025

## Abkürzungen

Abb.	Abbildung
ACIP	Advisory Committee on Immunization Practice
ACT	Artemisinin-based combination therapy
BMI	Body Mass Index
BMC	Bugando Medical Centre
bp	Basenpaare
bzw.	beziehungsweise
C	Celsius
ca.	circa
cDNA	complementary DNA
CHIKV	Chikungunya Virus
CUHAS	Catholic University for Health and Applied Sciences
DBS	Dried Blood Spots
DENV	Dengue Virus
DNA	Desoxyribonucleic Acid/Desoxyribonukleinsäure
dNTP	Desoxyribonukleotide
dRDT	Dengue Rapid Diagnostic Test/Dengueschnelltest
d	day(s)/Tag(e)
dL	Deziliter
DUS	Dried Urine Spots
dUTP	Deoxyuridine Triphosphat
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure
ELISA	Enzyme-linked Immunosorbent Assay
etc.	et cetera
FHI	Fraunhofer Institut in Leipzig
FBP	Full Blood Picture/Vollblutbild
g	Gramm
ggf.	gegebenenfalls
h	Stunde
Hb	Hämoglobin
Hkt	Hämatokrit
HIV	Human Immunodeficiency Virus
HRP2	Histidinreiches Protein 2

HWI	Harnwegsinfekt
i.d.R.	in der Regel
ITN	Insecticide Treated Net(s)
IgM	Immunglobulin M
IgG	Immunglobulin G
kg	Kilogramm
L	Liter
LE	Leukozytenesterase
ml	Milliliter
mm	Millimeter
mmol	Millimolar
mmHg	Millimeter Quecksilbersäule
mRDT	Malaria Rapid Diagnostic Test/Malariaschnelltest
mRT-PCR	Multiplex Reverse Transkriptase-PCR
MPCR	Multiplex-PCR
NICE	National Institute for Health and Care Excellence
NIMR	National Institute for Medical Research
NMFI	Non-Malaria Febrile Illness
OD	optische Dichte
ONNV	O'nyong'nyong Virus
µl	Mikroliter
n	Fallzahl
dl	Deziliter
PCR	Polymerase Chain Reaction
POPD	Pediatric Outpatient Department
POCT	Point of Care Diagnostic Test
P.	Plasmodium
p	p-Wert
pg	Pikogramm
RKI	Robert-Koch-Institut
RNA	Ribonucleic Acid/ Ribonukleinsäure
RT	Reverse Transkriptase
RVFV	Rift Valley Fever Virus
SD	Standardabweichung

Sek.	Sekunde(n)
SFV	Semliki Forest Virus
sog.	sogenannte(s)
spp.	Spezies
STRRH	Sekou Toure Regional Referral Hospital
Tab.	Tabelle
u.a.	unter anderem
V	Volumenanteil
Vgl.	Vergleich
vs.	versus
WHO	World Health Organization/Weltgesundheitsorganisation
WNV	West Nile Virus
YFV	Yellow Fever Virus
z.B.	zum Beispiel
ZIKV	Zika Virus

## Erklärung

Ich, Nele Klamm, erkläre, dass die vorgelegte Dissertationsschrift mit dem Thema:

„Die Bedeutung von Harnwegsinfektionen bei Kindern unter Malariaverdacht –  
Epidemiologische und klinische Untersuchungen am Viktoriasee in Tansania“

selbst verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel benutzt, ohne die unzulässige Hilfe Dritter verfasst und auch in Teilen keine Kopien anderer Arbeiten dargestellt habe.

Ergebnisse dieser Dissertationsschrift wurden vor Beendigung des Promotionsvorhabens 2024 im American Journal of Tropical Medicine and Hygiene unter dem Titel

“Challenges in Diagnosing and Treating Acutely Febrile Children with Suspected Malaria at Health Care Facilities in the Lake Mwanza Region of Tanzania”

publiziert.

Witten, den 01.08.2024

## Danksagung

An dieser Stelle möchte ich allen danken, die zum Gelingen der vorliegenden Arbeit beigetragen haben -

den Kindern und ihren Eltern in Mwanza, die sich bereit erklärten, an der Studie teilzunehmen sowie den Mitarbeiter:innen des Sekou Toure Regional Referral Hospitals und des Bugando Medical Centers in Mwanza, Tansania.

der Else-Kröner-Fresenius Stiftung, welche mir den Studienaufenthalt in Tansania und die Realisierung der vorliegenden Arbeit um ein Vielfaches erleichterte und meinen Eltern und Freund:innen, die mich in jeder Hinsicht unterstützt und zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben.

# Inhaltsverzeichnis

<b>1</b>	<b><u>EINLEITUNG</u></b>	<b>1</b>
<b>1.1</b>	<b>MALARIA</b>	<b>3</b>
1.1.1	ERREGERMERKMALE UND EPIDEMIOLOGIE	3
1.1.2	KLINISCHE SYMPTOME	4
1.1.3	DIAGNOSTIK	5
1.1.4	THERAPIE DER <i>P. FALCIPARUM</i> MALARIA	6
1.1.5	RESISTENZEN	7
1.1.6	PRÄVENTIVE STRATEGIEN	7
1.1.7	UMWELT UND KLIMA	8
<b>1.2</b>	<b>ARBOVIREN</b>	<b>8</b>
1.2.1	ERREGERMERKMALE UND EPIDEMIOLOGIE	8
1.2.2	KLINISCHE SYMPTOME	10
1.2.3	DIAGNOSTIK	11
1.2.4	THERAPIE	11
<b>1.3</b>	<b>DENGUE-VIRUS</b>	<b>12</b>
1.3.1	ERREGERMERKMALE UND EPIDEMIOLOGIE	12
1.3.2	KLINISCHE SYMPTOME	14
1.3.3	DIAGNOSTIK	14
1.3.4	THERAPIE	15
<b>1.4</b>	<b>CHIKUNGUNYA-VIRUS</b>	<b>15</b>
1.4.1	ERREGERMERKMALE UND EPIDEMIOLOGIE	15
1.4.2	KLINISCHE SYMPTOME	17
1.4.3	DIAGNOSTIK	17
1.4.4	THERAPIE	18
<b>1.5</b>	<b>ZIKA-VIRUS</b>	<b>18</b>
1.5.1	ERREGERMERKMALE UND EPIDEMIOLOGIE	18
1.5.2	KLINISCHE SYMPTOME	20
1.5.3	DIAGNOSTIK	20
1.5.4	THERAPIE	21
<b>1.6</b>	<b>HARNWEGSINFEKTIONEN BEI KINDERN</b>	<b>21</b>
1.6.1	PRÄVALENZ, ÄTIOLOGIE UND PATHOGENESE	21
1.6.2	SYMPTOME BEI HARNWEGSINFEKTIONEN IM KINDESALTER	22
1.6.3	DIAGNOSTIK	22
1.6.4	THERAPIE VON HARNWEGSINFEKTIONEN IM KINDESALTER	24
<b>2</b>	<b><u>PROBAND:INNEN, MATERIAL UND METHODEN</u></b>	<b>25</b>
<b>2.1</b>	<b>STUDIENORT</b>	<b>25</b>
2.1.1	SEKOU TOURE REGIONAL REFERRAL HOSPITAL	25
<b>2.2</b>	<b>PROBAND:INNEN</b>	<b>25</b>
2.2.1	EINSCHLUSSKRITERIEN UND AUSSCHLUSSKRITERIEN	25
2.2.2	ETHISCHE FREIGABE UND ZUSTIMMUNG	26
<b>2.3</b>	<b>PROBENGEWINNUNG</b>	<b>26</b>
2.3.1	ANAMNESE UND KÖRPERLICHE UNTERSUCHUNG	26
2.3.2	PROBENAHMEVERFAHREN	27
2.3.3	LAGERUNG DER PROBEN	27
2.3.4	TRANSPORT DER PROBEN	27
<b>2.4</b>	<b>LABORVERFAHREN</b>	<b>28</b>

2.4.1	MULTIPLEX PCR-ELISA DER DRIED BLOOD SPOTS.....	28
2.4.2	ELUIERUNG DER DRIED BLOOD SPOTS .....	29
2.4.3	ISOLATION DER RNA UND DNA .....	30
2.4.4	REVERSE TRANSKRIPTION UND PCR .....	30
2.4.5	AGAROSEGEL-ELEKTROPHORESE.....	31
2.4.6	ELISA.....	32
2.4.7	KONTROLLTESTS SINGLE-PRIMER RT-PCR.....	33
2.4.8	SINGLE PRIMER PCR FÜR DIE BESTIMMUNG VON ZIKA-VIRUS IM URIN .....	35
2.4.9	SEROLOGIE DER PROBEN AUF DENGUE- UND CHIKUNGUNYA-VIRUS .....	35
<b>2.5</b>	<b>DIAGNOSTIK VON HARNWEGSINFESTIONEN .....</b>	<b>36</b>
<b>2.6</b>	<b>STATISTISCHE AUSWERTUNG.....</b>	<b>36</b>
2.6.1	ÜBEREINSTIMMUNG VON MALARIA-SCHNELLTESTS UND PCR-ELISA .....	36
2.6.2	UNTERSCHIEDE ZWISCHEN MALARIA-POSITIVEN UND -NEGATIVEN PATIENTEN HINSICHTLICH DER SYMPTOME	36
2.6.3	UNTERSCHIEDE ZWISCHEN MALARIAPPOSITIVEN UND -NEGATIVEN PATIENTEN HINSICHTLICH DER LABORWERTE	36
<b>2.7</b>	<b>MATERIAL .....</b>	<b>37</b>
<b>3</b>	<b><u>ERGEBNISSE .....</u></b>	<b><u>41</u></b>
<b>3.1</b>	<b>STUDIENPOPULATION.....</b>	<b>41</b>
<b>3.2</b>	<b>IMPFFSTATUS, VORERKRANKUNGEN UND REISEANAMNESE .....</b>	<b>42</b>
<b>3.3</b>	<b>PRÄMEDIKATION.....</b>	<b>43</b>
<b>3.4</b>	<b>KLINISCHE SYMPTOME.....</b>	<b>44</b>
<b>3.5</b>	<b>KÖRPERLICHE UNTERSUCHUNG .....</b>	<b>46</b>
<b>3.6</b>	<b>MALARIA-ASSOZIIERTE SYMPTOME .....</b>	<b>47</b>
3.6.1	VERGLEICH DER SYMPTOME BEI MALARIA-POSITIVEN UND -NEGATIVEN PATIENT:INNEN .....	48
<b>3.7</b>	<b>SYMPTOME BEI PATIENT:INNEN MIT HARNWEGSINFESTEN .....</b>	<b>49</b>
<b>3.8</b>	<b>NACHVERFOLGUNG DER PATIENT:INNEN .....</b>	<b>49</b>
<b>3.9</b>	<b>MALARIA-DIAGNOSE .....</b>	<b>50</b>
3.9.1	MALARIA RAPID DIAGNOSTIC TEST .....	50
3.9.2	ARBEITSDIAGNOSE UND THERAPIE .....	50
3.9.3	MALARIA DIAGNOSE DURCH PCR .....	51
<b>3.10</b>	<b>DENGUE DIAGNOSE .....</b>	<b>52</b>
3.10.1	DENGUE RAPID DIAGNOSTIC TEST .....	52
3.10.2	DENGUE VIRUS IN DER MPCR UND ELISA .....	52
<b>3.11</b>	<b>NACHWEIS VON ARBOVIREN IN PCR UND ELISA .....</b>	<b>53</b>
3.11.1	NACHWEIS VON ZIKA-VIRUS IM URIN .....	53
<b>3.12</b>	<b>SEROLOGIE ARBOVIRALER ANTIKÖRPER .....</b>	<b>53</b>
<b>3.13</b>	<b>URINANALYSE.....</b>	<b>54</b>
3.13.1	URINTESTSTREIFEN.....	54
3.13.2	ARBEITSDIAGNOSE „HARNWEGSINFEST“ .....	56
3.13.3	THERAPIE DES HARNWEGSINFESTS.....	56
3.13.4	PROTEIN-KREATININ-QUOTIENT .....	56
3.13.5	ÜBEREINSTIMMUNG DER TESTERGEBNISSE IM HINBLICK AUF PROTEINURIE BEI URINTESTSTREIFEN UND PROTEIN-KREATININ-QUOTIENT IM LABOR .....	57
3.13.6	ZUSAMMENHANG ZWISCHEN PROTEINURIE UND MALARIA.....	57
<b>3.14</b>	<b>LABORWERTE .....</b>	<b>58</b>
3.14.1	HÄMOGLOBINWERTE.....	58
3.14.2	THROMBOZYTENWERTE .....	59
3.14.3	LEUKOZYTENWERTE.....	60
<b>4</b>	<b><u>DISKUSSION .....</u></b>	<b><u>61</u></b>

<b>4.1</b>	<b>KRITISCHE DISKUSSION DES STUDIENDESIGNS UND DER ANGEWANDTEN METHODEN.....</b>	<b>61</b>
<b>4.2</b>	<b>ÜBERDIAGNOSE VON MALARIA BEI FIEBERNDEN KINDERN .....</b>	<b>62</b>
<b>4.3</b>	<b>ÜBERMÄßIGER GEBRAUCH VON MALARIAMEDIKAMENTEN.....</b>	<b>62</b>
<b>4.4</b>	<b>GERINGE SENSITIVITÄT DES MRDT .....</b>	<b>63</b>
<b>4.5</b>	<b>PRÄVALENZ VON ARBOVIRALEN ERKRANKUNGEN .....</b>	<b>65</b>
4.5.1	NACHWEIS MITTELS DENGUE VIRUS-SCHNELLTEST.....	65
4.5.2	NACHWEIS VON ARBOVIREN MITTELS MULTIPLEX-PCR .....	65
4.5.3	NACHWEIS VON ZIKA-VIRUS IM URIN .....	66
4.5.4	NACHWEIS VON ARBOVIRALEN ANTIKÖPERN IN DER SEROLOGIE .....	66
<b>4.6</b>	<b>HARNWEGSINFEKTIONEN BEI KINDERN UNTER MALARIA-VERDACHT.....</b>	<b>68</b>
4.6.1	DIAGNOSE VON HARNWEGSINFEKTIONEN .....	68
4.6.2	ABWESENHEIT VON NITRIT-POSITIVEN URINTESTSTREIFEN .....	69
<b>4.7</b>	<b>PRÄVALENZ VON HARNWEGSINFEKTIONEN BEI KINDERN UNTER MALARIA-VERDACHT.....</b>	<b>70</b>
<b>4.8</b>	<b>PROTEINURIE UND NEPHROTISCHES SYNDROM.....</b>	<b>71</b>
<b>4.9</b>	<b>LABORWERTE IM ZUSAMMENHANG MIT MALARIA.....</b>	<b>71</b>
4.9.1	HÄMOGLOBIN .....	71
4.9.2	LEUKOZYTEN .....	71
4.9.3	THROMBOZYTEN.....	72
<b>5</b>	<b><u>ZUSAMMENFASSUNG .....</u></b>	<b><u>73</u></b>
<b>6</b>	<b><u>AUSBLICK .....</u></b>	<b><u>76</u></b>
<b>7</b>	<b><u>ANHANG.....</u></b>	<b><u>79</u></b>
<b>7.1</b>	<b>INFORMATIONSBLETT.....</b>	<b>79</b>
<b>7.2</b>	<b>EINVERSTÄNDNISERKLÄRUNG.....</b>	<b>81</b>
<b>7.3</b>	<b>FRAGEBOGEN .....</b>	<b>83</b>
<b>7.4</b>	<b>LITERATURVERZEICHNIS .....</b>	<b>89</b>

# 1 Einleitung

Fieber ist eines der häufigsten klinischen Symptome bei Kindern in Afrika südlich der Sahara. Pädiater:innen stehen oft vor der Herausforderung die vielen möglichen Ursachen von Fieber auszumachen. Die Symptome verschiedener Fieber-Ätiologien ähneln einander und spezifische Point-of-Care-Diagnostiken sind selten.

Malaria ist immer noch die Hauptursache für Morbidität und Mortalität in Afrika. Studien zeigen jedoch, dass die Malaria-Inzidenzen in den letzten Jahren zurückgehen. Zwischen 2000 und 2019 ging die Fallinzidenz auf dem afrikanischen Kontinent laut Weltgesundheitsorganisation (WHO) von 373 auf 225 pro 1000 gefährdete Einwohner:innen zurück, stieg jedoch 2020 wieder auf 234 pro 1000 gefährdete Einwohner:innen an, was vor allem auf Unterbrechungen der Versorgung während der COVID-19-Pandemie zurückzuführen ist. Nach diesem leichten Anstieg im Jahr 2020 von 3 % sind die Inzidenzraten in den letzten drei Jahren stabil geblieben und die zuvor global erreichten Erfolge in Bezug auf die Malariabekämpfung sind seither ins Stocken geraten. Die Verschreibung von Malariamedikamenten und Antibiotika sind zahlreichen Studien zufolge hoch. Resistenzen gegen Malariamedikamente sind bekannt und nehmen zu.

Es ist bekannt, dass nicht nur Malaria, sondern eine Vielzahl anderer bakterieller und viraler Erreger Fieber bei Kindern in Afrika südlich der Sahara verursachen. Arboviren wie das Chikungunya-Virus, das Zika-Virus oder das Dengue-Virus haben weltweit mehrere Ausbrüche verursacht. Es wird angenommen, dass arbovirale Infektionen auch in der Sub-Sahara-Region weit verbreitet sind. Aufgrund des Mangels an zuverlässigen epidemiologischen Studien ist jedoch noch nicht bekannt, inwieweit arbovirale Infektionen eine Rolle bei fieberhaften Erkrankungen in dieser Region der Welt spielen.

Arbovirale Infektionen stellen große Anforderungen an unsere Gesundheitssysteme. Die Identifizierung von arboviralen Infektionen ist schwierig, da sich die klinischen Symptome ähneln und diagnostische Tests in endemischen Ländern oft nicht verfügbar sind. Autochthone Ausbrüche des Dengue- und Chikungunya- und West-Nil-Virus wurden bereits in Südeuropa gemeldet. Darüber hinaus wird der Klimawandel wahrscheinlich zu einer verstärkten klimabedingten Migration mit massiven Menschenbewegungen führen und eine entscheidende Rolle bei der Ausbreitung von arboviralen Krankheiten spielen. Die jüngste Ausbreitung des

Zika-Virus, des Chikungunya-Virus, des Dengue-Virus, des West-Nil-Virus und anderer Arboviren ist ein aufkommendes globales Gesundheitsproblem, das den dringenden Bedarf an spezifischer und kostengünstiger Point-of-Care-Diagnostik verdeutlicht.

Harnwegsinfektionen sind eine häufige Ursache für fiebrige Erkrankungen bei Kindern. Sie werden jedoch oft nicht erkannt, da die Symptome unspezifisch sind und anderen fieberhaften Erkrankungen ähneln können. Die Mehrzahl der fiebrigen Kinder wird in endemischen Ländern immer noch primär mit Antimalariamitteln behandelt.

Ziel dieser Studie ist es, ein tieferes Verständnis der vorherrschenden Erreger und Ätiologien zu erlangen, die Fieber bei Kindern verursachen, um die medizinische Versorgung pädiatrischer Patient:innen zu verbessern. Darüber hinaus soll diese Arbeit zur Entwicklung eines Multiplex-PCR-Verfahrens zum Nachweis von Erregern malariaähnlicher Krankheiten in der Region des Viktoriasees beitragen.

Unsere Hypothesen sind:

1. Malaria wird bei Kindern mit Fieber überdiagnostiziert und übertherapiert
2. Arboviren sind an unserem Studienort in Tansania prävalent
3. Harnwegsinfektionen bei Kindern unter Malaria-Verdacht werden unterdiagnostiziert

## 1.1 Malaria

### 1.1.1 Erregermerkmale und Epidemiologie

Es gibt vier Arten von Parasiten, die beim Menschen Malaria verursachen: *Plasmodium falciparum*, *Plasmodium vivax*, *Plasmodium ovale* und *Plasmodium malariae*. Die Malariaparasiten nutzen den Menschen als Zwischenwirt für die ungeschlechtliche Vermehrung, der Endwirt ist die weibliche Anopheles-Mücke. Der Vorgang der ungeschlechtlichen Vermehrung findet beim Menschen in der Leber und in den Erythrozyten statt (Hof, 2009).

Malaria ist eine der am weitest verbreiteten Infektionskrankheiten der Welt, wobei *P. vivax* und *P. falciparum* für mehr als 95 % der Infektionen verantwortlich gemacht werden (Hof, 2009, Garcia, 2010). Laut WHO gab es im Jahr 2017 weltweit 219 Millionen Malaria-Fälle und fast eine halbe Million Malaria-Tote (WHO, 2019a). Im Jahr 2022 gab es weltweit ca. 249 Millionen Malariafälle in 85 endemischen Ländern (WHO, 2023c).

Laut dem WHO Malariabericht aus dem Jahr 2022 starben etwa 475 000 Kinder in Afrika an Malaria (WHO, 2022c). Der Anteil der Malaria-Todesfälle bei Kindern unter 5 Jahren ging von 87 % im Jahr 2000 auf 76 % im Jahr 2015 zurück. Seitdem ist laut der WHO diesbezüglich keine Veränderung eingetreten (WHO, 2023c).

Der geografische Schwerpunkt der Erkrankung liegt in Afrika (siehe Abb. 1). Der WHO Malariabericht 2023 gibt an, dass im Jahr 2022 mit ca. 233 Millionen Fällen 94 % aller weltweiten Malariafälle in Afrika auftraten (WHO, 2023c). Im Jahr 2022 entfielen mehr als die Hälfte aller Malaria-Todesfälle auf vier afrikanische Länder: Nigeria (31 %), die demokratische Republik Kongo (12 %), Niger (6 %) und die Vereinigte Republik Tansania (4 %) (WHO, 2023c).

In Tansania ist *P. falciparum* die Hauptursache für Malaria-Übertragungen (WHO, 2018a).

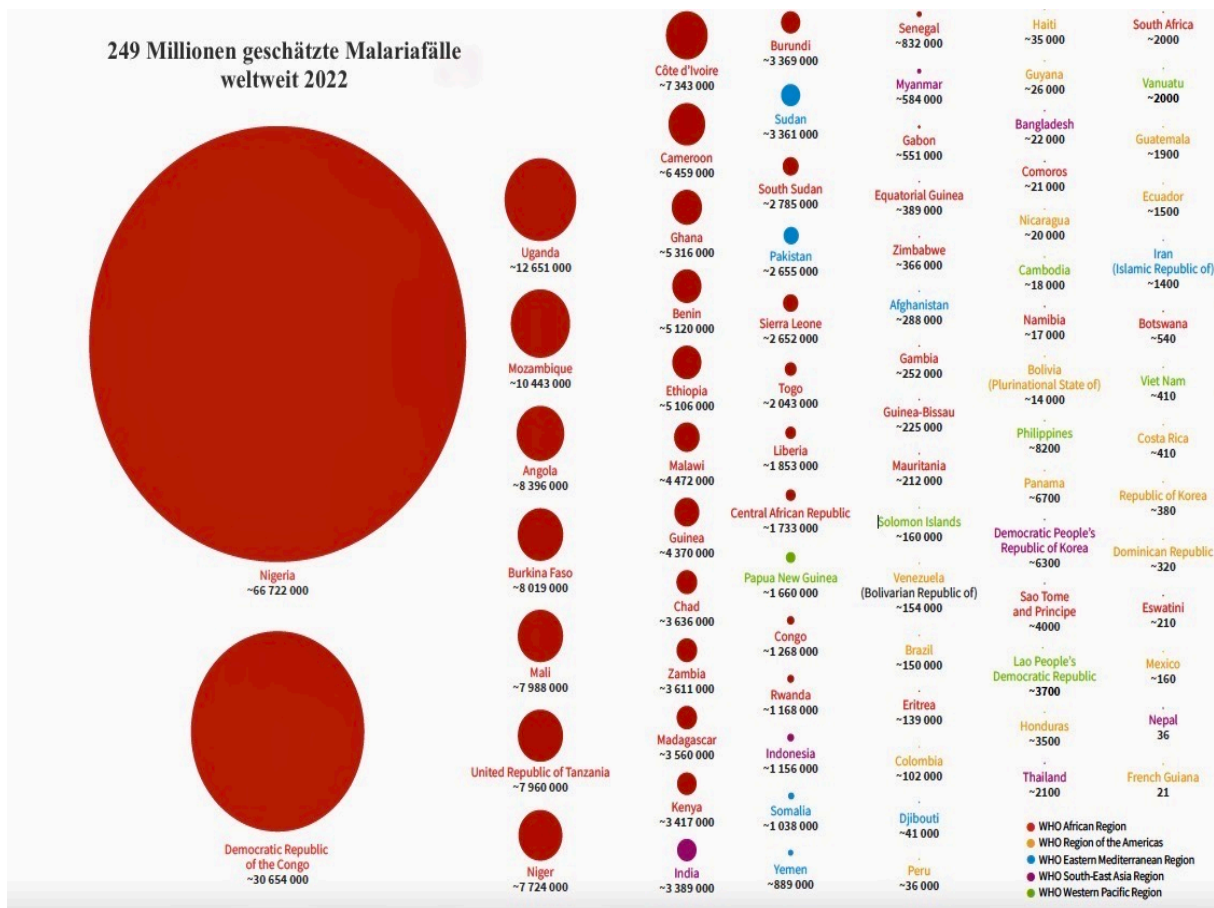


Abbildung 1 Geschätzte Zahl der Malariafälle pro Land und Gebiet im Jahr 2022 Quelle: WHO-Datenbank, modifizierte Abbildung (WHO, 2023c).

Obwohl Malaria immer noch die führende Ursache für Mortalität und Morbidität in Afrika ist, sind die Übertragungszahlen in vielen afrikanischen Ländern rückläufig (D'Acremont et al., 2014, D'Acremont and Genton, 2010). Ein verbessertes Bewusstsein über die Infektion und die Einführung der Artemisinin-basierten Kombinationstherapie (ACT) sind verantwortlich für den Rückgang der Malariaerkrankungen in Tansania (Froeschl et al., 2018). Jedoch sind die globalen Fortschritte der letzten Jahre ins Stocken geraten. Nachdem die Malaria-Inzidenz im Jahr 2000 von 81 pro 1000 gefährdete Einwohner:innen im Jahr auf 57 im Jahr 2019 zurückging, sind nach einem leichten Anstieg von 3 % im Jahr 2020 die Inzidenzraten in den letzten drei Jahren lediglich stabil geblieben (WHO, 2023c). Der Anstieg der Inzidenz im Jahr 2020 ist wahrscheinlich auf Unterbrechungen der Versorgung während der COVID-19-Pandemie zurückzuführen (WHO, 2023c).

### 1.1.2 Klinische Symptome

Die klinischen Symptome variieren in Abhängigkeit von dem verursachenden Parasiten. Die Inkubationszeit beträgt typischerweise 7-14 Tage und ist durch unspezifische Grippesymptome

gekennzeichnet (Hof, 2009). Die gefährlichste Malariaform wird durch *P. falciparum* verursacht und als "Malaria tropica" bezeichnet. Sie ist die häufigste Form der Malaria in Tansania (WHO, 2018b). Die Malaria tropica ist gekennzeichnet durch anhaltendes Fieber, einen schweren Krankheitsverlauf und eine hohe Sterblichkeitsrate. Infizierte Erythrozyten neigen zur Aggregation und bergen die Gefahr der Thromboisierung, was zu Störungen der Mikrozirkulation in verschiedenen Organen führen kann (WHO, 2018b).

Komplikationen wie eine Anämie, akutes Nierenversagen, Hypoglykämie, Hepatitis mit Ikterus, Sepsis und Bewusstseinsstörungen (zerebrale Malaria) können auftreten (Hof, 2009, WHO, 2015). Typische klinische Anzeichen für Malaria sind hohes Fieber und eine Splenomegalie (Hof, 2009). Bei jüngeren Säuglingen kann sich Malaria mit Nahrungsverweigerung, Erbrechen, Lethargie und Husten präsentieren (WHO, 2015). Bei Kindern ist es wahrscheinlicher, dass sie eine schwere Malaria entwickeln und sie gehören deshalb neben Schwangeren zur Risikogruppe (Kafai and Odom John, 2018). Im Allgemeinen sind die Malaria-Symptome unspezifisch und es gibt keine zuverlässigen klinischen Anzeichen, die Malaria von anderen fieberhaften Erkrankungen unterscheiden (WHO, 2015).

### 1.1.3 Diagnostik

Die WHO empfiehlt eine parasitologische Untersuchung mittels Mikroskopie, Malaria-Antigen-Schnelltest (englisch Malaria Rapid Diagnostic Test, mRDT) oder Polymerase-Kettenreaktion (englisch polymerase chain reaction, PCR) für alle Malariaverdachtsfälle vor der Behandlung ((WHO), 2022, WHO, 2015). Der mikroskopische Nachweis von Malariaparasiten im Blutaussstrich (sog. „dicker Tropfen“) gilt als Goldstandard für die Diagnose. Jedoch ist eine zuverlässige, qualitativ hochwertige Mikroskopie am Teststandort nur selten verfügbar ((WHO), 2022). In einer Studie von Harchut et. al handelte es sich zudem bei 4 von 5 mikroskopisch ermittelten Malariafällen in Tansania um höchstwahrscheinlich falsch-positive Ergebnisse (Harchut et al., 2013). Verschiedene Ansätze zur Entwicklung einer standardisierten digitalen Mikroskopie befinden sich in der Entwicklung (WHO, 2022c). Generell wird empfohlen, bei Verdachtsfällen eine zeitnahe und genaue Diagnostik durchzuführen, um sowohl schwere Komplikationen, als auch unnötige Behandlungen mit Antimalariamitteln zu vermeiden (WHO, 2015). Darüber hinaus befinden sich mehrere neue Diagnoseverfahren im Point-of-care-Bereich zum Nachweis sehr geringerer Parasitendichten in der Entwicklung, z.B. wurde in Nigeria ein Urin-Schnelltest zum Nachweis des von *P. falciparum* exprimierten histidinreichen Protein 2 (HRP2) entwickelt und vermarktet, jedoch wird dieser bisher von der WHO nicht empfohlen (WHO, 2022c).

### 1.1.3.1 Malaria-Antigen-Schnelltests

Schnelldiagnostetests für Malaria (mRDTs) werden in der Malariadiagnostik immer wichtiger. Diese weisen meist das von *P. falciparum* exprimierte HRP2-Antigen nach und werden als sog. single-line-Tests bezeichnet (WHO, 2022c). Weltweit wurden zwischen 2010 und 2022 3,9 Milliarden mRDTs verkauft, wobei mehr als 82 % der Verkäufe auf afrikanische Länder südlich der Sahara entfielen (WHO, 2023c). In zwei Meta-Analysen wurde gezeigt, dass der Einsatz von mRDTs mit der Lichtmikroskopie vergleichbar ist (Marx et al., 2005, Ochola et al., 2006). Darüber hinaus ist die Leistung von mRDTs im Vergleich zur Mikroskopie anwenderunabhängig und objektiver. Die Nachweisgrenze der mRDTs liegt bei ca. 100 Parasiten pro Liter (Singh et al., 2000, Moody, 2002).

Eine Studie von D'Acromont et al. zeigte, dass die Implementierung von mRDTs in endemischen Gebieten zu einem drastischen Rückgang der Überbehandlung mit Antimalariamitteln führte (D'Acromont et al., 2011). Dies unterstützen ebenfalls die Ergebnisse einer Studie von Koliopoulos et al. aus dem Jahr 2024, welche in der Mwanza Region in Tansania durchgeführt wurde und eine deutlich erhöhte Sensitivität und Spezifität des mRDTs im Vergleich zur Mikroskopie des Blutausstrichs aufzeigt (Koliopoulos et al., 2024). In den letzten Jahren hat die Zahl der *P. falciparum*-Parasiten mit Pfh<sub>2/3</sub>-Gendelektionen zugenommen, was eine Gefahr für die zuverlässige Diagnose mithilfe von single-line-mRDTs darstellt (WHO, 2022c).

### 1.1.3.2 PCR

Die PCR ist die genaueste und sensitivste Methode zum Nachweis von Malaria, aber sie gilt auch als vergleichsweise kostspielig und langwierig im Verfahren, hängt von den Laborbedingungen ab und ist im klinischen Umfeld endemischer Gebiete oft nicht verfügbar (Hanscheid and Grobusch, 2002). Die Nachweisgrenze von Malariaparasiten liegt bei <5 Parasiten pro Liter (Moody, 2002, Rubio et al., 1999, Hanscheid and Grobusch, 2002).

### 1.1.4 Therapie der *P. falciparum* Malaria

Die WHO empfiehlt Kinder und Erwachsene mit unkomplizierter Malaria mit einer Artemisinin-basierten Kombinationstherapie (englisch artemisininbased combination therapy, ACT) über drei Tage zu behandeln (WHO, 2015). Seit dem Jahr 2012 sieht die WHO-Richtlinie eine sog. „test and treat“-Strategie vor, welche eine parasitologische Bestätigung vor der Verabreichung von Malariamedikamenten voraussetzt und damit einer präsumptiven Malariatherapie pädiatrischer Patient:innen vorbeugen soll (WHO, 2012).

Darüber hinaus treten insbesondere bei schwerer Malaria häufig Komplikationen auf, die bei der Therapie berücksichtigt werden müssen. Zu diesen Komplikationen können z.B. Hypoglykämie, Koma, Konvulsionen, hohes Fieber, akutes Lungenödem, spontane Blutungen, akutes Nierenversagen, metabolische Azidose und Schock zählen (WHO, 2015). In solchen Fällen müssen eine Flüssigkeitstherapie, eine Bluttransfusion, die gleichzeitige Verwendung von Antibiotika oder Antikonvulsiva in Betracht gezogen werden (WHO, 2015).

### 1.1.5 Resistenzen

Laut WHO sind Resistenzen gegen alle Klassen von Malariamedikamenten, einschließlich der Artemisinin-Derivate, dokumentiert worden und stellen eine große Bedrohung für die Malariakontrolle dar. Als Grund wird ein weit verbreiteter unsachgemäßer Einsatz von Malariamitteln vermutet (WHO, 2015). Derzeit befinden sich nicht-ACT-Behandlungsoptionen, wie z.B. Ganaplacid-Lumefantrin, M5717-Pyronaridin, ZY19489-Ferroquin oder Cipargamin, in der Entwicklung, welche insbesondere schwangere Menschen und Kinder schützen sollen, die einem erhöhten Risiko für die Folgen einer Malariainfektion ausgesetzt sind (WHO, 2022c).

### 1.1.6 Präventive Strategien

Untersuchungen zeigen, dass die derzeitigen Malariamaßnahmen bei der Verringerung der Prävalenz und Inzidenz auf dem gesamten Kontinent eine gute Wirksamkeit zeigen. Jedoch erfordere es laut einiger Autor:innen weiterer Intensivierungen dieser Maßnahmen, um die Ausbreitung der Medikamenten- und Insektizidresistenz aufzuhalten (Bhatt et al., 2015). Wichtige Elemente zur Malariakontrolle bestehen aus einer Expositionsprophylaxe durch insektizidbehandelte Moskitonetze und Innenräume, sowie die schnelle und zuverlässige Diagnose durch Bereitstellung von mRDTs und ACT-Therapien (Bhatt et al., 2015, WHO, 2018b, (RKI), 2017)). Als das kosteneffektivste Mittel gegen Infektionskrankheiten befinden sich Malaria-Impfstoffe derzeit in der Entwicklung (Lyke, 2017). Der RTS,S/AS01-Impfstoff ist der erste und derzeit einzige von der WHO empfohlene Malaria-Impfstoff. Im Jahr 2015 erhielt er ein positives wissenschaftliches Gutachten von der Europäischen Arzneimittel-Agentur. Im Jahr 2019 erhielt er die nationale Zulassung für die Verwendung in Pilotgebieten in Ghana, Kenia und Malawi, wo er Kindern im Rahmen einer schrittweisen Einführung als Teil der Routineimpfungen zur Verfügung gestellt wird ((WHO), 2022, Agency, 2015). Auf dieser Grundlage werden die Länder in Gebieten mit hoher saisonaler Malaria oder mit ganzjähriger Malariaübertragung mit saisonalen Höchstwerten in der WHO-Empfehlung

dringend dazu aufgerufen, den breiten Einsatz des RTS, S-/AS01- Malaria-Impfstoffs zu erwägen (WHO, 2022c). Bislang erhielten geschätzt zwei Millionen Kinder mindestens eine Dosis des Impfstoffs im Rahmen des von der WHO koordinierten Programms. Daten aus diesem Pilotprojekt weisen darauf hin, dass der Erhalt dieses RTS,S/AS01-Impfstoffs die Zahl der frühkindlichen Todesfälle in den drei Ländern um 13 % reduziert habe. Im Oktober 2023 wurde eine weitere Empfehlung bezüglich eines zweiten Malariaimpfstoffs, R21, von Seiten der WHO ausgesprochen (WHO, 2023c).

### 1.1.7 Umwelt und Klima

Herausforderungen im Kampf gegen Malaria liegen in der Resistenz der Parasiten gegen Malariamittel, der Resistenz der Stechmücken gegen Insektizide und der unzureichenden Leistungsfähigkeit der Gesundheitssysteme (WHO, 2018b). Darüber hinaus könnten auch die globale Erwärmung und der Klimawandel Auswirkungen auf die Ausbreitung der Krankheit haben, da der Vektor stark von Temperatur- und Niederschlagsfaktoren beeinflusst wird. Es gibt Schätzungen, dass die Kindersterblichkeit bis zum vierten Lebensjahr in einigen Gebieten aufgrund des Klimawandels bis zum Ende des 21. Jahrhunderts um bis zu 20 % ansteigen könnte (Dasgupta, 2018). Darüber hinaus können Faktoren wie Migration, fortschreitende Globalisierung, Tourismus und Urbanisierung große Auswirkungen auf die Malariaübertragung haben, da infizierte Menschen oder Moskitos in Länder mit niedrigem Endemiegrad migrieren und sich die Krankheit anschließend dort ausbreiten kann (Rossati et al., 2016). Laut des Robert-Koch-Instituts (RKI) wurden im Jahr 2022 in Deutschland insgesamt 768 importierte Malariaerkrankungen registriert, wovon sich ca. 94 % der Erkrankten, wie auch in den Vorjahren, zuvor in einem afrikanischen Land infizierten und insgesamt 9 Fälle letal verliefen (RKI, 2023c).

## 1.2 Arboviren

### 1.2.1 Erregermerkmale und Epidemiologie

Der Begriff "Arbovirus" bezieht sich auf von Arthropoden übertragene Viren, die durch Arthropodenbisse oder -stiche auf Menschen und andere Säugetiere übertragen werden können (RKI, 2004). Arboviren, die für den Menschen relevant sind, gehören zu folgenden Familien: *Flaviviridae* (Gelbfieber-Virus (englisch Yellow Fever Virus, YFV), Dengue-Virus 1-4 (DENV), West-Nil-Virus (WNV), Zika-Virus (ZIKV)), *Togaviridae* (Chikungunya-Virus (CHIK-V), Semliki Forest-Virus (SFV), O'nyong-nyong-Virus (ONNV)) und *Bunyaviridae* (Rift Valley Fieber-Virus, RVFV) (RKI, 2004).

Diese verschiedenen Familien von Arboviren haben gemeinsam, dass sie ein RNA-Genom teilen, das es diesen Viren erlaubt, sich schnell an sich ständig ändernde Wirts- und Umweltbedingungen anzupassen (Beckham and Tyler, 2015).

Der Tourismus und der Transport von Nutztieren tragen zur Verbreitung von Krankheiten bei. In den letzten Jahren wurden Fälle von einheimischen Vögeln bekannt, die mit dem West-Nil-Virus infiziert waren (Ärzteblatt, 2018). Das RKI meldete 2019 zwei WNV-Infektionen beim Menschen in Deutschland (Ärzteblatt, 2019a). Es wird vermutet, dass in beiden Fällen das Virus durch lokale Stechmücken übertragen wurde. Auch der erste autochthone Zika-Virus-Fall in Südfrankreich wurde 2019 vermutet (Ärzteblatt, 2019b). In Deutschland wurden 2022 10 importierte Zikavirus-Fälle gemeldet (RKI, 2023c). Darüber hinaus wurden 2019 drei Fälle von Infektionen mit dem Dengue-Virus in Frankreich und Katalonien gemeldet. Die betroffenen Patient:innen waren zuvor nicht in endemische Länder gereist und hatten sich höchstwahrscheinlich in Europa infiziert (Ärzteblatt, 2019a). Ein anderes Beispiel ist die Dengue-Epidemie auf Madeira im Jahr 2012, wo die Ansiedlung des (sub)tropischen Mückenvektors *Aedes aegypti* einen Dengue-Ausbruch nach der Einschleppung des Virus durch einen Reisenden, der aus einem endemischen Land zurückkehrte, ermöglichte (Sousa et al., 2012, Esser et al., 2019). Dem RKI wurden zudem 2022 16 importierte Chikungunya-Fälle gemeldet, wobei bisher noch keine autochthonen Übertragungen in Deutschland übermittelt wurden (RKI, 2023c). Mehrere Beispiele für die Einschleppung und/oder geografische Ausbreitung arboviraler Infektionen und ihrer Vektoren in Europa unterstreichen die Notwendigkeit einer wirksamen Überwachung in Hochrisikogebieten, um eine möglichst frühzeitige Erkennung zu ermöglichen, die eine Voraussetzung für ein angemessenes Risikomanagement ist (Esser et al., 2019, Gould et al., 2010, Venturi et al., 2017, Rezza et al., 2007, Calba et al., 2017).

Arbovirale Infektionen gewinnen in der westlichen Welt durch reiseassoziierte Infektionen und endemische Übertragungen immer mehr an Bedeutung (Beckham and Tyler, 2015). Für das medizinische Personal wird es eine Herausforderung sein Patient:innen, die mit Arboviren infiziert sind, anhand der klinischen Anzeichen zu identifizieren.

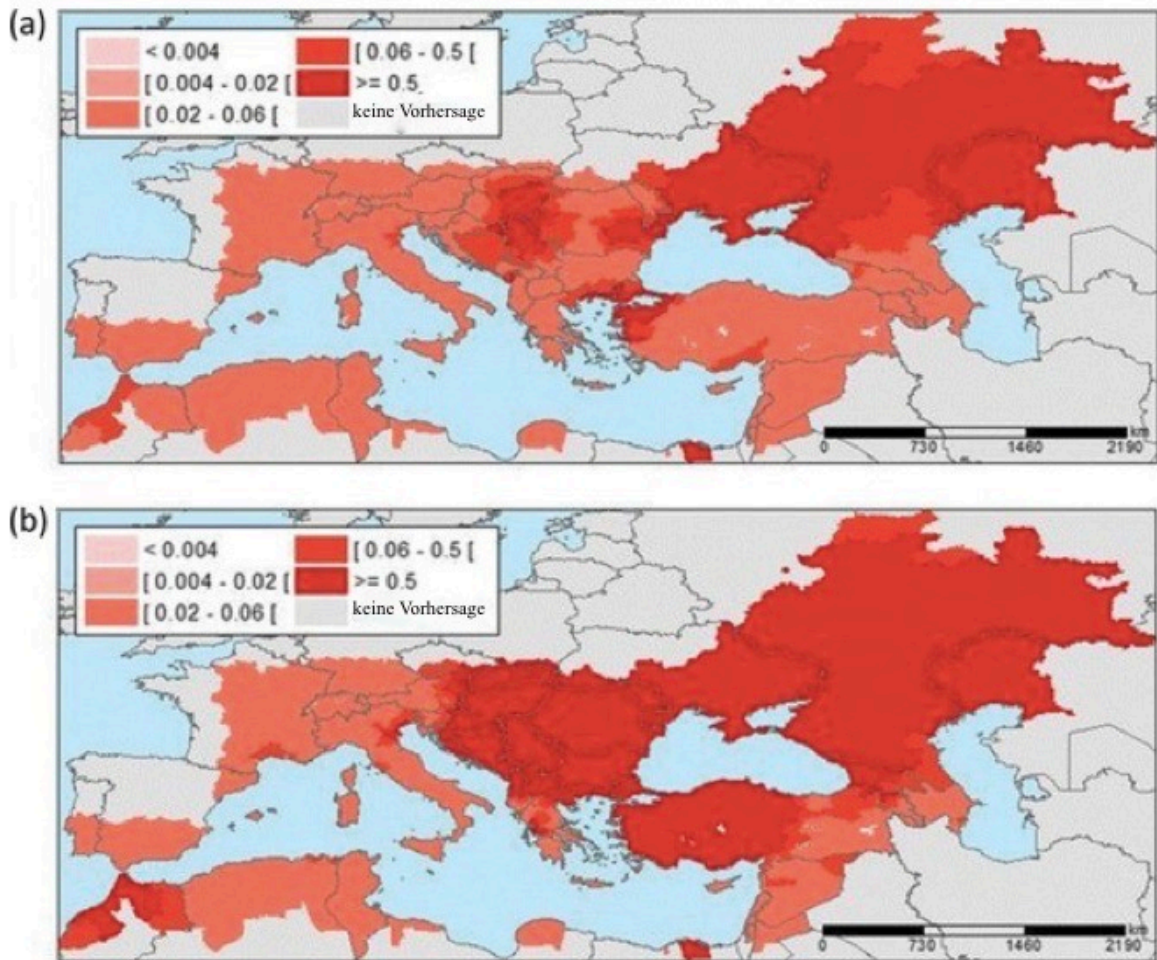


Abbildung 2 Vorhergesagte Wahrscheinlichkeit von Bezirken mit West-Nil-Virus (WNV) - Infektionen für (a) 2025 und (b) 2050, modifiziert nach Whitehorn et al. (Whitehorn and Yacoub, 2019).

Der Klimawandel führt zu einer Veränderung der Epidemiologie von arboviralen Infektionen. Veränderte Niederschläge, extreme Temperaturen und Überschwemmungen können die übertragenden Vektoren beeinflussen und somit möglicherweise zu einer Zunahme und Ausbreitung von arboviralen Infektionen führen. So schätzen einige Autor:innen, dass sich die Inzidenzen von beispielsweise West-Nil-Virus (WNV)-Infektionen in den nächsten Jahrzehnten insbesondere auf dem asiatischen und afrikanischen Kontinent deutlich erhöhen werden (siehe Abb. 2)(Whitehorn and Yacoub, 2019).

### 1.2.2 Klinische Symptome

Arbovirale Infektionen zeigen entweder asymptomatische oder unspezifische klinische Symptome, wie Kopfschmerzen, Fieber, Arthralgien und/oder Myalgien (RKI, 2004). Daher kann anhand der klinischen Symptome nicht eindeutig zwischen verschiedenen arboviralen Infektionen oder z.B. einer vorliegenden Malariaerkrankung unterschieden werden.

Arbovirale Infektionen können auch schwere Verläufe annehmen. Beispielsweise können sich

WNV-Infektionen als Meningitis, Enzephalitis oder akute Paralysen manifestieren (Kramer et al., 2007, Bode et al., 2006).

### 1.2.3 Diagnostik

Die häufigste Diagnosemethode zur Detektion von Arbovirus-Infektionen ist die Serologie (Charrel, 2016). Nach einigen Tagen der Infektion entwickeln sich IgM-Antikörper und in der Regel sind einige Tage später IgG-Antikörper nachweisbar. IgM-Antikörper können bis zu 3 Monate nach der Infektion nachgewiesen werden, IgG-Antikörper sind über Monate bis Jahre nachweisbar (Charrel, 2016).

Die Diagnose von arboviralen Erkrankungen auf der Basis serologischer Tests kann schwierig sein, da IgM-Antikörper über einen längeren Zeitraum persistieren können und viele Arboviren zu serologischen Kreuzreaktionen neigen (Charrel, 2016). Daher ist es notwendig, individuelle Hintergrundinformationen wie Impfstatus, Reiseinformationen und individuelles Verhalten miteinzubeziehen, um serologische Testergebnisse richtig zu interpretieren (Charrel, 2016). Multiplexe serologische Protein-Microarrays unter Verwendung rekombinanter NS1-Proteine zum Nachweis von Viren der Flavivirus-Familie sind in der Entwicklung und zeigen interessante Ergebnisse (Cleton et al., 2015).

Multiplexe RT-PCR-Assays für den Nachweis von Arboviren in einer einzigen Reaktion sind ebenfalls in der Entwicklung und werden in dieser Arbeit u.a. verwendet (Mishra et al., 2019). In jüngster Zeit wurden molekulare Methoden entwickelt, welche bei konstanter Raumtemperatur durchgeführt werden können (isotherme Amplifikation), was eine zukünftig vielversprechende Möglichkeit der Diagnostik darstellen könnte (Varghese et al., 2023).

### 1.2.4 Therapie

Derzeit gibt es keine zugelassenen spezifischen Therapien für arbovirale Infektionen (Beckham and Tyler, 2015). Demnach werden arbovirale Infektionen symptomatisch therapiert, beispielsweise mit Antipyretika, Analgetika und intravenöser Flüssigkeitssubstitution.

Impfstoffe gegen Gelbfieber sind seit mehreren Jahren im Einsatz und verfügbar. Dengue-Impfstoffe befinden sich in der Entwicklung, wobei bereits zwei Impfstoffe zugelassen wurden. Weitere Informationen hierzu siehe Kapitel 1.3.1.

Neuere Studien berichten über die Entwicklung monoklonaler Antikörper zur prophylaktischen und therapeutischen antiviralen Behandlung gegen Dengue-, Zika-, Chikungunya- und Westnilviren (Ormundo et al., 2023).

## 1.3 Dengue-Virus

### 1.3.1 Erregermerkmale und Epidemiologie

Das Dengue Virus (DENV) gehört zur Gattung der Flaviviren aus der Familie der *Flaviviridae*. Es gibt vier verschiedene Dengue Serotypen: DEN-1, DEN-2, DEN-3 und DEN-4 (WHO, 2019a).

Dengue ist eine durch Stechmücken übertragene Viruserkrankung. Die meisten Dengue-Infektionen verlaufen entweder asymptomatisch oder mild. Es können jedoch auch schwere Komplikationen auftreten, die letal verlaufen können. Schweres Dengue-Fieber kann in Form von hämorrhagischem Dengue-Fieber oder einem Dengue-Schocksyndrom auftreten (Hou et al., 2022).

Das Auftreten von Dengue-Fieber hat in den letzten Jahrzehnten weltweit dramatisch zugenommen: Die Zahl der der WHO gemeldeten Fälle stieg von 505 430 im Jahr 2000 auf 5,2 Millionen im Jahr 2019 (WHO, 2023b). Nach einem leichten Rückgang der Fälle zwischen 2020 und 2022 aufgrund der COVID-19-Pandemie und einer damit einhergehenden geringeren Melderate wurde 2023 weltweit ein Anstieg der Dengue-Fälle beobachtet, welcher durch eine erhebliche Zunahme der Anzahl, des Ausmaßes und des gleichzeitigen Auftretens mehrerer Ausbrüche gekennzeichnet ist, die sich auch auf Regionen ausbreiten, die zuvor nicht von Dengue betroffen waren (WHO, 2023a). Jedes Jahr treten DENV-Infektionen in über 100 Ländern auf, was fast die Hälfte der Weltbevölkerung dem Risiko einer Infektion aussetzt (WHO, 2019a). Jedes Jahr sind eine halbe Millionen Krankenhausaufenthalte auf Patient:innen mit DENV-Infektionen zurückzuführen (WHO, 2017).

Die Belastung durch Dengue-Fieber in Afrika ist nur unzureichend bekannt, da sich sowohl die klinischen Unterscheidungsmerkmale zu anderen arboviralen Infektionen kaum abgrenzen, als auch die Überwachung unzureichend ist und nur wenige Fälle gemeldet werden (WHO, 2023a). Studien zufolge wird seit 1960 von DENV-Fällen in Afrika berichtet (Amarasinghe et al., 2011), mittlerweile seien sogar alle vier Serotypen in Afrika aufgetreten (Messina et al., 2014). Nach den Ergebnissen einer Meta-Analyse aus dem Jahr 2021 haben 10-14 % der afrikanischen Bevölkerung südlich der Sahara zwischen 2010 und 2020 eine akute DENV-Infektion durchgemacht, wobei 25 % dieser Bevölkerung zu irgendeinem Zeitpunkt in ihrem Leben DENV ausgesetzt waren, was durch ihre Seropositivität für DENV-spezifisches IgG belegt wurde. Diese Ergebnisse lassen vermuten, dass die tatsächliche Belastung durch DENV-Infektionen in Afrika südlich der Sahara erheblich unterschätzt wird (Eltom et al., 2021). Im Jahr 2023 wurden in Afrika 171 991 Dengue-Fälle und 753 Todesfälle gemeldet (WHO, 2023a).

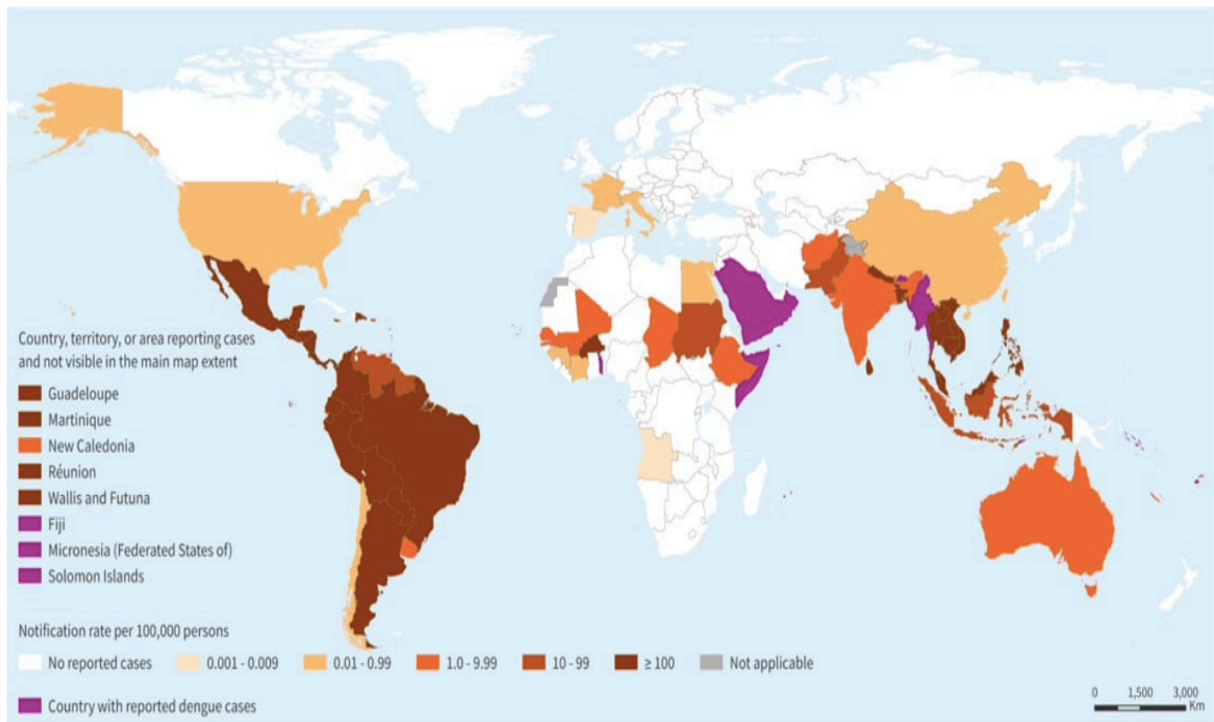


Abbildung 3 Länder und Gebiete, die autochthone Dengue-Fälle melden (November 2022- November 2023)(WHO, 2023a)

Die Zahl der dem RKI gemeldeten infizierten Reiserückkehrenden nahm vor der COVID-19-Pandemie kontinuierlich zu. Zuletzt stieg die Zahl der gemeldeten DENV-Infektionen in Deutschland im Jahr 2017 von 635 Fällen auf 1176 Fälle im Jahr 2019 an. Postpandemisch lässt sich wieder eine Zunahme der gemeldeten Dengue-Infektionen verzeichnen (RKI, 2023b).

Ein tetravalenter Vektorimpfstoff zur Prävention von Dengue-Fieber (Dengvaxia®) ist in einigen Ländern für Personen zwischen 9 und 45 Jahren zugelassen und seit 2018 auch auf dem europäischen Markt erhältlich (RKI, 2023a). Die WHO empfiehlt, den Impfstoff nur Menschen mit einer bestätigten früheren Dengue-Virusinfektion zu verabreichen. Der Hersteller des Impfstoffs, Sanofi Pasteur, gab 2017 bekannt, dass bei Personen, die den Impfstoff erhalten und zuvor nicht mit DENV infiziert waren, das Risiko besteht, an schwerem Dengue-Fieber zu erkranken, wenn sie nach der Impfung an Dengue erkranken ((CDC), 2022).

Daher empfiehlt das Advisory Committee on Immunization Practice (ACIP) Dengvaxia® nur für Kinder von 9 bis 16 Jahren mit einer zurückliegenden, im Labor bestätigten Dengue-Infektion in endemischen Ländern. Dengvaxia® ist in Deutschland als Reiseimpfung nicht zugelassen und nicht verfügbar ((CDC), 2022).

Seit Dezember 2022 ist ein weiterer Dengue-Lebendimpfstoff zugelassen und seit März 2023 in Europa erhältlich. Es handelt sich um den tetravalenten Lebendimpfstoff namens Qdenga®

des Herstellers TAKEDA, welcher gemäß den Empfehlungen der Ständigen Impfkommission (STIKO) bei Menschen ab dem vierten Lebensjahr und zurückliegender Dengue-Erkrankung als Reiseimpfung in Endemiegebiete oder als beruflich indizierte Impfung eingesetzt werden kann. Bezüglich der Impfung Dengue-naiver Menschen mit Qdenga® gibt die STIKO aktuell keine allgemeine Impfeempfehlung, weist jedoch auf das Risiko einer möglichen Infektionsverstärkung bei nachfolgender Infektion hin (RKI, 2023a).

### 1.3.2 Klinische Symptome

Die meisten DENV-Infektionen verlaufen asymptomatisch, obwohl eine Vielzahl unspezifischer Symptome auftreten kann, wie z.B. Fieber, Kopfschmerzen, Erbrechen, Myalgien und Arthralgien, manchmal begleitet von einem makulösen Exanthem (Simmons et al., 2012). Zu den hämorrhagischen Manifestationen von Dengue gehören Petechien, Hämatome, Hepatomegalie, Thrombozytopenie und Leukopenie (Simmons et al., 2012).

Vor allem bei Kindern besteht das Risiko ein systemisches vaskuläres Lecksyndrom zu entwickeln, das durch eine erhöhte Hämokonzentration, Pleuraergüsse, Hypoproteinämie und/oder Aszites gekennzeichnet ist. Infizierte Patient:innen können eine Enzephalitis und periphere Neuralgien aufweisen (Beckham and Tyler, 2015). Andere schwerwiegende Manifestationen können eine Myokarditis, ein Leberversagen und/oder ein Schocksyndrom sein (Simmons et al., 2012).

### 1.3.3 Diagnostik

Akutes Denguefieber kann durch serologische Tests diagnostiziert werden (Blacksell et al., 2012, Guzman et al., 2010, Hunsperger et al., 2009). Außerdem gibt es zuverlässige Dengue-Schnelltests (englisch Dengue Rapid Diagnostic Tests, dRDTs) (Wang and Sekaran, 2010, Tricou et al., 2010, Blacksell et al., 2011a). Diese können das Virus innerhalb der ersten sieben Tage nach Infektion nachweisen. DENV-RNA kann mittels RT-PCR innerhalb der ersten 5 Tage nach Auftreten der Symptome nachgewiesen werden. Antikörper lassen sich im Serum erst ab Tag 4 nachweisen, bei einer Primärinfektion lassen sich IgG-Antikörper nach ca. 7 Tagen detektieren (siehe Abb. 4).

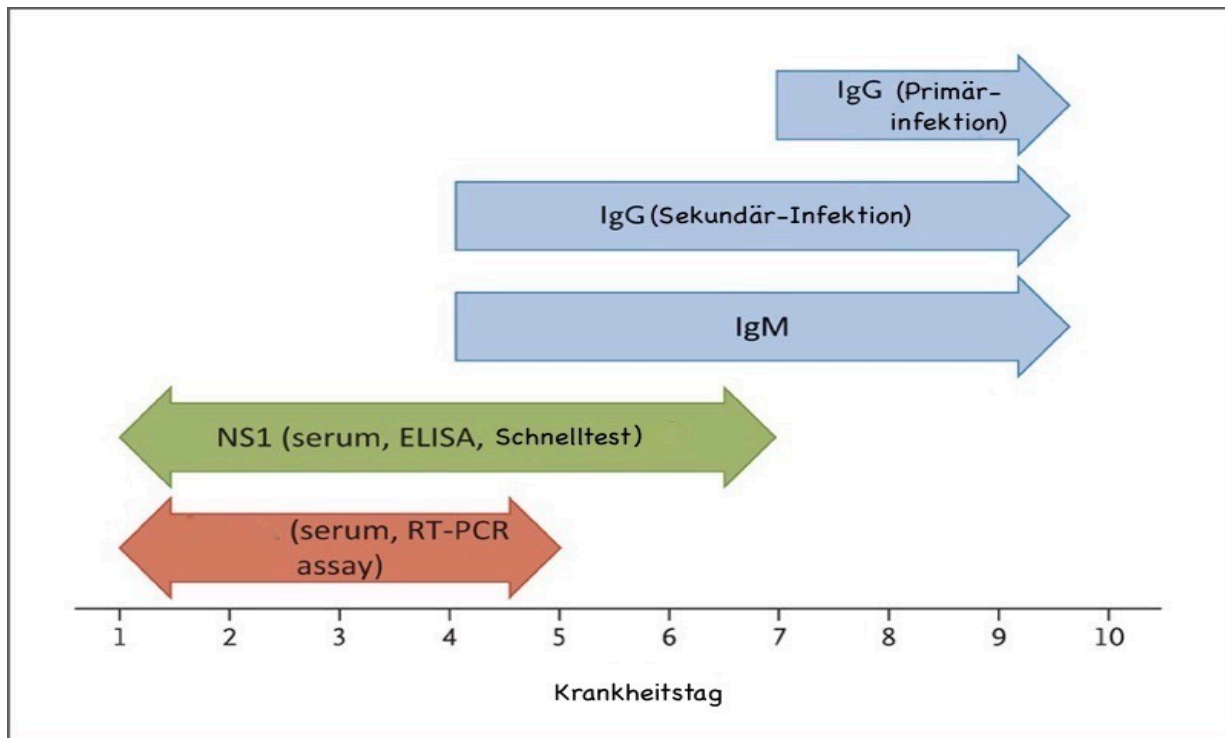


Abbildung 4 Labordiagnostische Optionen der Dengue-Diagnostik, modifiziert nach Simmons et al. (Simmons et al., 2012).

### 1.3.4 Therapie

Gegenwärtig gibt es keine spezifische medikamentöse Therapie für das Dengue-Fieber. Die therapeutischen Maßnahmen bestehen aus einer symptomatischen Therapie mit Schwerpunkt auf der Behandlung der Schmerzen, wobei aufgrund der erhöhten Blutungsneigung auf den Einsatz von Aspirin und Ibuprofen verzichtet werden sollte (WHO, 2023b). Wie bereits in Kapitel 1.2.4 erwähnt, befinden sich neue spezifische Therapieansätze wie monoklonale Antikörper in der Entwicklung (Ormundo et al., 2023).

## 1.4 Chikungunya-Virus

### 1.4.1 Erregermerkmale und Epidemiologie

Das Chikungunya-Virus (CHIKV) ist ein Arbovirus, das zur Gattung der Alphaviren aus der Familie der *Togaviridae* gehört (Okabayashi et al., 2015). Es handelt sich um ein einzelsträngiges umhülltes RNA-Virus (Strauss et al., 1995).

Chikungunya-Viren sind in tropischen und subtropischen Ländern wie Afrika, Indien, Südostasien, Indonesien und Südamerika weit verbreitet (RKI, 2004, CDC, 2023a, RKI, 2020) (siehe Abb. 5). Das Virus wurde erstmals zwischen 1952 und 1953 in Tansania beschrieben

(Robinson, 1955). Damals klagten betroffene Patient:innen über Fieber, Exantheme und Arthralgien (Vu et al., 2017). Das eindrucksvollste klinische Symptom war die schwere Arthralgie, welche die infizierten Patient:innen daran hinderte, sich ohne Hilfe zu bewegen. Aus diesem Grund wurde die Krankheit "*Chikungunya*" genannt, was in der Makonde-Sprache (Bantu) "das, was sich aufrichtet" bedeutet (Robinson, 1955).

Eine große CHIKV-Epidemie brach 2014 aus, als sich das Virus von der Küste Kenias auf Inseln im Indischen Ozean ausbreitete (Vu et al., 2017, Kariuki Njenga et al., 2008).

Seit 2013 ist das Virus in Südamerika und der Karibik vorhanden (RKI, 2020, Fischer et al., 2014). Im Jahr 2015 gab es 25 000 labortechnisch bestätigte CHIKV-Infektionen in Nord- und Südamerika und über eine Million Verdachtsfälle (Organization, 2015). Der anhaltende CHIKV-Ausbruch in Thailand im Jahr 2018 führte in der ersten Jahreshälfte 2019 zu 29 CHIKV-Fällen in Deutschland (RKI, 2019b). Im Juni 2019 wurden autochthone CHIKV-Fälle in Spanien gemeldet, konnten aber später nicht labortechnisch bestätigt werden (RKI, 2019c). Autochthone Übertragungen wurden bisher in Deutschland noch nicht gemeldet, sind jedoch theoretisch möglich (RKI, 2023b). In Deutschland wurden dem RKI 2022 insgesamt 16 importierte CHIKV-Fälle gemeldet (RKI, 2023b).

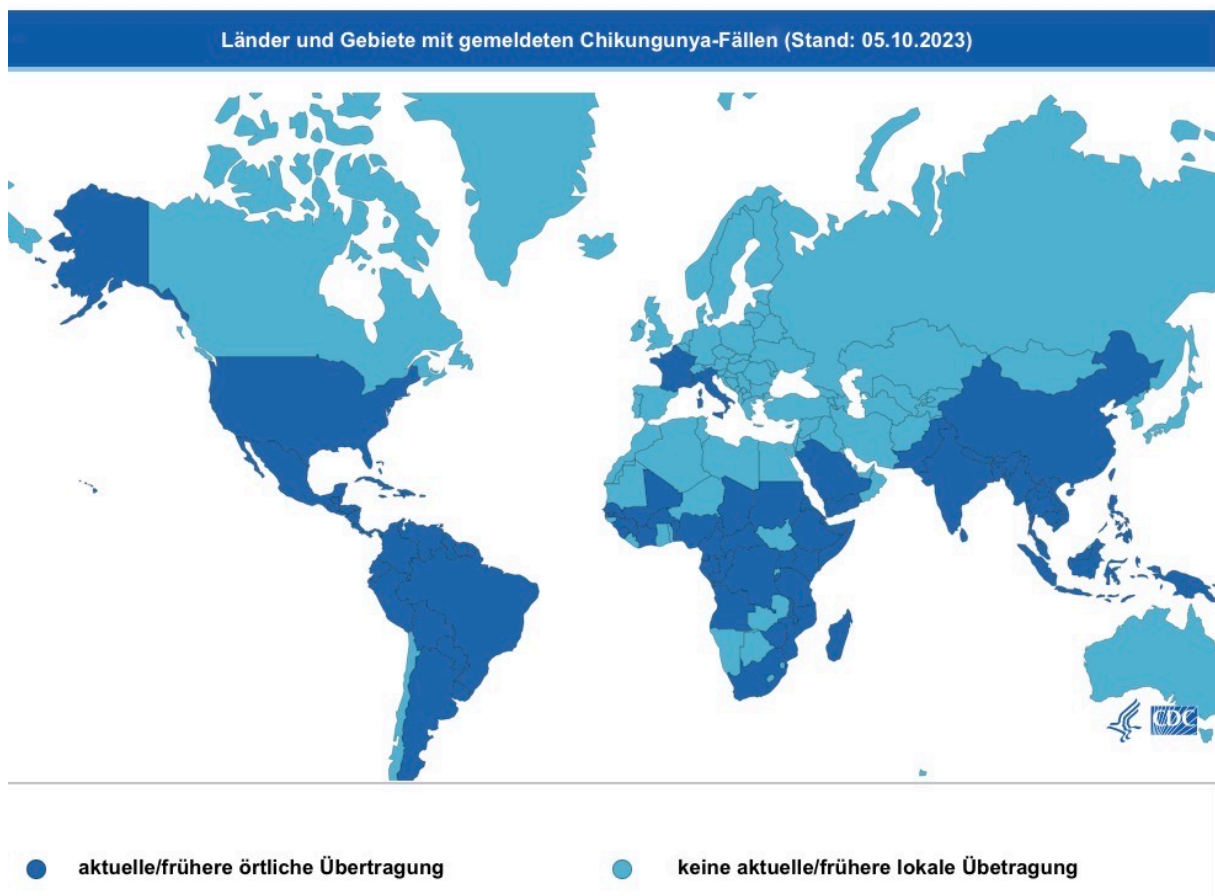


Abbildung 5 Länder, in denen CHIKV gemeldet wurde (2023\*), keine importierten Fälle, modifizierte Abbildung (CDC, 2023a). \*Quellen: Centers for Disease Control and Prevention, National Center for Emerging and Zoonotic Infectious Diseases (NCEZID), Division of Vector-Borne Diseases (DVBD)

### 1.4.2 Klinische Symptome

Die klinischen Symptome einer CHIKV-Infektion sind unspezifisch und ähneln denen des Dengue-Fiebers oder Zika-Virus-Infektionen. Berichtet werden allgemeine Symptome wie Fieber, Konjunktivitis, Müdigkeit und Übelkeit (Vu et al., 2017). Die spezifischeren Symptome von Chikungunya sind schwere Arthralgien, Fieber und ein makulopapulöses Exanthem (Vu et al., 2017, WHO, 2022a). Es wurde berichtet, dass CHIKV-assoziierte Arthralgien deutlich länger als die akute Phase der Infektion anhalten können, in einigen Fällen zeigten sich noch nach mehr als 9 Monaten nach der Infektion anhaltende Muskel- und Gelenkschmerzen (Zeana et al., 2016, Manimunda et al., 2010). Darüber hinaus kann das CHIKV bei akuter Infektion eine Meningitis und Enzephalitis verursachen (Beckham and Tyler, 2015).

### 1.4.3 Diagnostik

Genauere Labortests sind für die Diagnose von CHIKV wichtig, da eine Infektion mit dem Virus klinisch leicht mit anderen Arboviren verwechselt werden kann. Der Labornachweis von CHIKV kann durch die Serologie, Virus-Isolation oder den Nachweis von viraler RNA durch Reverse Transkriptions-Polymerase-Kettenreaktion (RT-PCR) erfolgen (Johnson et al., 2016, WHO, 2022a).

Studien zeigen, dass CHIKV-RNA in der Regel innerhalb der ersten Woche nach Ausbruch der Krankheit durch RT-PCR nachgewiesen werden kann (siehe Abb. 6) (Johnson et al., 2016, Lanciotti et al., 2007, WHO, 2022a).

Es gibt Anti-CHIKV-IgM-Nachweis-Kits auf dem Markt, jedoch hat sich in einigen Studien gezeigt, dass diese in der akuten Krankheitsphase oft nicht hilfreich sind (Okabayashi et al., 2015, Blacksell et al., 2011b).

Schnelltests für die CHIKV-Diagnose sind in der Entwicklung, jedoch zeigen Studien teils sehr unterschiedliche Ergebnisse im Hinblick auf die Sensitivität (Huits et al., 2018, Tuekprakhon et al., 2018, Reddy et al., 2020).

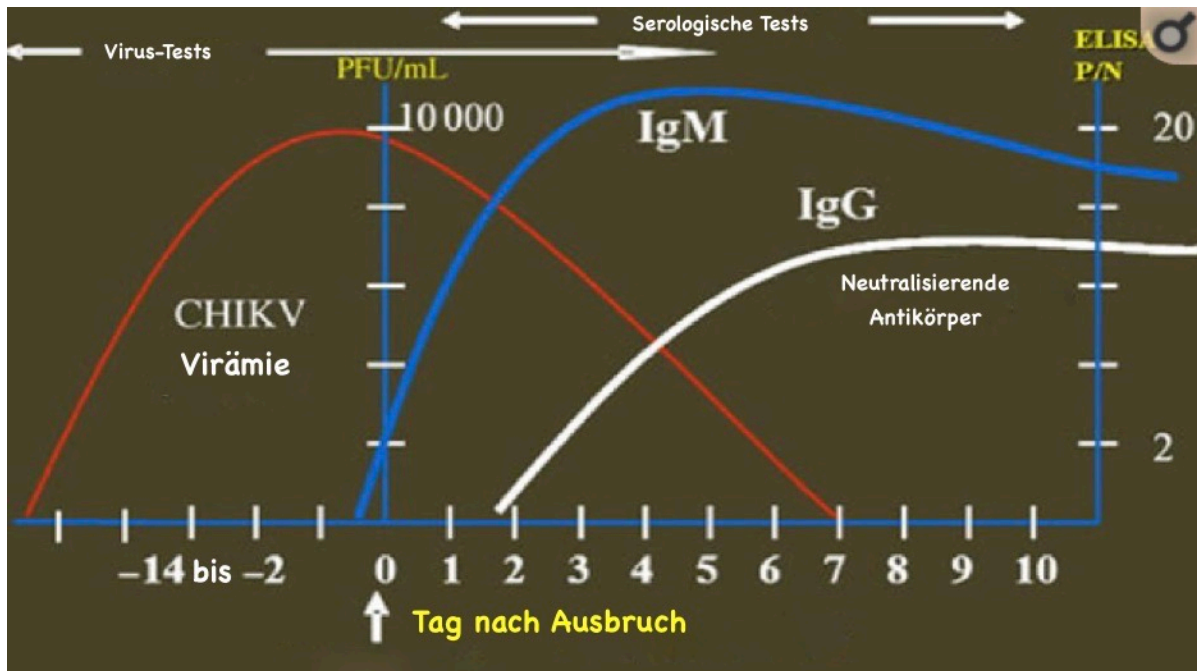


Abbildung 6 Chikungunya-Virämie und Immunreaktion modifiziert nach Johnson (Johnson et al., 2016).

#### 1.4.4 Therapie

Gegenwärtig gibt es keine zugelassene spezifische Therapie für Chikungunya-Infektionen. Die therapeutischen Maßnahmen bestehen aus symptomatischer Therapie wie Analgesie, antiinflammatorischen Medikamenten und intravenöser Flüssigkeitssubstitution (Vu et al., 2017, WHO, 2022a). Im November 2023 wurde in den USA ein Impfstoff gegen das CHIKV für Erwachsene zugelassen, welcher aktuell vom ACIP für einen eventuellen Einsatz als Reiseimpfung bzw. berufsbedingte Impfung geprüft wird (CDC, 2023b). Wie bereits in Kapitel 1.1.4 erwähnt, befinden sich antikörperbasierte Therapieansätze derzeit in der Entwicklung (Ormundo et al., 2023).

### 1.5 Zika-Virus

#### 1.5.1 Erregermerkmale und Epidemiologie

Das Zika-Virus ist ein durch Arthropoden übertragenes Flavivirus, das hauptsächlich durch tagesaktive *Aedes aegypti*-Mücken übertragen wird (WHO, 2018c). Es wurde erstmals 1947 bei Affen in Uganda entdeckt und später, im Jahr 1952, bei Menschen in Uganda und Tansania nachgewiesen (WHO, 2018c). Eine Virusinfektion kann durch Stechmücken oder sexuelle Übertragung erfolgen.

Es ist bekannt, dass Zika in den 1960er und 1980er Jahren in Afrika, Nord- und Südamerika

und Asien vorkam, wo sporadische Fälle von menschlichen Infektionen gemeldet wurden (WHO, 2018c). In den letzten Jahren gab es Hinweise auf mehrere ZIKV-Fälle auf dem afrikanischen Kontinent, jedoch sind Informationen über die genaue aktuelle Inzidenz begrenzt. Seit der letzten epidemiologischen Aktualisierung im Jahr 2022 ist Kenia das einzige afrikanische Land mit serologisch bestätigten autochthonen ZIKV-Fällen (WHO, 2022d). Im Jahr 2007 wurde der erste große Zika-Ausbruch von der Insel Yap (Föderierte Staaten von Mikronesien) gemeldet, gefolgt von einem großen Ausbruch in Französisch-Polynesien im Jahr 2013 und zwei Jahre später in Brasilien. Bis zum Jahr 2021 meldeten 89 Länder Zika-Infektionen, welche sich auf 5 von 6 der WHO-Regionen verteilen, ausgenommen der östlichen Mittelmeerregion (siehe Abb. 7) (WHO, 2022d).

Im Jahr 2019 gab es Berichte über zwei autochthone Zika-Infektionen in Frankreich (ECDC, 2019b). Im Jahr 2016 wurde ein Fall von einer sexuell übertragenen Zika-Infektion in Deutschland gemeldet (RKI, 2016).

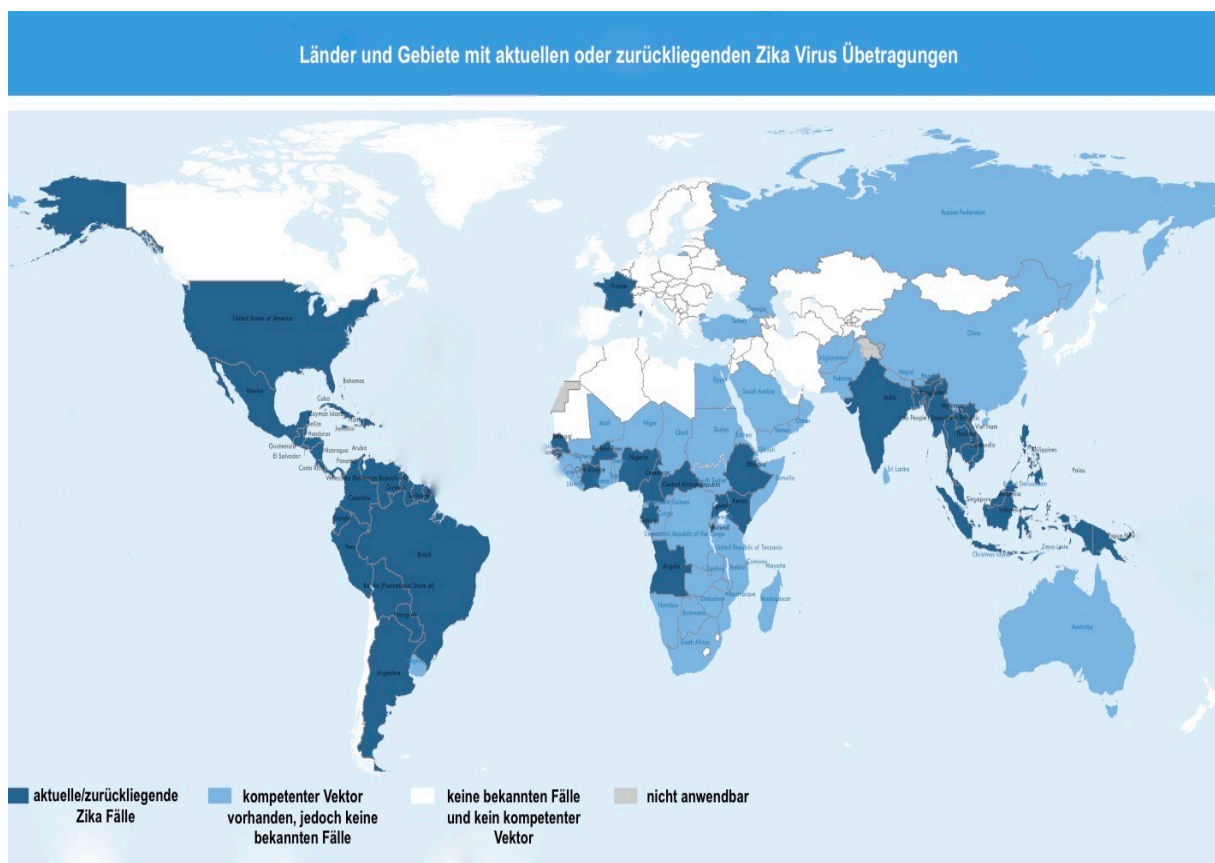


Abbildung 7 Länder und Gebiete mit aktuellen oder zurückliegenden Zika-Infektionen, Stand Februar 2022, Abbildung modifiziert (WHO, 2022b).

### 1.5.2 Klinische Symptome

ZIKV-Infektionen verlaufen in der Regel mild und gehen mit Fieber, Exanthemen und/oder Arthralgien einher. Die klinischen Symptome ähneln oft denen einer leichten CHIKV- oder DENV-Infektion (RKI, 2016). Die meisten mit ZIKV infizierten Menschen sind asymptomatisch, die Symptombdauer beträgt durchschnittlich 2-7 Tage (WHO, 2018c).

ZIKV-Infektionen stellen ein Risiko für Schwangere dar, da die Infektion eine Mikrozephalie und andere Fehlbildungen des Kindes (kongenitales Zika-Syndrom), Frühgeburten und Fehlgeburten verursachen kann. Weitere Komplikationen sind u.a. das Guillain-Barré-Syndrom, Neuropathien und Myelitiden (WHO, 2022d).

### 1.5.3 Diagnostik

ZIKV kann laborchemisch in Blut oder anderen Körperflüssigkeiten, wie Urin oder Sperma, nachgewiesen werden (WHO, 2018c). Die geeignete Diagnostik hängt vom vermuteten Zeitpunkt der Infektion ab. Bis Symptomtag 7 empfiehlt die WHO einen direkten Erregernachweis über PCR aus Blut und Urin (ECDC, 2019a, WHO, 2016). Zwischen Tag 8 und 28 wird eine Diagnostik über PCR aus Blut oder Urin und dazu einer Serologie (IgM-, IgG-Nachweis) empfohlen (ECDC, 2019a, WHO, 2016). In späteren Krankheitsstadien, ca. ab Tag 29, kann ein indirekter Erregernachweis über eine Serologie durchgeführt werden (ECDC, 2019a). Ab Krankheitstag 7 ist ein rascher Abfall der Virämie zu beobachten, weshalb ein negatives Ergebnis in der PCR eine ZIKV-Infektion nicht sicher ausschließt, insbesondere bei längerer Symptombdauer (WHO, 2016). Viele Länder verfügen über keine oder nur eingeschränkte Systeme für die routinemäßige Diagnostik von Zika-Infektionen. Selbst in Regionen mit vorhandenen Laborkapazitäten stellt die Diagnostik von Zika-Fällen eine Herausforderung dar, da die Interpretation serologischer Testergebnisse aufgrund bekannter Kreuzreaktionen mit verwandten Flaviviren, insbesondere DENV, schwierig ist (WHO, 2022d).

#### 1.5.3.1 Diagnostik von Zika-Virus im Urin

Es gibt Hinweise darauf, dass ZIKV im Urin länger nachweisbar ist als in Vollblut oder Speichel (Gourinat et al., 2015). In einer Studie aus dem Jahr 2015 wurde ZIKV im Urin über PCR bei Patient:innen nachgewiesen, die mehr als 10 Tage lang infiziert waren (Gourinat et al., 2015). Die Ergebnisse anderer Arbeiten lassen vermuten, dass ZIKV erst 15-20 Tage nach Auftreten der Symptome im Urin nachweisbar ist (Cordeiro, 2019). Da jedoch mehr als 80 %

aller ZIKV-Infektionen asymptomatisch verlaufen und der Nachweis von Virus-RNA mittels PCR oft nicht möglich ist, gehört mittlerweile ein direkter Erregernachweis im Urin ab Symptomtag 7 zur Standard-Diagnostik bei vermuteten ZIKV-Infektionen (Landry and St George, 2017, Lamb et al., 2016).

#### 1.5.4 Therapie

Bislang gibt es keine spezifische Therapie für ZIKV-Infektionen. Zika kann lediglich symptomatisch therapiert werden. Hierzu gehört z.B. die antipyretische Therapie, die Flüssigkeitssubstitution und ggf. die stationäre Aufnahme bei schweren Krankheitsverläufen (RKI, 2019a). Wie bereits in Kapitel 1.2.4 erwähnt befinden sich neuere spezifische Therapieansätze derzeit in der Entwicklung, welche auf einer passiven Immuntherapie auf Antikörperbasis beruhen (Ormundo et al., 2023).

### 1.6 Harnwegsinfektionen bei Kindern

#### 1.6.1 Prävalenz, Ätiologie und Pathogenese

Harnwegsinfektionen zählen zu den häufigsten bakteriellen Infektionskrankheiten im Kindesalter und können vom Neugeborenenalter bis zum Teenageralter mit einer Vielzahl von Symptomen und Komplikationen einhergehen (Berner, 2018). Eine Klassifikation erfolgt u.a. nach Lokalisation der Harnwegsinfektion. Hierbei wird zwischen unteren (Urethritis und Urozystitis) und oberen Harnwegsinfektionen (Pyelonephritis) unterschieden, wobei eine Differenzierung im Säuglings- und Kleinkindalter kaum möglich ist und der Verlauf generell dem einer Pyelonephritis entspricht (Stein, 2012, Michel, 2016). Eine Harnwegsinfektion im Säuglingsalter wird immer zu den komplizierten Harnwegsinfektionen gezählt (Michel, 2016). Bei Fieber unklarer Ursache ist die Harnwegsinfektion die häufigste bakterielle Infektion im Kindesalter (Michel, 2016). Die Prävalenz von Harnwegsinfektionen bei Kindern in afrikanischen Ländern schwankt zwischen 5 % und 19,3 % (Muvunyi et al., 2011, Sibal et al., 1996, Rabasa and Gofama, 2009, Masika et al., 2017, D'Acromont et al., 2014).

Insgesamt sind Mädchen häufiger von Harnwegsinfektionen betroffen als Jungen, jedoch ist im ersten Lebensjahr die Inzidenz bei männlichen Säuglingen besonders hoch (Mattoo et al., 2021). Nach dem ersten Lebensjahr sind Mädchen jedoch 10-20-fach häufiger von einer Harnwegsinfektion betroffen als Jungen (Stein, 2012, Zorc et al., 2005, Schlager, 2016).

In den meisten Fällen ist die Ursache für eine Harnwegsinfektion aufsteigende Bakterien aus der perianalen Region, welche über die Urethra in Richtung Blase oder möglicherweise Nieren

wandern (Leung et al., 2019, Schlager, 2016, Chang and Shortliffe, 2006).

In mehr als 80 % der Fälle ist das Bakterium *Escherichia coli* der auslösende Erreger (Schlager, 2016, Korbel et al., 2017, Mattoo et al., 2021). Harnwegsinfekte können auch durch Viren (Coxsackievirus, Enterovirus, Adenovirus etc.) verursacht werden (Schlager, 2016). Im Säuglingsalter zeigen sich häufig andere Erreger, wie z.B. Enterokokken (Stein, 2012, Berner, 2018).

### 1.6.2 Symptome bei Harnwegsinfektionen im Kindesalter

Die Symptome hängen vom Alter des Kindes ab. Neugeborene zeigen häufiger eine Trinkschwäche oder ein blasses Hautkolorit, wohingegen im Kleinkindalter Unterbauchschmerzen und unkontrollierter Urinabgang beobachtet werden können. Ältere Kinder präsentieren dagegen oft eine Dysurie und Pollakisurie (Korbel et al., 2017, Leung et al., 2019, Schlager, 2016). Grundsätzlich sind die Symptome eines Harnwegsinfektes im Kindesalter jedoch unspezifisch und können lediglich aus Fieber, schlechter Nahrungsaufnahme, hoher Reizbarkeit, Erbrechen oder abdominellen Schmerzen bestehen (Leung et al., 2019, Schlager, 2016, Chang and Shortliffe, 2006). Die Symptome werden nach dem zweiten Lebensjahr spezifischer. Bei Infektionen der oberen Harnwege bzw. einer Pyelonephritis können Flankenschmerzen, Erbrechen, Schüttelfrost, Rigor und Unwohlsein auftreten (Korbel et al., 2017).

Bei verzögerter Diagnosestellung und Therapie können Harnwegsinfektionen zu einer Bakteriämie, Nierenschädigungen und möglichen Langzeitkomplikationen wie arteriellem Hypertonus und Niereninsuffizienz führen (Masika et al., 2017, Smellie et al., 1994).

### 1.6.3 Diagnostik

Eine gezielte Anamnese und körperliche Untersuchung sowie ein positiver Urinbefund sind für eine genaue Diagnose von Harnwegsinfektionen unerlässlich (Mattoo et al., 2021). Goldstandard für die Diagnose von Harnwegsinfektionen bei Kindern ist die Urinanalyse und quantitative Urinkultur bei vorheriger Katheterisierung oder suprapubischer Blasenpunktion (Leung et al., 2019). Oft ist die Urinkultur in der täglichen klinischen Praxis nicht praktikabel, insbesondere in ressourcenbeschränkten Umgebungen: sie ist teuer, erfordert mikrobiologische Labors mit geschulten Mitarbeiter:innen und dauert mindestens 18 Stunden, um bakterielles Wachstum nachzuweisen (Williams et al., 2010). Die klinischen Leitlinien der American Academy of Pediatrics besagen, dass die Grundlage für die Diagnose einer Harnwegsinfektion

bei Kindern eine Pyurie und eine positive Urinkultur sind (Subcommittee on Urinary Tract Infection et al., 2011).

Generell gilt die Empfehlung, dass bei Verdacht auf eine Harnwegsinfektion bei Kindern eine Urinanalyse und eine Urinkultur durchgeführt werden, d. h. bei Kindern unter drei Jahren mit Fieber unklarer Genese und bei Kindern über drei Jahren mit Symptomen, die auf eine Harnwegsinfektion hindeuten (Nephrologie, 2013, Robinson et al., 2014).

Zur Uringewinnung ist bei älteren Kindern mit vorhandener Blasenkontrolle die Gewinnung von Mittelstrahlurin die bevorzugte Methode. Bei Kleinkindern und Säuglingen ist die „clean-catch“-Urinprobengewinnung eine gute Alternative zur Katheterisierung oder Blasenpunktion. Ebenfalls kann eine Probengewinnung mithilfe von Urinbeuteln erfolgen, diese Methode ist jedoch lediglich zum Ausschluss eines Harnwegsinfektes geeignet und sollte nicht zum Anlegen einer Urinkultur verwendet werden, da diese Methode sehr anfällig für Kontaminationen ist (Simoes e Silva and Oliveira, 2015, Nephrologie, 2013). Vor Beginn einer kalkulierten Antibiotikatherapie, z.B. bei Vorliegen einer Pyelonephritis, wird die Uringewinnung mittels suprapubischer Blasenpunktion und anschließender Urinkultur empfohlen, sie gilt als das Verfahren mit der höchsten Sensitivität (Nephrologie, 2013).

Der Urinmikroskopie kommt in der pädiatrischen Grundversorgung nur ein eingeschränkter Stellenwert zu, da sie lediglich die Sensitivität in Kombination mit Urinstreifentests minimal verbessern kann und keine 100 % erreicht (Nephrologie, 2013). Der diagnostische Nutzen liegt hier vor allem in der verbesserten Spezifität und erweiterter mikroskopischer Beurteilung (Nephrologie, 2013).

### 1.6.3.1 Urinteststreifen

Um eine Harnwegsinfektion im Kindesalter zu diagnostizieren sind eine Urinanalyse und eine zusätzliche Urinkultur notwendig. Der Leukozytenesterasetest im Urinteststreifen ist der am weitesten verbreitete Screeningtest (Mattoo et al., 2021). Der alleinige Gebrauch von Urinteststreifen (und damit der semiquantitative Nachweis von Leukozytenesterase (LE) und/oder Nitrit) oder die Mikroskopie sind allein nicht ausreichend, um eine definitive Diagnose zu stellen (Nephrologie, 2013). Jedoch stellen Urinteststreifen in der Grundversorgung ein kostengünstiges, schnelles und leicht verfügbares Instrument für die Diagnose von Harnwegsinfektionen dar (Leung et al., 2019).

Es wurde festgestellt, dass im Urinteststreifen eine Kombination aus Nitrit und positiver LE am genauesten ist, um eine Harnwegsinfektion festzustellen (Whiting et al., 2006). Die Sensitivität

von Urinstreifentests zur Diagnostik von Harnwegsinfektionen liegt in klinischen Untersuchungen bei 88 %, die Spezifität bei 79 %. Zu beachten ist, dass Urinteststreifentests eine falsch-positiv-Rate von bis zu 21 % aufweisen, z.B. bei Kontaminationen der Urinprobe oder anderen fieberhaften Erkrankungen oder Entzündungsprozessen. Falsch-negative Ergebnisse ergeben sich insbesondere bei Säuglingen und Kleinkindern mit hoher Miktionsfrequenz oder bei Infektionen mit Nitrit-negativen Erregern (Nephrologie, 2013). Lässt sich im Urinteststreifen Nitrit und/oder LE nachweisen und besteht der Verdacht auf eine Pyelonephritis, dann besteht immer die Indikation zur Urinkultur (Nephrologie, 2013)

#### 1.6.4 Therapie von Harnwegsinfektionen im Kindesalter

Die Therapie von Harnwegsinfektionen (Wahl des Antibiotikums, Applikationsweg) richtet sich nach dem Alter, dem klinischen Bild und den Risikofaktoren aus der Krankengeschichte des Kindes (Nephrologie, 2013). Bei symptomatischen Harnwegsinfektionen, die durch eine Urinanalyse bestätigt werden, sollte eine antibiotische Behandlung eingeleitet werden (Leung et al., 2019). Eine rechtzeitige Antibiotikabehandlung verringert das Risiko einer Nierenvernarbung (Mattoo et al., 2021). Da Neugeborene und Säuglinge unter zwei Monaten ein erhöhtes Risiko für die Entwicklung einer Urosepsis aufweisen, wird empfohlen, in dieser Altersgruppe grundsätzlich eine parenterale Therapie anzustreben (Nephrologie, 2013). Laut NICE-Leitlinien sollte eine Antibiotikatherapie bei Patient:innen, die nur LE-positiv sind, nur dann eingeleitet werden, wenn es gute klinische Beweise gibt (Mori et al., 2007). Die Dauer der antibiotischen Therapie liegt bei ca. 7-10 Tagen (Mattoo et al., 2021). Zu den medikamentösen Optionen für eine empirische Antibiotikatherapie gehören Amoxicillin/Clavulansäure oder Cephalosporine der dritten Generation. Nach Erhalt des Antibiogramms sollte die medikamentöse Therapie angepasst werden (Nephrologie, 2013).

## 2 Proband:innen, Material und Methoden

### 2.1 Studienort

Bei dieser Studie handelt es sich um eine klinische Querschnittstudie, die am Sekou Toure Regional Referral Hospital (STRRH) in Mwanza durchgeführt wurde. Mwanza ist die zweitgrößte Stadt Tansanias und liegt direkt am Südufer des Viktoriasees. Bei der letzten Volkszählung im Jahr 2022 wurden in der Stadt Mwanza etwa 3 700 000 Einwohner:innen gezählt, was etwa 6 % der Gesamtbevölkerung Tansanias entspricht (Tanzania-Network, 2022). Die Stadt liegt auf einer Höhe von 1139 Metern über dem Meeresspiegel und hat ein tropisch-subtropisches Klima mit einer durchschnittlichen Tagestemperatur von 23,4° C über das ganze Jahr. Die durchschnittliche jährliche Niederschlagsmenge beträgt 1.119,0 mm mit zwei Spitzenwerten in der Regenzeit (Februar - April, Oktober - Dezember) (Deutscher Wetterdienst, 2018).

#### 2.1.1 Sekou Toure Regional Referral Hospital

Die Studie fand im STRRH in der Stadt Mwanza statt. Das STRRH ist ein Lehrkrankenhaus der Katholischen Universität für Gesundheit und verwandte Wissenschaften (englisch Catholic University of Health and Applied Sciences, CUHAS) in Mwanza und verfügt über mehrere Abteilungen, darunter eine pädiatrische Station und eine pädiatrische Ambulanz (englisch Pediatric Outpatient Department, POPD). Die pädiatrische Station hat eine Kapazität von etwa 60 stationären Patient:innen. Die medizinische Behandlung wurde hauptsächlich von Assistenzärzt:innen durchgeführt. Während des Zeitraums unserer Studie waren zwei Fachärzt:innen für Padiätrie sporadisch in der Klinik anwesend.

Die im STRRH verfügbaren diagnostischen Tests für Kinder mit Fieber waren mRDTs, Hämoglobin-Bestimmungen, Vollblutanalysen, Widal-Tests oder mikroskopische Stuhl- bzw. Urinanalysen. MRDTs wurden routinemäßig bei jede:r Patient:in mit einer positiven Fieberanamnese durchgeführt. Die diagnostischen Tests wurden von unterschiedlich qualifizierten Mitarbeiter:innen ausgeführt.

### 2.2 Proband:innen

#### 2.2.1 Einschlusskriterien und Ausschlusskriterien

Vom 05. Januar bis 30. März 2018 wurden Kinder im Alter von einem Monat bis zu 12 Jahren mit einer akuten fiebrigen Erkrankung untersucht. Patient:innen mit einer axillären Körpertemperatur von  $\geq 38^{\circ}$  C und Verdacht auf eine Malariainfektion wurden zur Teilnahme

an der Studie eingeladen. Ausschlusskriterien waren ein Alter von unter einem Lebensmonat und schwere Symptome, die eine sofortige Notfallbehandlung gemäß den WHO-Richtlinien erforderten (Duke, 2016).

Die Rekrutierung möglicher Studienteilnehmer:innen erfolgte in der pädiatrischen Ambulanz (POPD) und auf der pädiatrischen Station. Daher wurden sowohl ambulante als auch stationäre Patient:innen in die Studie miteingeschlossen.

### 2.2.2 Ethische Freigabe und Zustimmung

Wenn ein:e Patient:in unsere oben genannten Kriterien erfüllte, wurden die zugehörigen Eltern bzw. Erziehungsberechtigten über das weitere Vorgehen informiert und um eine schriftliche Einwilligung gebeten. Um sicherzustellen, dass die Patient:innen und ihre Erziehungsberechtigten umfassend informiert waren, wurden Informationsblätter sowohl in Englisch als auch in Suaheli laut vorgelesen und ausgeteilt. Wenn dennoch eine Übersetzung erforderlich war, wurde zusätzlich die Hilfe eine:r lokalen Klinik-Mitarbeiter:in in Anspruch genommen. Im Falle von Analphabetismus wurde ein Stempelkissen zur Verfügung gestellt, um stellvertretend für eine Unterschrift einen Fingerabdruck zu erstellen.

Diese Studie und die damit verbundenen Untersuchungen wurden von der Ethikkommission der CUHAS und dem Nationalen Institut für medizinische Forschung in Tansania (englisch National Institute of Medical Research, NIMR) genehmigt.

## 2.3 Probengewinnung

### 2.3.1 Anamnese und körperliche Untersuchung

Alle Studienteilnehmer:innen wurden anhand eines von Philipp Koliopoulos entwickelten und an diese Studie angepassten standardisierten Fragebogens (siehe Anhang Kapitel 8.3) einer Anamnese und körperlichen Untersuchung unterzogen.

Gefragt wurde nach der Stammeszugehörigkeit, der medizinischen Vorgeschichte, der aktuellen Reiseanamnese und den gegenwärtigen Symptomen, wobei der Schwerpunkt auf den möglichen Ursachen des Fiebers lag. Außerdem wurde der Fragebogen unter Berücksichtigung möglicher Indikatoren für Harnwegsinfektionen ausgefüllt und strukturiert. So wurden die Patient:innen nach Anzeichen für Harnwegsinfektionen wie Dysurie, Pollakisurie, Hämaturie oder Lendenschmerzen befragt. Bei der körperlichen Untersuchung wurden u.a. ein vorliegender Nierenklopfeschmerz und/oder suprapubische Druckschmerzen eruiert.

### 2.3.2 Probenahmeverfahren

Jede:r Studienteilnehmer:in wurden einige Tropfen Kapillarblut (ca. 50 µl) mittels Lanzette entweder aus der Fingerspitze oder aus der Ferse entnommen und auf eine Filterkarten für getrocknete Blutpunkte (Whatman 903®) getupft. Bei jede:r Patient:in wurde ein mRDT (NADAL®) und ein Schnelltest auf Dengue-Fieber (PANBIO®) durchgeführt, wobei entweder ein Tropfen Kapillar- oder Venenblut oder alternativ Plasma oder Serum verwendet wurde. Im Falle einer stationären Aufnahme des Kindes wurde i.d.R. vom Klinikpersonal ein venöser Zugang gelegt. In diesen Fällen konnte auf die Kapillarpunktion verzichtet und einige Tropfen venöses Blut für die Filterkarten und mRDT-Diagnostik verwendet werden. In einigen Fällen konnten bis zu 2 ml venöses Blut gewonnen werden, welches zur Zentrifugation ins Labor gebracht wurde. Insgesamt konnten wir 76 Serumproben und 28 Plasmaproben entnehmen. Bei 51 Patient:innen wurde ein Vollblutbild (englisch Full Blood Picture, FBP) mit EDTA-Blut erstellt. Darüber hinaus wurde angestrebt Urinproben zu sammeln, wobei sowohl Urinbecher als auch Sammelbeutel verwendet wurden. Insbesondere bei Säuglingen und nicht-kooperativen Kleinkindern wurden zur Uringewinnung Urinsammelbeutel verwendet. Von 75 Patient:innen konnten Urinproben gewonnen werden. Die Proben wurden makroskopisch geprüft und mit Urinteststreifen getestet. Zusätzlich wurden ein bis zwei Filterkartenkreise mit einigen Tropfen Urin beimpft (englisch Dried Urine Spots, DUS).

Alle durch die körperliche Untersuchung und die diagnostischen Tests gewonnenen Informationen wurden an das örtliche Krankenhauspersonal weitergeleitet.

### 2.3.3 Lagerung der Proben

Die Whatman® -Filterkarten wurden zum Trocknen an der Luft für mindestens 24 Stunden gelagert. Danach wurden sie unter licht- und feuchtigkeitsgeschützten Bedingungen aufbewahrt, wobei für jede Karte Trockenkugelsäckchen und Plastikbeutel verwendet wurden. Die Trockenkügelchen veränderten ihre Farbe mit zunehmender Feuchtigkeit im Beutel. Trat ein Farbwechsel auf, wurden diese ausgetauscht.

Serum-, Plasma- und Urinproben wurden in 2-ml-Röhrchen abgefüllt und in einem Krankenhausgefrierschrank bei ca. -20 ° C gelagert.

### 2.3.4 Transport der Proben

Nach Ablauf der Phase der Teilnehmer:innen-Rekrutierung und Probesammlung wurden die Serum- und Urinproben, sowie die betupften Filterkarten zurück nach Deutschland transportiert. Dies erfolgte nach Zustimmung der CUHAS und des Gesundheitsministeriums in Tansania. Während des Transports erfolgte eine durchgängige Kühlkette der Serum- und Urinproben durch BioPack-Kühlboxen.

## 2.4 Laborverfahren

Die Laboruntersuchungen fanden im Zeitraum vom 09. April bis 09. Mai 2018 in der Abteilung für Pädiatrische Immunologie und Infektionskrankheiten der Universität Mainz statt. Hier fand die Auswertung der DBS-, DUS- Proben auf den Filterkarten und der Urinproben statt. Hierfür mussten alle auf Filterkarten geblotteten Proben zunächst eluiert werden. Danach durchliefen die DBS-Proben eine RNA-Isolierung, eine m-RT-PCR und einen ELISA (s. Abb. 8). Die Urinproben wurden einer RNA-Isolierung unterzogen, gefolgt von einer Single-Primer-RT-PCR und einem ELISA unter Verwendung eines ZIKV-Primers.

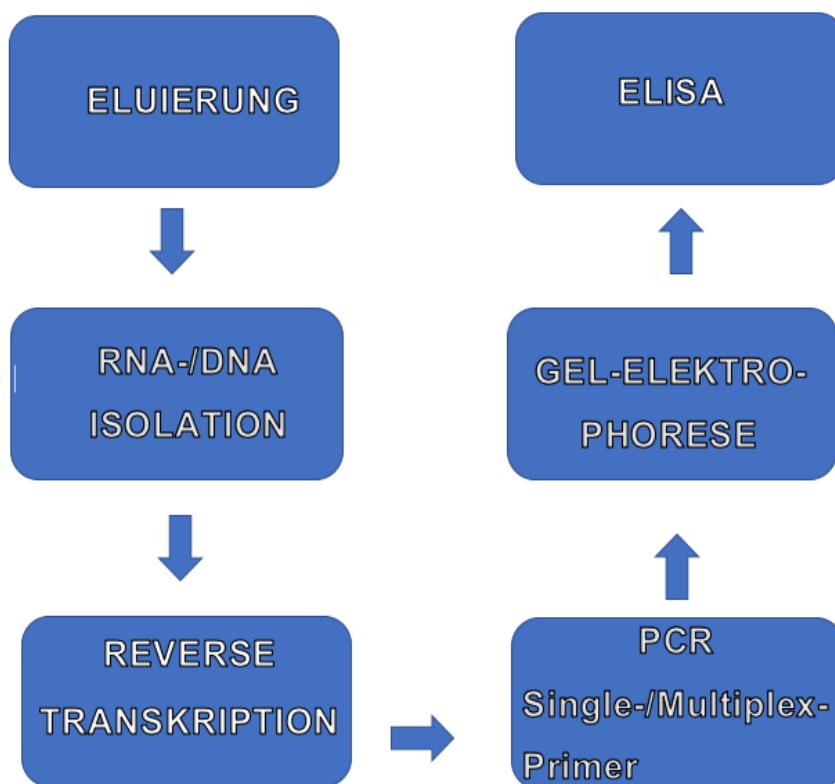


Abbildung 8 Schematische Darstellung der Laborverfahren der klinischen Proben im Mainzer Labor, modifiziert nach T. Daniel und C. Medina-Montano

### 2.4.1 Multiplex PCR-ELISA der Dried Blood Spots

In dieser Studie wurde die Methode einer Multiprimer Reverse Transkriptase-PCR (mRT-PCR) verwendet, welche von der Abteilung für Immunologie und Infektionskrankheiten der Universität Mainz entwickelt wurde. Diese wird seit 1999 zum Nachweis von Mikroorganismen verwendet, welche akute Atemwegsinfektionen verursachen (Grondahl et al., 1999). Die Methode wurde weiterentwickelt, u. a. durch eine Kombination mit der Hybridisierung mittels ELISA-Immunoassay, welches 19 verschiedene Mikroorganismen in

einem Röhrchen identifiziert (Puppe et al., 2013).

Auf der Grundlage der obigen Ausführungen wurde ein m-RT-PCR-ELISA entwickelt, mit dem neun verschiedene durch Vektoren übertragene Krankheitserreger identifiziert werden können, von denen angenommen wird, dass sie in der Subsahara Afrikas prävalent sind. Die Etablierung der genannten Methodik ist in der Dissertation von J. Klüber, T. Daniel, P. Koliopoulos, C. Medina Montano und F. Huth beschrieben.

Die folgenden Erreger wurden in den m-RT-PCR-ELISA einbezogen: Dengue-Virus, West-Nil-Virus, Zika-Virus, Gelbfieber-Virus, Semliki-Forest-Virus, O'nyong-nyong-Virus, Chikungunya-Virus, Rift-Valley-Virus und *Plasmodium* spp.

#### 2.4.2 Eluierung der Dried Blood Spots

Das Blut, welches auf Whatman® 903-Filterkarten getupft wurde, wurde zunächst extrahiert. Dazu wurden von jeder Probe sechs Stanzen à 3 mm entnommen und in Reaktionsgefäße mit 200 µl nukleasefreiem Wasser gegeben (Abb. 9. a-c). Die Proben wurden in einen Thermoblock gestellt und 60 Minuten lang bei 60° C inkubiert, während sie mit 750 U/min geschüttelt wurden. Alle 15 Minuten wurden die Proberöhrchen gevortext, um sicherzustellen, dass sich die Probe von den Filterkarten gelöst hat. Nach der Inkubation wurde das Eluat in neue Reaktionsgefäße pipettiert und zur Aufbewahrung für die weitere Verwendung in den Gefrierschrank gestellt. (Abb. 9 d-e).

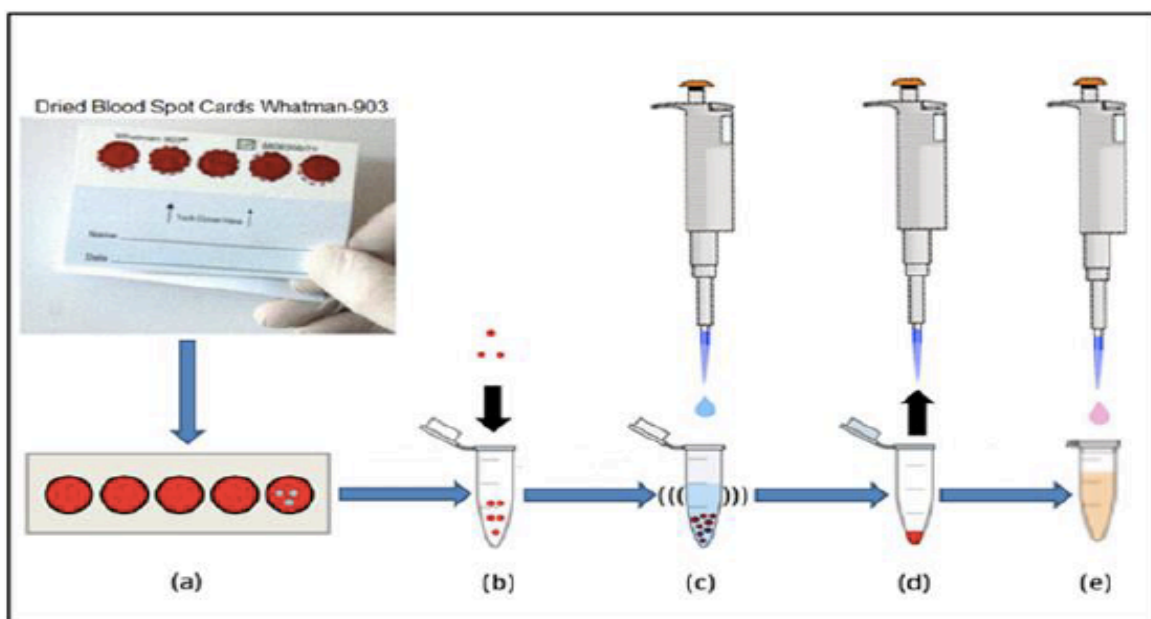


Abbildung 9 Elution der Proben aus den Whatman-Karten. Modifizierte Abb. nach Klüber (2016)

### 2.4.3 Isolation der RNA und DNA

Für die Extraktion der Nukleinsäuren wurde das "High Pural Viral Nucleic Buffer Kit" (Roche Diagnostics) verwendet. Nach Herstellerangaben wurde eine Arbeitslösung hergestellt, die einen Bindungspuffer und Poly(A) im Verhältnis 50:1 enthält. Als Positivkontrolle wurden 20 µl der Rift-Valley-Virus-Positivkontrolle mit 200 µl nukleasefreiem Wasser für alle Läufe verwendet. Für die Negativkontrolle wurden 200 µl 0,9 % NaCl verwendet. 200 µl der Arbeitslösung wurden zu 200 µl jedes Eluats gegeben und 50 µl Proteinase K wurden in jedes Röhrchen gegeben. Die Proben wurden nach dem Zentrifugieren 10 Minuten bei 72° C inkubiert. Danach wurden 100 µl Isopropanol zugegeben und die Lösung in High Pure Filter Tubes pipettiert. Das folgende Verfahren umfasste mehrere Waschschriffe mit verschiedenen Puffern (Inhibitor Removal Buffer, Wash Buffer, Elution Buffer) und eine Zentrifugation nach jedem Waschschriff. Schließlich wurde die eluierte Nukleinsäure in neue Reaktionsgefäße überführt, die bei -30° C gelagert wurden.

### 2.4.4 Reverse Transkription und PCR

Um cDNA aus RNA zu generieren, wurde eine Reverse Transkription durchgeführt und die resultierende cDNA diente als Vorlage für eine anschließende amplifizierende PCR (Bachman, 2013). Für diese Studie wurde ein Protokoll verwendet, das von Gröndahl, Puppe et al. entwickelt wurde (Gröndahl et al., 1999, Puppe et al., 2004) und von T. Daniel und C. Medina Montano im Rahmen unseres Projektes modifiziert wurde. Es wurde ein "Primer-Mix" verwendet, der alle Primer enthielt, die den in dieser Studie analysierten Mikroorganismen entsprechen.

#### Master-Mix für Reverse Transkription (1 Probe)

dNTP (10mM)	4,5 µl
5x RT Puffer	3 µl
0,1 M DTT	1,5 µl
Hexanukleotid-Primer	0,75 µl
RNAsin (Promega)	0,375 µl
Superscript Reverse Transkriptase II	0,375 µl
Probe/Kontrolle	4,5 µl
→ Summe:	15 µl

Abbildung 10 Reagenzien, die für die Reverse Transkriptase verwendet wurden

Von jeder Probe wurden 4,5 µl in den oben genannten RT-Mastermix gegeben (Abbildung 10). Um Kontaminationen oder Verschleppungen von Nukleinsäuren zu erkennen, wurden zwei

Negativkontrollen hinzugefügt, eine mit 4,5 µl nukleasefreiem Wasser anstelle einer Probe (H<sub>2</sub>O-Kontroll-RT-PCR) und eine zweite, die nur 15 µl nukleasefreies Wasser und keinen Master-Mix enthielt (H<sub>2</sub>O-Kontroll-PCR). Zusätzlich wurde eine der Negativkontrollen aus dem RNA-Extraktionsexperiment hinzugefügt, um mögliche Kontaminationen in diesem Schritt zu erkennen. Außerdem wurde eine zweite Positivkontrolle hinzugefügt, um die Funktionalität des Experiments zu überprüfen. Die Proben wurden zentrifugiert und in einen Thermocycler mit folgendem Protokoll gegeben:

- 25° C für 10 Minuten
- 42° C für 50 Minuten
- 90° C für 5 Minuten
- 20° C unendlich

#### Master-Mix für PCR (1 Probe)

DEPC H <sub>2</sub> O	15,5 µl
10x Puffer Accu Prime I	2,7 µl
Primer Mix	0,5 µl
Accu Prime Polymerase	1,1 µl
Dig 11-dUTP	0,3 µl
RT-Product	15 µl
PCR Mastermix/tube	20 µl
→ Summe:	35 µl

Abbildung 11 Reagenzien, die für die PCR verwendet wurden

Die Röhren wurden zentrifugiert und für 35 Zyklen in den Thermocycler gegeben:

- bei 94° C für 30 Sekunden (5 Minuten lang für den ersten Zyklus)
- bei 55° C für 20 Sekunden
- bei 72° C für 40 Sekunden (für 10 Minuten für den letzten Zyklus)
- bei 4° C unendlich

#### 2.4.5 Agarosegel-Elektrophorese

Die amplifizierten PCR-Produkte wurden mittels Gelelektrophorese aufgetrennt. Ein Agarosegel mit Ethidiumbromid wurde mit 3 µl MspI-digestierter pUC19 Plasmid-DNA als Größenstandardmarker hergestellt. Durch UV-Beleuchtung wurden die amplifizierten PCR-Produkte sichtbar gemacht.

#### 2.4.6 ELISA

Zur Spezifikation und Semi-Quantifizierung wurde eine ELISA-Hybridisierungsanalyse durchgeführt. Diese Methodik für unseren Multiplex-RT-PCR-ELISA wurde von C. Medina Montano und T. Daniel entwickelt und in früheren Veröffentlichungen beschrieben. Zusammengefasst wurden mit Streptavidin beschichtete Mikrotiter-Platten verwendet. Horizontal wurden Hybridisierungspuffer und acht verschiedene Sonden in die Vertiefungen gefüllt, die für die amplifizierten Zielsequenzen spezifisch sind. Die letzte vertikale Spalte wurde für eine Malaria-spezifische Sonde verwendet, den neunten verbleibenden Mikroorganismus, den wir in dieser Studie nachweisen wollten (siehe Abb. 12.). Die PCR-Produkte wurden denaturiert und in die Vertiefungen gefüllt. Als Positivkontrollen verwendeten wir die Positivkontrollen aus der m-RT-PCR in Kombination mit spezifischen Sonden. Die Negativkontrollen bestanden aus einer Mischung aller Hybridisierungssonden und Negativkontrollen aus der m-RT-PCR. Die Platten wurden mit Plastikfolie verschlossen und 1,5 bis 2 Stunden bei 37° C im Schüttler inkubiert. Die Vertiefungen wurden gewaschen, um alle PCR-Produkte zu entfernen, die nicht an die hybridisierte Sonde ligiert hatten. Antidigoxigenin-Peroxidase-Verdünnung wurde zugegeben (außer bei Vertiefung A1), und die Platten wurden nach einem Waschschrift 45 Minuten lang bei 37° C inkubiert. Anschließend wurde allen Vertiefungen ABTS-Substratlösung zugesetzt und die Platten wurden etwa 10 Minuten bei 37° C inkubiert. Wenn eine Farbänderung auftrat, wurde mit einem TECAN-ELISA-Lesegerät die optische Dichte (OD) gemessen. Der Versuch wurde als gültig angesehen, wenn die positiven Kontrollen mehr als 1,0 OD-Einheiten und die negativen Kontrollen weniger als 0,2 OD-Einheiten aufwiesen. Proben mit Werten zwischen 0,2 OD-Einheiten und 0,5 OD-Einheiten mussten erneut getestet werden.

Die gewonnenen Daten wurden in einer Excel-Datenbank gespeichert und individuell ausgewertet.

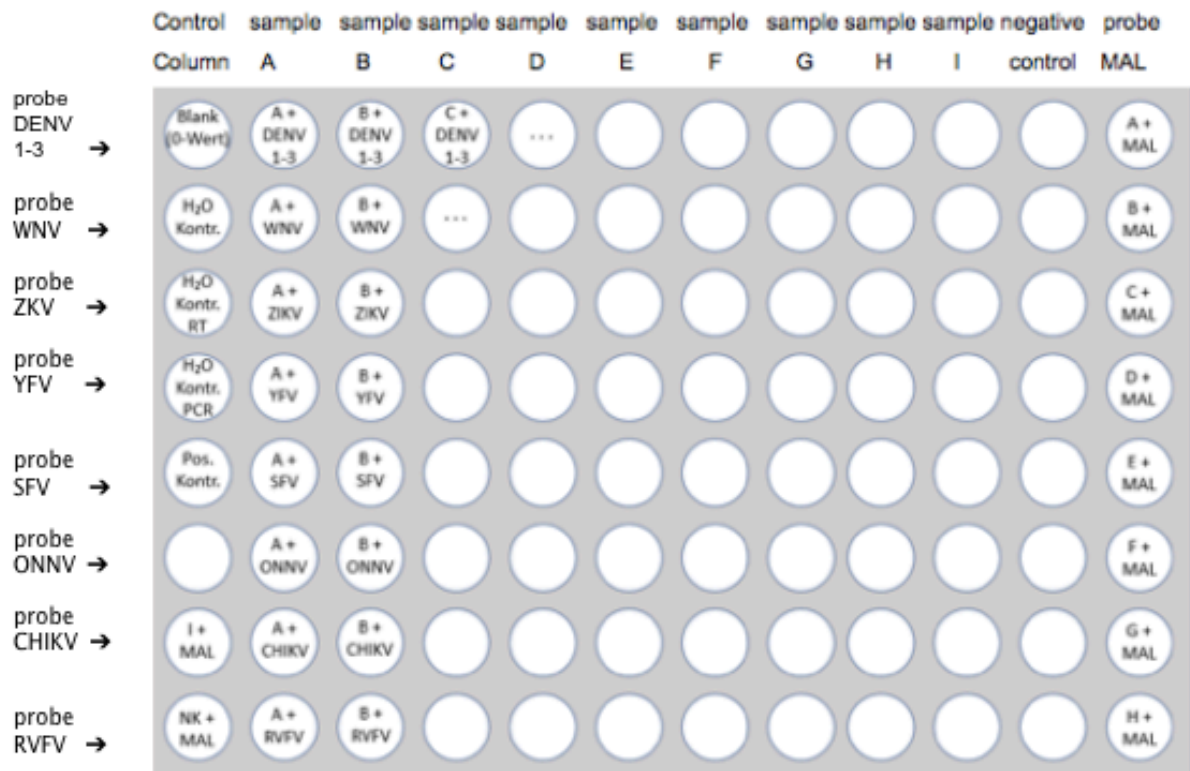


Abbildung 12 Pipettierschema der m-RT-PCR-ELISA Hybridisierungsplatten. Modifiziert nach T. Daniel. Die Proben wurden vertikal pipettiert (eine Probe pro Vertiefung). Die Sonden wurden horizontal pipettiert (eine Sonde pro Vertiefung). Die Malaria-Sonde wurde in der letzten Spalte vertikal pipettiert und in den letzten beiden Vertiefungen der ersten vertikalen Spalte.

### 2.4.7 Kontrolltests Single-Primer RT-PCR

Wenn die von unserem m-RT-PCR-ELISA ermittelten Werte nicht schlüssig waren, im Widerspruch zu den mRDTs standen, Werte zwischen 0,2 OD-Einheiten und 0,5 OD-Einheiten im ELISA zeigten oder positiv für Arboviren waren, wurden die Proben erneut getestet. Für die Wiederholungsuntersuchung verwendeten wir zuvor gewonnene Nukleinsäuren und führten eine Single-Primer-RT-PCR mit spezifischen Primern für den jeweiligen Erreger durch, der erneut getestet werden musste.

### Master-Mix für Single Primer Reverse Transkriptase (1 Probe)

dNTP (10mM)	1,5 µl
5x RT Puffer	1 µl
0,1 M DTT	0,5 µl
Hexanukleotide	0,25 µl
RNAsin	0,13 µl
SuperScript II Reverse Transcriptase	0,1 µl
RT-Mastermix/Probe	3,5 µl
Probe	2 µl
→ Summe	5,5 µl

Abbildung 13 Reagenzien, die für die Single Primer Reverse Transkriptase verwendet wurden

Die Röhren wurden in einen Thermocycler mit folgendem Protokoll eingesetzt:

- 25° C für 10 Minuten
- 42° C für 50 Minuten
- 90° C für 5 Minuten
- 20° C unendlich

### Master Mix für Single Primer PCR (1 Probe)

DEPC H2O	11,6 µl
10x Puffer	2 µl
Dig-11-dUTP	0,2 µl
AccuPrime Polymerase	0,4 µl
Primer (Forward+Reverse)	1 µl
PCR-MasterMix/Probe	15 µl
RT-Probe	5,5 µl
→ Summe	20,5 µl

Abbildung 14 Reagenzien, die für die Single Primer PCR verwendet wurden

Die Proben wurden für 43 Zyklen in den Thermocycler gegeben:

- 30 Sekunden bei 94° C (5 Minuten im ersten Zyklus)
- 20 Sekunden bei 55° C
- 40 Sekunden bei 72° C (10 Minuten im letzten Zyklus)
- 4° C unendlich

Für jede getestete Positivkontrolle wurde eine Negativkontrolle getestet, die 2 µl nukleasefreies Wasser anstelle einer Probe enthielt.

Anschließend wurden die Einzelprimer-PCR-Produkte durch Gelelektrophorese aufgetrennt, gefolgt von einer semiquantitativen Analyse mittels ELISA.

#### 2.4.8 Single Primer PCR für die Bestimmung von Zika-Virus im Urin

Urinproben, die von fiebernden Kindern in Tansania entnommen wurden, wurden mit einer Single-Primer-RT-PCR und anschließendem ELISA auf das ZIKV getestet. Die Nukleinsäuren wurden mittels RNA-Isolierung (siehe Kapitel 2.4.3) aus 200 µl Urin und einer positiven Kontrolle für ZIKV extrahiert. Anschließend wurde eine Reverse Transkription und eine Einzelprimer-PCR durchgeführt, wie in Kapitel 2.4.4 beschrieben. Zur Semiquantifizierung wurde ein ELISA-Immunoassay durchgeführt (2.4.6), wobei nur eine ZIKV-spezifische Sonde verwendet wurde.

#### 2.4.9 Serologie der Proben auf Dengue- und Chikungunya-Virus

Die serologische Untersuchung auf DENV-IgM, -IgG und CHIKV-IgG erfolgte am Fraunhofer-Institut (FHI) für Zelltherapie und Immunologie in Leipzig. Die im STRRH gesammelten Serum- und Plasmaproben wurden gefroren gelagert. Für die serologische Untersuchung wurden 100 µl jeder Probe an das FHI geschickt. Durch die Verwendung eines EQUAD-ELISA für DENV mit vier rekombinanten, mutierten DENV-Hüllproteinen konnte die Kreuzreaktivität zwischen Flaviviren reduziert werden (Rockstroh et al., 2017). Für den Nachweis von CHIKV-IgG wurde ebenfalls ein EQUAD-ELISA verwendet.

Nach der Hybridisierungsreaktion wurden die Ergebnisse über OD-Werte mit spezifischen Cut-off-Werten für jeden Antikörper ermittelt:

- DENV-IgM: OD=0,31

- DENV-IgG: OD=0,33

- CHIKV-IgG: OD=0,21

Jede Messung wurde zweimal durchgeführt und anschließend wurde ein Mittelwert berechnet. Wenn das Verhältnis von Mittelwert zu Cut-off-Level größer als 1,1 war, wurde der Wert als positiv angesehen.

## 2.5 Diagnostik von Harnwegsinfektionen

Zur Diagnose von Harnwegsinfektionen bei Kindern verwendeten wir Urinteststreifen. Ein Urinteststreifen wurde als positiv für eine Harnwegsinfektion gewertet, wenn LE und Nitrit positiv waren. Als Referenzstandard diente die US-Definition von positiver LE mit einem Schwellenwert von Spuren („trace“) im Teststreifen (Subcommittee on Urinary Tract Infection et al., 2011).

## 2.6 Statistische Auswertung

### 2.6.1 Übereinstimmung von Malaria-Schnelltests und PCR-ELISA

Um die Übereinstimmung der Ergebnisse der mRDT- und mPCR-Malaria-Tests zu messen, wurde eine Interrater-Reliabilitätsanalyse unter Verwendung der Cohens-Kappa-Statistik durchgeführt. Die Daten wurden in Microsoft Excel Version 16.27 eingegeben.

### 2.6.2 Unterschiede zwischen Malaria-positiven und -negativen Patienten hinsichtlich der Symptome

Die Unterschiede bei den Symptomen und der Proteinurie zwischen den beiden Gruppen "Malaria-positiv" und "Malaria-negativ" wurden mittels eines Chi-Quadrat-Tests bewertet. Die statistischen Analysen wurden mit IBM SPSS Statistics Version 25 durchgeführt.

### 2.6.3 Unterschiede zwischen malariapositiven und -negativen Patienten hinsichtlich der Laborwerte

Zur Bewertung der Unterschiede zwischen den jeweiligen Gruppen wurde ein t-Test für unabhängige Stichproben durchgeführt. Die statistischen Analysen wurden mit IBM SPSS Statistics Version 25 durchgeführt.

## 2.7 Material

Tabelle 1 Materialien für die Probengewinnung und -verarbeitung

Medizinische Handschuhe	SATRA	Northamptonshire, UK
Pipetten	Eppendorf Research	Hamburg, DE
Pipettenspitzen	Biosphere Filter Tips. Sarstedt AG & Co	Nümbrecht, DE
Butterflies 21G	B. Braun	Melsungen, DE
Venenkatheter	B. Braun	Melsungen, DE
Einmalspritze 2ml	B. Braun	Melsungen, DE
Röhrchen in unterschiedlichen Größen	Sarstedt AG&Co	Nümbrecht, DE
Fieberthermometer	Med Comfort	Winsen, DE
Whatman 903 Protein Saver Cards	Whatman, GE Healthcare Life Science	Little Chalfont, UK
NADAL Malaria Test (P.f./Pan)	Nal von Minden GmbH	Moers, DE
Carestart Malaria Pf./Pan Combo Test	American Access Bio Inc.	Somerset, NJ, USA
PANBIO Dengue Early Rapid Test	Standard Diagnostics Inc.	Korea
Multistix 10 SG Reagenzstreifen	Siemens	Eschborn, DE
Plastik-Ziploc-Beutel	Whatman, GE Healthcare	Little Chalfont, UK
Desi Dry5g Silica Gel Beutel mit Indikator	ThoMar OHG	Lüttau, DE
BioPack Kühlbox für den Transport	Air Sea Containers Ltd.	UK
Sauerstoffsättigungsinstrument für Kinder	Oxigeno HealthCare GmbH	Ingolstadt, DE

Tabelle 2 Materialien für die Elution der Filterkarten

Nuklease-freies Wasser	Carl Roth	Karlsruhe, DE
Stanzen (Ø 3mm)	Uni-Core Punch, GE Healthcare Life Science	Little Chalfont, UK
Stanzmatte	Uni-Core Punch, GE Healthcare Life Science	Little Chalfont, UK
Heizblock	Eppendorf	Hamburg, De

Tabelle 3 Materialien für die RNA-Isolation

High Pure Viral Nucleic Acid Kit	Roche Diagnostics GmbH	Mannheim, DE
Isopropanol	Merck, AG	Darmstadt, DE
Filterspitzen	Sarstedt	Nümbrecht, DE
Terralin	Schülke	Münster, DE
Ethanol 100%	PanReac AppliChem	Darmstadt, DE

Tabelle 4 Materialien für die Reverse Transkription (Single- und Multiplex)

Deoxynukleosidtriphosphate	Roche Diagnostics GmbH	Mannheim, DE
10x Accu Prime Puffer	Invitrogen	Carlsbad, USA
Filterspitzen	Sarstedt	Nümbrecht, DE
Accu Prime Taq Polymerase	Invitrogen	Carlsbad, USA
Digoxigenin-11-dUTP	Roche Diagnostics GmbH	Mannheim, DE
Hexanukleotide	Roche Diagnostics GmbH	Mannheim, DE
Rekombinanter RNAsin	Promega	Madison, USA
Ribonuclease-Inhibitor		
SuperScript II Reverse Transkriptase	Invitrogen	Carlsbad, USA
Nuklease-freies Wasser DEPC	Carl Roth GmbH	Karlsruhe, DE

Tabelle 5 Materialien für die PCR (Single- und Multiplex)

Nuklease-freies Wasser DEPC	Carl Roth GmbH	Karlsruhe, DE
10x Accu Prime Puffer	Invitrogen	Carlsbad, USA
Accu Prime Taq Polymerase	Invitrogen	Carlsbad, USA
Digoxigenin-11-dUTP	Roche Diagnostics GmbH	Mannheim, DE

Tabelle 6 Materialien für das Agarosegel

Agarose	Biozym Scientific GmbH	Hess. Oldendorf, DE
TBE Puffer	Invitrogen	Carlsbad, USA
Ethidiumbromid 0,95mg/ml	Sigma Chemie GmbH	Deisenhofen, DE
Größenstandard, pUC19 DNA/Mspl (HpaI)	Thermo Fisher Scientific	Waltham, MA USA
6x DNA-Ladefarbstoff	Thermo Fisher Scientific	Waltham, MA USA
Parafilm Laborfolie	Bemis Company	Neenah, USA
Nitril-Handschuhe Größe S	Microflex	Reno, NV USA

Tabelle 7 Material, das für die ELISA verwendet wurde

Hybridisierungspuffer	Roche Diagnostics GmbH	Mannheim, DE
Sonden	Invitrogen by Thermo Fisher Scientific	Carlsbad, USA
Röhrchen	Sarstedt	Nümbrecht, DE
Streptawell High-Bind-Platten transparent, 12 x 8-fach	Roche Diagnostics GmbH	Mannheim, DE
Combitips advanced 5ml	Eppendorf AG	Hamburg, DE
Cellstar-Röhrchen 50 ml	Greiner Bio-One	Kremsmünster, AU
ABTS-Tabletten und Substratlösung	Roche Diagnostics GmbH	Mannheim, DE
Konjugat-Puffer	100 nM Tris HCl, Ph 7,5 150 nM NaCl	Mainz, DE
Substrat-Puffer	Roche Diagnostics GmbH	Carlsbad, USA
Anti-dig-Peroxidase-Konjugat	Roche Diagnostics GmbH	Carlsbad, USA
Mehrfach-Pipette	Eppendorf	Hamburg, DE
Röhrchen	Eppendorf	Hamburg, DE

Tabelle 8 Technische Geräte

Vortex	Heidolph	Schwabach, DE
Zentrifuge	Heraeus	Hanau, DE
Inkubator	Heraeus	Hanau, DE
Zentrifuge 424	Eppendorf	Hamburg, DE
Gel-Elektrophoresekammer	Biorad	München, DE
Kühlschrank	Bosch	Gerlingen, DE
Microwelle	AEG	Frankfurt a.M., DE
Rohrgestelle	Eppendorf	Hamburg, DE
Laminar Flow Kabine	BIO AIR Instruments	Siziano, IT
ELISA-Lesegerät	Tecan Trading AG	Männerdorf, CH
ELISA-Waschmaschine	Tecan Trading AG	Männerdorf, CH
Microzentrifuge	Heraeus	Hanau, DE
Thermocycler PTC 200	Biorad	München, DE
UV-Transilluminator	Biorad	München, DE
Heizblock Thermomixer	Eppendorf	Hamburg, DE
Agarosegel-Schlitten	Carl Roth	Karlsruhe, DE
Becherglas	Simax	Tschechien

Tabelle 9 Positivkontrollen der Single- und Multiplex PCR

Dengue Virus	Labor für pädiatrische Immunologie und Infektionskrankheiten (Mainz, DE)	Inaktivierter Vero-Zellkulturüberstand
Zika Virus	Robert Koch Institut (Berlin, DE)	Inaktivierter Zellkulturüberstand (Stamm MR766 Lineage)
West Nil Virus	HiSS Diagnostics GmbH	Inaktivierter Zellüberstand (Accu Type TM West Nile Virus Lineage I)
Chikungunya Virus Gelbfieber Virus	Institut für Virologie Universität Freiburg Robert Koch Institut (Berlin, DE)	Virale Antigene Überstand aus Zellkulturen
Semliki Forest Virus	European Virus Archive goes Global (EVAg)	Originalisolat hergestellt mit QIAamp Viral RNA mini Kit Qiagen
O'nyong – nyong Virus	European Virus Archive goes Global (EVAg)	Inaktivierter Zellkulturüberstand, infiziert in Vero-Zellen (Stamm Dakar 234)
Rift Valley Fever Virus	Robert Koch Institut (Berlin, DE)	Überstand aus Zellkulturen
<i>Plasmodium falciparum</i>	Discovery Life Sciences	DLS16-11865 VB von verschiedenen mit Malaria infizierten Patienten, mikroskopisch untersucht
<i>Plasmodium vivax</i>	Discovery Life Sciences	DSL15-08486 Serum von verschiedenen mit Malaria infizierten Patienten, mikroskopisch untersucht
<i>Plasmodium malariae</i>	Discovery Life Sciences	Serum von Patienten mit Malaria, mikroskopisch untersucht

### 3 Ergebnisse

#### 3.1 Studienpopulation

Insgesamt wurden 101 Kinder im Alter von einem Lebensmonat bis 12 Lebensjahren in die Studie aufgenommen. Das durchschnittliche Alter lag bei 35 Monaten. Es wurden fünf Altersgruppen gebildet. Die Gruppe der 1- bis 3-jährigen war am häufigsten vertreten. Das Geschlechterverhältnis in der Studienpopulation war nicht ausgeglichen. 65 % der Studienteilnehmer:innen waren männlichen Geschlechts. Somit lag das Geschlechterverhältnis ungefähr bei 1:2.

Tabelle 10 Altersgruppen und Geschlechterverteilung der Studienpopulation

	N	%
weiblich	35/101	34,7
männlich	66/101	65,3
Altersgruppe		
1 bis <12 Monate	24/101	23,8
12 bis <36 Monate	43/101	42,6
36 bis <60 Monate	12/101	11,9
5 bis <8 Jahre	11/101	10,9
8 bis <12 Jahre	11/101	10,9

Der Ernährungszustand wurde durch die Berechnung des Gewichts in Relation zur Körpergröße (Kinder von 0 bis 5 Jahren) und des BMI in Relation zum Alter (Kinder von 5 bis 12 Jahren) gemäß den Wachstumsreferenzen der WHO ermittelt. Innerhalb der gesamten Studienpopulation wurde von 60 Kindern sowohl Körpergewicht als auch Körpergröße ermittelt, sodass eine Aussage über den Ernährungszustand getroffen werden konnte. Fast die Hälfte dieser Kinder hatte einen Ernährungszustand im Bereich des Untergewichts.

Tabelle 11 Ernährungszustand innerhalb der Studienpopulation

Nutritional Status	N	%
4 SD über dem Mittelwert	1/60	1,7
3 SD über dem Mittelwert	5/60	8,3
2 SD über dem Mittelwert	6/60	10,0
Normal	13/60	21,7
1 SD unter dem Mittelwert	6/60	10,0
2 SD unter dem Mittelwert	12/60	20,0
3 SD unter dem Mittelwert	6/60	10,0
4 SD unter dem Mittelwert	2/60	3,3

Als Einschlusskriterium wurde eine axilläre Körpertemperatur ab 38,0° C festgelegt. Die durchschnittliche Körpertemperatur in der Studienpopulation betrug 38,5° C.

Tabelle 12 Körpertemperatur innerhalb der Studienpopulation

Körpertemperatur	N	%
38 bis <39° C	79/101	78,2
39 bis <40° C	21/101	20,8
>40° C	1/101	1

### 3.2 Impfstatus, Vorerkrankungen und Reiseanamnese

Von allen Patient:innen wurde der Impfstatus erhoben. In den wenigsten Fällen lag ein entsprechender Impfnachweis vor, weshalb sich die Angaben auf die entsprechenden Aussagen der Angehörigen stützt. Die Hälfte der Kinder war vollständig geimpft, bei knapp 40 % der Kinder lag ein unbekannter Impfstatus vor.

Tabelle 13 Impfstatus der Studienpopulation

Impfstatus	N	%
auf dem neuesten Stand	51/101	50,5
unvollständig	10/101	9,9
unbekannt	40/101	39,6

In der Anamnese wurden chronische Erkrankungen der Kinder wie Sichelzellanämie, HIV und syndromale Erkrankungen erfragt. 90 % der Kinder hatten keine bekannten chronischen Erkrankungen. Bei 7 Kindern wurde eine Sichelzellanämie angegeben. An HIV waren 3 Kinder erkrankt.

Tabelle 14 Vorerkrankungen der Studienpopulation

Chronische Vorerkrankungen	n	%
Sichelzellanämie	7/101	6,9
HIV	3/101	2,9
Syndromale Erkrankungen	0/101	0
Keine	91/101	90,1

Außerdem wurde eine Reiseanamnese erhoben. Bei 8 Kindern wurde eine zurückliegende Reise außerhalb von Mwanza angegeben. Es wurde kein Zusammenhang zwischen einer positiven Reiseanamnese und positiven IgM-Antikörpern für Dengue oder Chikungunya beobachtet.

### 3.3 Prämedikation

In der Anamnese wurde erhoben, ob die Kinder bereits vor Aufnahme in die Studie ein oder mehrere Medikamente erhalten hatten. Insbesondere wurden Antibiotika, Antimalaria-Mittel und Schmerzmedikamente abgefragt. Einige Eltern gaben an, mit ihren Kindern zuvor bei einem „traditionellen Heiler“ gewesen zu sein. Dort wurden in einigen Fällen heimische Kräuter verabreicht, welche nicht genauer eruiert werden konnten.

Fast die Hälfte der Proband:innen (48/101) erhielten bereits vor Eintreffen in der Klinik Medikamente. 7 Patient:innen, bei denen sich später bestätigte, dass sie Malaria-positiv waren, erhielten bereits außerklinisch eine Malariamedikation. 13 Patient:innen erhielten vor ihrer Ankunft im STRRH eine Malariamedikation und erwiesen sich später als malarianegativ. 8 Patient:innen erhielten sowohl Malariamedikamente, als auch Antibiotika als Prämedikation (s. Tabelle 15 und Abb. 15).

Tabelle 15 Prämedikation der Studienpopulation

<b><u>Antibiotika</u></b>	n	%
Keine	80/101	79,2
Ja	21/101	23,8
Ampicillin	5/21	23,8
Amoxicillin	2/21	9,5
Ceftriaxon	6/21	28,5
Cefalexin	2/21	9,5
Cloxacellin	2/21	9,5
Erythromycin	2/21	9,5
Gentamycin	6/21	28,5
<b><u>Antimalaria-Medikamente</u></b>		
Keine	81/101	80,2
Ja	20/101	19,8
Artemether-Lumefantrine (ALU)	12/20	60
Artesunat	4/20	20
Quinin	4/20	20
<b><u>Analgetika</u></b>		
Keine	74/101	73,3
Ja	27/101	26,7
Paracetamol	24/27	88,9
Diclofenac	2/27	7,4
<b><u>Andere</u></b>		
Heimische Kräuter	6/101	5,9
Antikonvulsiva	2/101	2,0
Sonstige	16/101	15,8

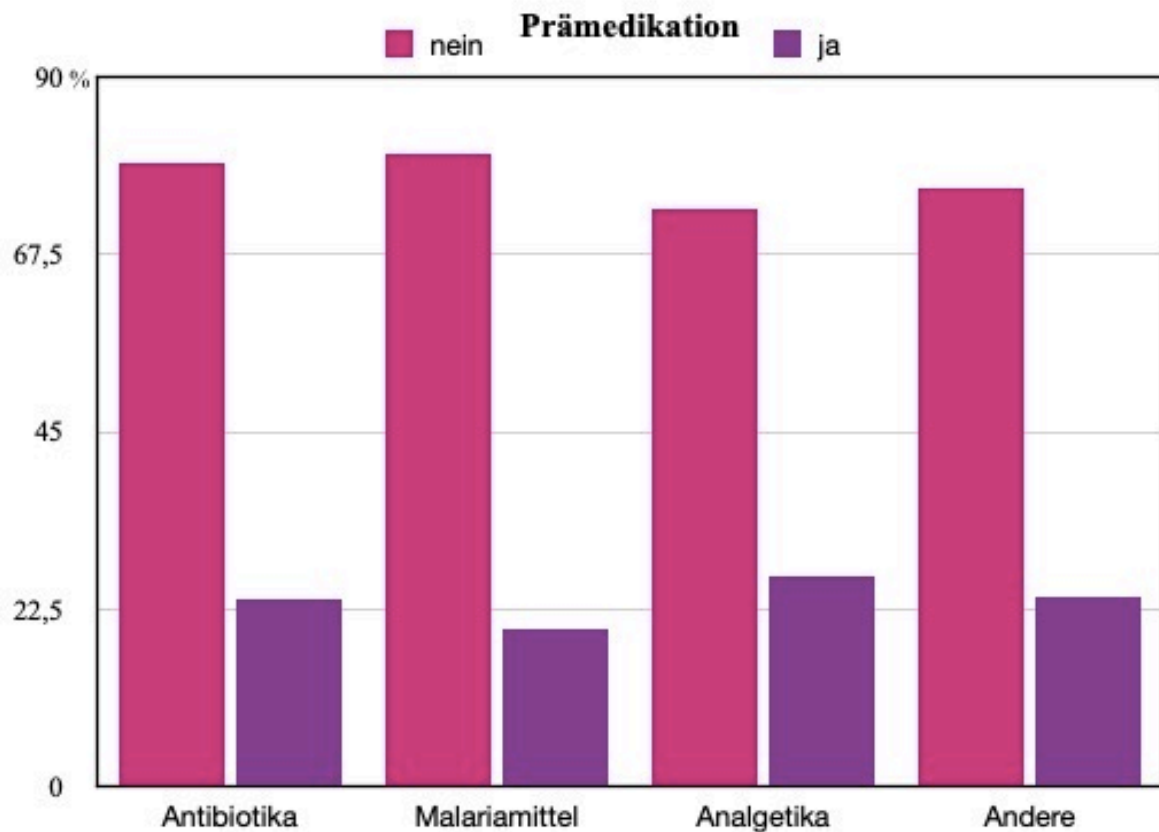


Abbildung 15 Prämedikation der Studienpopulation

### 3.4 Klinische Symptome

Bei Erhebung der klinischen Symptome wurde die Symptombdauer, gastro-intestinale und respiratorische Symptome, Schmerzen und neurologische Symptome ermittelt. Diese sind Tabelle 16 und Abbildung 16 zu entnehmen. Die durchschnittliche Symptombdauer betrug 6,3 Tage. Die Mehrheit der Proband:innen (76 %) gaben respiratorische Symptome wie Husten, Schnupfen und Dyspnoe an. Darüber hinaus gaben 60 % der Proband:innen gastro-intestinale Symptome wie Erbrechen, Diarrhö und abdominelle Schmerzen an. Neurologische Symptome wie Meningismus, gespannte Fontanelle(n) oder Konvulsionen wurden bei 21 % der Proband:innen erhoben. Schmerzen wurden bei 14 % der Proband:innen angegeben. Insgesamt gaben 95 % der Studienteilnehmer:innen Symptome an, die mit Malaria und malariaähnlichen Erkrankungen assoziiert sind.

Tabelle 16: Klinische Symptome

	n	%
Gastrointestinal	61/101	60,4
-Erbrechen	47/101	46,5
-Diarrhö	27/101	26,7
Schmerzen	14/101	13,9
-Cephalgie	8/101	7,9
-Myalgie	3/101	2,9
-Arthralgie	6/101	5,9
-retroorbital	0/101	0
Respiratorisch	77/101	76,2
-Husten	64/101	73,4
-Schnupfen	12/101	11,9
-Dyspnoe	33/101	32,7
-Rasselgeräusche	22/101	21,8
Neurologisch	21/101	20,8
-Meningismus	5/101	4,9
-Konvulsion	17/101	16,8
-Fontanelle(n)	2/101	1,9

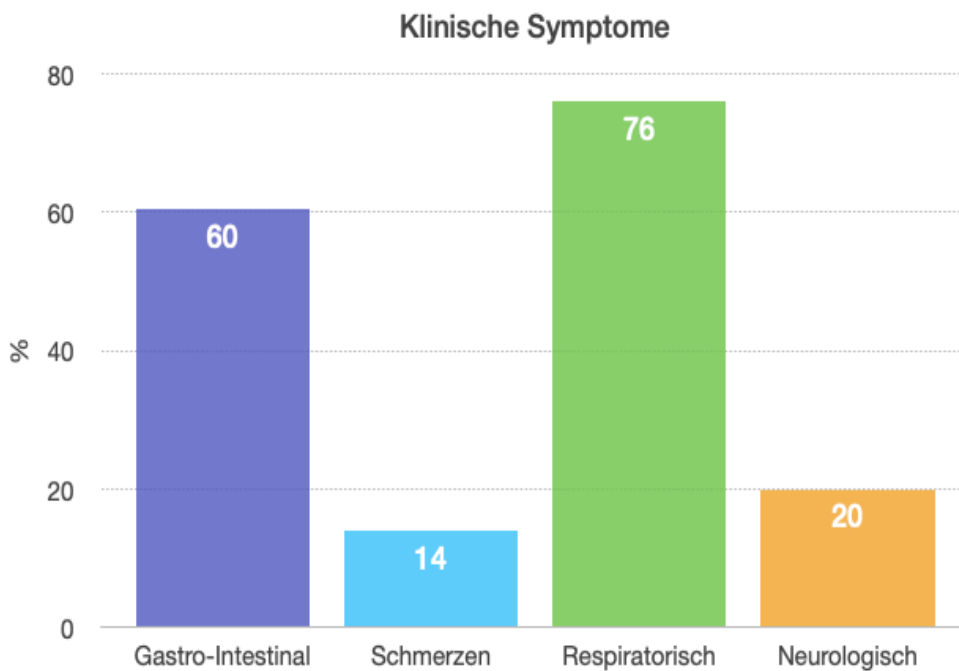


Abbildung 16 Klinische Symptome der Studienpopulation

### 3.5 Körperliche Untersuchung

In der körperlichen Untersuchung wurden klinische Zeichen wie Blässe, Dehydrationszeichen, Ödeme, sowie eine etwaige Hepato- und/oder Splenomegalie eruiert. Etwa die Hälfte der untersuchten Kinder (50/101) zeigte eine körperliche Blässe, davon wiederum die Hälfte stark ausgeprägte Blässe (26/101). Dehydrationszeichen wiesen dagegen ca. 13 % der Proband:innen auf. Ödeme zeigten sich bei 3 Kindern (2,9 %), eine Hepatomegalie bei 6 Kindern (5,9 %) und eine Splenomegalie bei 7 Kindern (6,9 %). Die Ergebnisse sind Tabelle 17 und Abb. 17 zu entnehmen.

Tabelle 17: Ergebnisse der körperlichen Untersuchung

	N	%
Blässe	50/101	49,5
-gering ausgeprägt	24/101	23,8
-stark ausgeprägt	26/101	25,7
Dehydratation	13/101	12,9
Ödeme	3/101	2,9
Hepatomegalie	6/101	5,9
Splenomegalie	7/101	6,9

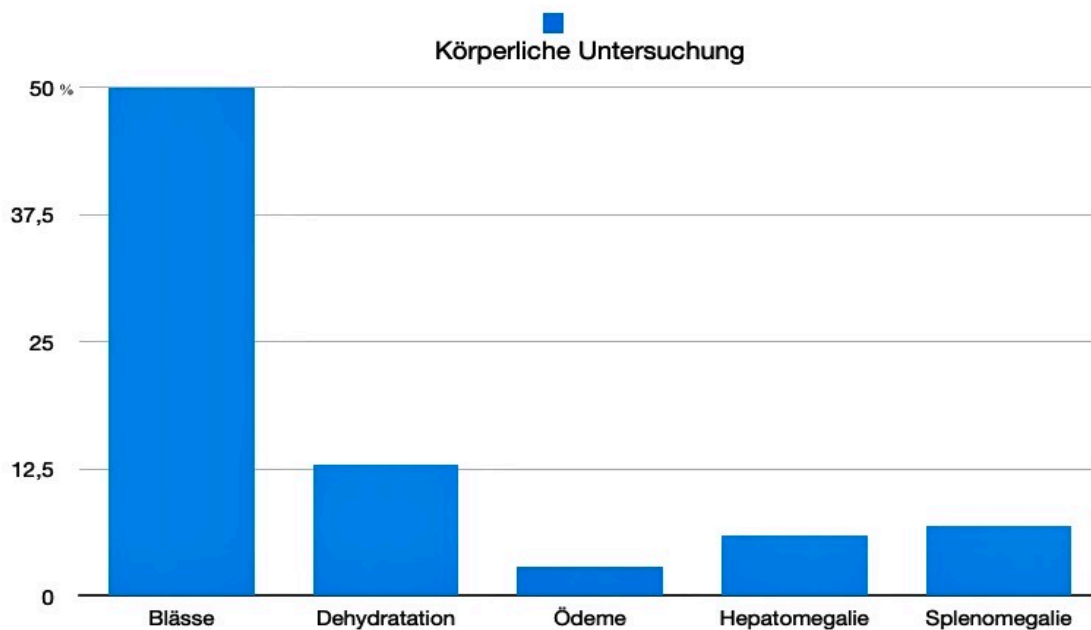


Abbildung 17 Körperliche Symptome der Studienpopulation

### 3.6 Malaria-assoziierte Symptome

Die häufigsten Symptome unter den Malaria-positiven Patient:innen waren Blässe (66 %) und respiratorische Symptome wie Husten, Schnupfen und auskultatorische Rasselgeräusche. Respiratorische Symptome traten ebenfalls bei 66 % (16/24) aller Malaria-positiven Patient:innen auf. Gastrointestinale Symptome zeigten sich bei 58 % aller Malaria-positiven Patient:innen. Etwa ein Drittel (9/24) der Malaria-positiven Kinder zeigte neurologische Symptome wie Meningismus, Konvulsionen oder gespannte Fontanellen.

Die Verteilung der Malaria-assoziierten Symptome ist Abbildung 18 zu entnehmen.

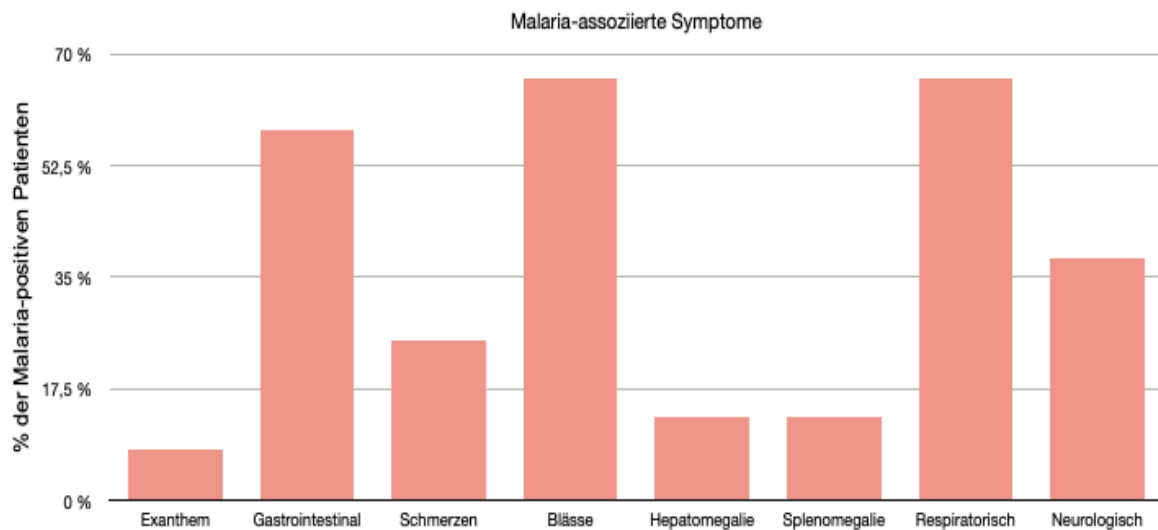


Abbildung 18 Symptome unter den Malaria-positiven Patient:innen

### 3.6.1 Vergleich der Symptome bei Malaria-positiven und -negativen Patient:innen

Im Vergleich der klinischen Symptome bei Malaria-positiv und Malaria-negativ getesteten Patient:innen können krankheitsspezifische Symptome erkannt werden. Die Verteilung erfolgt unter 24 Malaria-positiven Patient:innen und 77 Malaria-negativen Patient:innen aus der Gesamtkohorte. Die Unterschiede der prozentualen Verteilung ist Abbildung 19 zu entnehmen. Die größten Unterschiede in den klinischen Symptomen zwischen Malaria-positiven und Malaria-negativen Kindern zeigten sich bei den klinischen Merkmalen Blässe (66 % vs. 45 %), Schmerzen (25 % vs. 10 %), neurologische Symptome (38 % vs. 16 %), Hepatomegalie (13 % vs. 4 %) und Splenomegalie (13 % vs. 5 %). Mithilfe des Chi-Quadrat-Tests wurden diese Kardinalsymptome in Zusammenhang mit einer vorliegenden Malaria-Infektion getestet.

Neurologische Symptome traten bei Malaria-positiven Patient:innen statistisch signifikant häufiger auf als bei Malaria-negativen Patient:innen ( $p=0,021$ ). Auch Schmerzen traten bei Patient:innen mit Malaria häufiger auf als bei Malaria-negativen Patient:innen, allerdings wurde die statistische Signifikanz nur annähernd erreicht ( $p=0,071$ ). Hinsichtlich der übrigen Symptome zeigten die Daten keine statistisch signifikanten Korrelationen zwischen diesen beiden Gruppen.

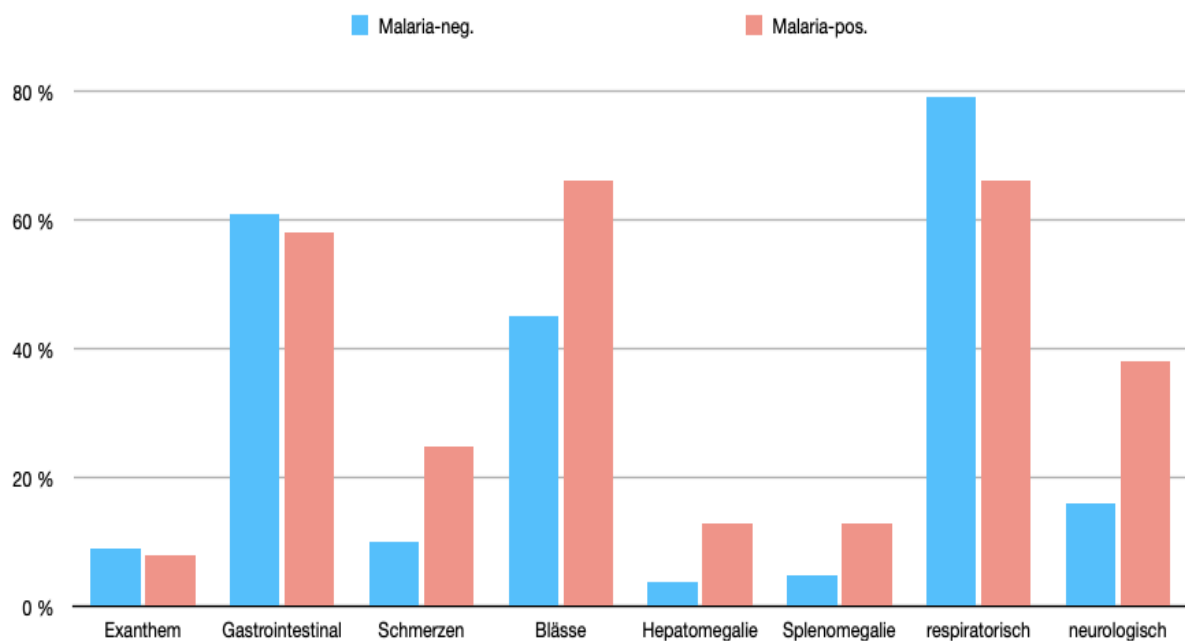


Abbildung 19 Verteilung der Symptome bei Malaria-positiven und Malaria-negativen Patient:innen im Vergleich

### 3.7 Symptome bei Patient:innen mit Harnwegsinfekten

In der Anamnese wurden klassische Symptome einer Harnwegsinfektion wie Dysurie, Pollakisurie, Hämaturie und Lendenschmerzen erfragt. In der körperlichen Untersuchung wurden Nierenklopfeschmerzen und suprapubische Druckschmerzen eruiert. Mehr als 90 % der Studienteilnehmer:innen zeigten weder in der Anamnese noch in der körperlichen Untersuchung klassische Zeichen eines Harnwegsinfektes (s. Tabelle 18).

Tabelle 18: Symptome eines Harnwegsinfektes in Anamnese und körperlicher Untersuchung

Anzeichen eines HWI in der Anamnese	n	%
nein	93/101	92,0
ja	8/101	7,9
-Dysurie	6/101	5,9
-Pollakisurie	4/101	4,9
-Hämaturie	4/101	4,9
-Lendenschmerzen	0/101	0
Anzeichen eines HWI in der Untersuchung		
nein	99/101	98,0
ja	2/101	2,0
-Nierenklopfeschmerz	0/101	0
-suprapubischer Druckschmerz	2/101	2,0

### 3.8 Nachverfolgung der Patient:innen

Fast 90 % aller Studienteilnehmer:innen wurden stationär ins STRRH aufgenommen. Die durchschnittliche Aufenthaltsdauer betrug 3,5 Tage. Im Zeitraum der Datenerhebung verstarben 6 Studienteilnehmer:innen (5,9 %). Ebenfalls 6 Studienteilnehmer:innen wurden ins nahegelegene größere Krankenhaus (Bugando Medical Centre, BMC) verlegt (s. Tabelle 19 und Abb. 20).

Tabelle 19: Nachverfolgung der Studienteilnehmer:innen

Stationäre Aufnahme	n	%
nein	13/101	12,9
ja	88/101	87,1
Outcome		
lebend	95/101	94,1
verstorben	6/101	5,9
Verlegung ins BMC	6/101	5,9

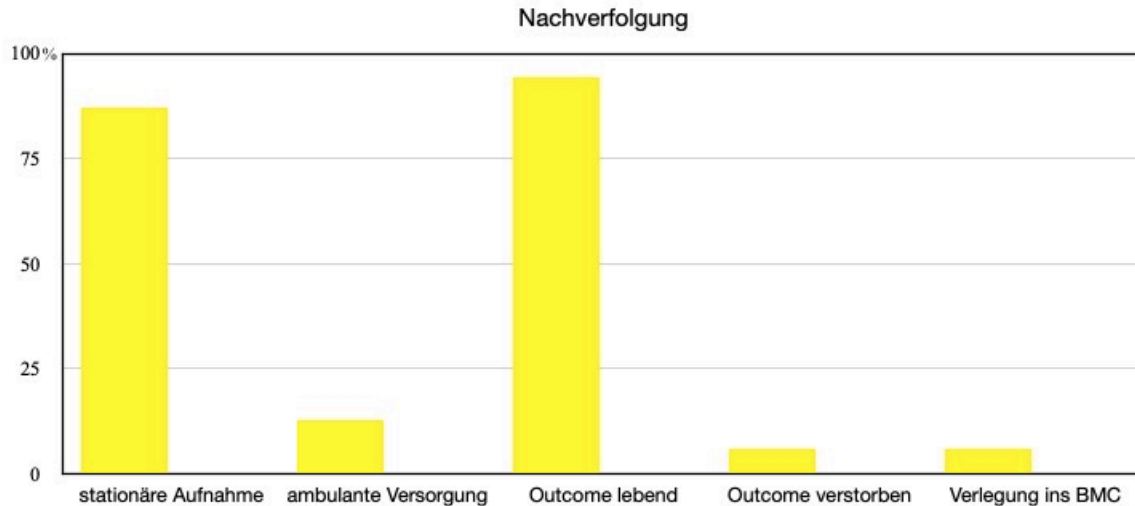


Abbildung 20 Nachverfolgung der Studienpopulation

### 3.9 Malaria-Diagnose

#### 3.9.1 Malaria Rapid Diagnostic Test

Zu Beginn der Studie wurden sowohl der Malaria-Schnelltest von NADAL® als auch ein interner Schnelltest von CareStart™ verwendet. In 45 Fällen wurden beide Tests durchgeführt und zeigten bei allen Ergebnissen Korrelationen, weshalb im weiteren Verlauf lediglich einfach getestet wurde.

Insgesamt wurden 14 Patient:innen im mRDT positiv getestet (13,9 %, n=14/101). In 6 Fällen war der Test positiv für *P. falciparum*. Bei 8 Patient:innen war der Teststreifen sowohl für *P. falciparum* als auch für Pan positiv.

#### 3.9.2 Arbeitsdiagnose und Therapie

Die Arbeitsdiagnose "Malaria" wurde bei 37 Patient:innen gestellt und zuvor bei 14 Patient:innen (14/37, 37,8 %) durch einen mRDT bestätigt. Insgesamt erhielten also 23 Patient:innen die Arbeitsdiagnose "Malaria", obwohl der mRDT ein negatives Ergebnis anzeigte. Das bedeutet, dass nur etwa ein Drittel aller Malaria-Diagnosen sich an einem positiven mRDT-Ergebnis orientierten. In einem Fall zeigte der mRDT ein positives Testergebnis, aber Malaria wurde nicht diagnostiziert und therapiert. 15 Patient:innen erhielten die Arbeitsdiagnose "Malaria" und wurden später in der PCR als Malaria-positiv bestätigt. Bei 59 % (22/37) aller Patient:innen wurde also letztendlich fälschlicherweise Malaria diagnostiziert.

Insgesamt erhielten 29 Kinder Antimalaria-Medikamente, wovon lediglich bei 23 zuvor Malaria als Arbeitsdiagnose formuliert wurde. Etwa 20 % (6/29) der Kinder erhielten Malariamedikamente, ohne dass sie zuvor auf eine Malaria-Infektion getestet wurden.

Insgesamt wurden 13 Kinder mithilfe des mRDTs mit Malaria diagnostiziert und anschließend therapiert. Es erfolgten ca. die Hälfte aller medikamentösen Malaria-Therapien (55%, 16/29) ohne parasitologischen Nachweis.

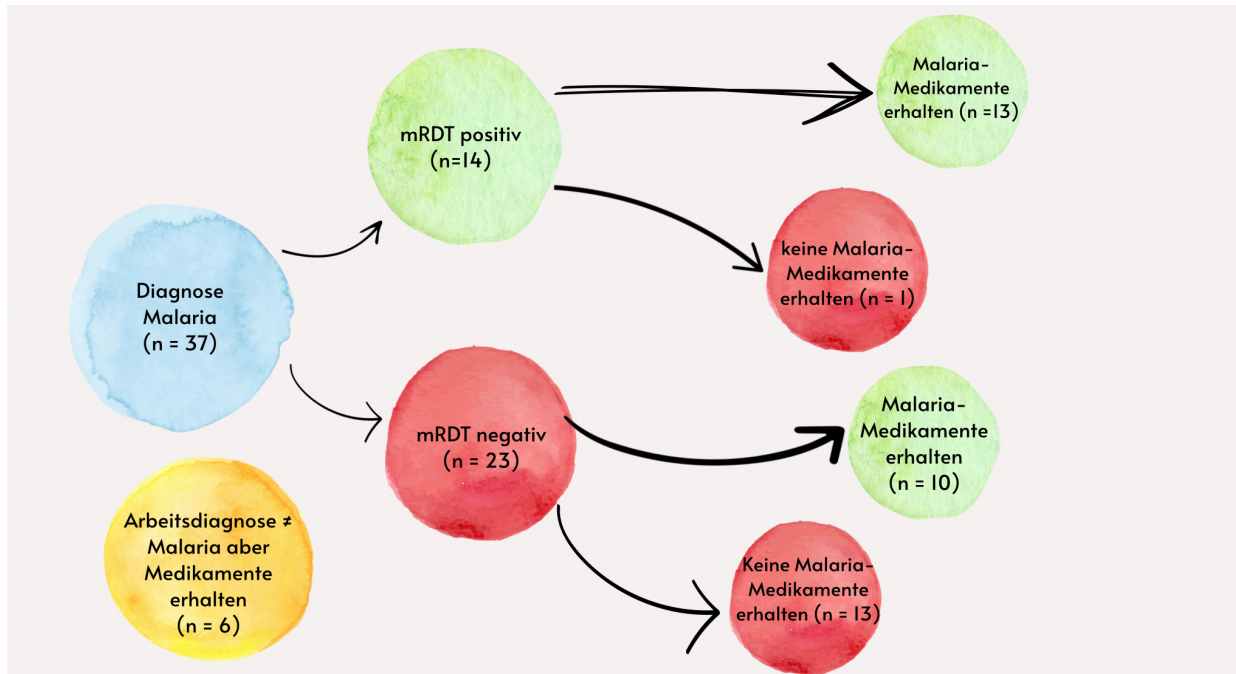


Abbildung 21 Arbeitsdiagnose und anschließende Therapie

### 3.9.3 Malaria Diagnose durch PCR

Im Labor in Mainz wurden die DBS mittels Multiplex-PCR und ELISA untersucht, um Malaria und andere Arboviren nachzuweisen. Die Multiplex-PCR und ELISA waren in 11 Fällen positiv für Malaria. In 15 Fällen wurden grenzwertige Ergebnisse erzielt, die eine erneute Testung erforderlich machten. In 3 Fällen stimmten mRDT- und PCR-Ergebnisse nicht überein und wurden ebenfalls zur erneuten Untersuchung aufgeführt. Alle 18 Sonden, die erneut getestet werden sollten, wurden einer Single-Primer-PCR und einem anschließenden ELISA unterzogen. Mit der Single-Primer-PCR und dem ELISA wurden 13 weitere Malaria-Fälle nachgewiesen. Zusammenfassend lässt sich sagen, dass die PCR in 24 Fällen positiv für Malaria war (24/101, 23,8 %).

#### 3.9.3.1 Sensitivität und Spezifität des mRDTs

Die diagnostische Leistung des mRDTs wurde im Vergleich zu PCR und ELISA für die Diagnose von Malaria bewertet. Die Multiplex- bzw. Singleplex-PCR-ELISA wurde als Referenz verwendet.

Die Sensitivität des mRDTs betrug 58,3 %. Die Spezifität betrug 100 %.

Tabelle 20: Kreuztabelle Sensitivität und Spezifität mRDT

mRDT	PCR	
	Malaria positiv	Malaria negativ
Malaria positiv	14	0
Malaria negativ	10	77

### 3.9.3.2 Kohärenz der mRDT- und PCR-Ergebnisse in Bezug auf Malaria

Um die Interrater-Reliabilität zwischen mRDT und PCR-Testergebnissen zu messen, wurde Cohen's Kappa angewandt:

$$\kappa = \frac{\rho^0 - \rho^e}{1 - \rho^e}$$

Tabelle 21: Kreuztabelle Interrater-Reliabilität mRDT und PCR

	PCR negativ	PCR positiv	Summe	%
mRDT negativ	77	10	87	86
mRDT positiv	0	14	14	14
Summe	77	24	101	
%	76	24		

$P_0$  (relative Übereinstimmung) =  $(77+14) / 101 = 0,901 = 90 \%$

$P_e$  (Wahrscheinlichkeit einer zufälligen Übereinstimmung) =  $69 \%$

$\kappa = 0,68 = 68 \%$

Zur Bewertung von Cohens Kappa und damit der Interrater-Reliabilität zwischen mRDT und PCR wurden die Bewertungsgrenzen von Landis und Koch verwendet (Landis und Koch, 1977).

Nach Landis und Koch wurde die Übereinstimmung zwischen mRDT und PCR als „erhebliche Übereinstimmung“ bewertet.

## 3.10 Dengue Diagnose

### 3.10.1 Dengue Rapid Diagnostic Test

Es wurden alle Studienteilnehmer:innen mithilfe eines dRDTs (NS1-Antigen Panbio® Dengue Early ELISA) auf Dengue getestet. Alle Testergebnisse fielen negativ aus.

### 3.10.2 Dengue Virus in der MPCR und ELISA

Zum Nachweis einer eventuell vorliegenden Dengue-Infektion wurde mithilfe der DBS eine Multiplex-PCR und ELISA durchgeführt. In drei Fällen wurden grenzwertige Ergebnisse

erzielt und die entsprechenden Proben wurden mit Single-Primer-PCR und ELISA erneut getestet. Nach der erneuten Testung waren alle Proben negativ.

### 3.11 Nachweis von Arboviren in PCR und ELISA

Alle Patient:innen wurden mittels Multiplex-PCR und ELISA auf DENV, CHIKV, WNV, RVF, ZIKV, YFV, SFV und ONNV getestet, wobei DBS auf Whatman®-Filterkarten verwendet wurden.

Die Ergebnisse zeigten für ZIKV in einem Fall, für DENV in drei Fällen, für WNV in zwei Fällen und für YFV in einem Fall grenzwertig positive Werte. Die entsprechenden Proben wurden mit den jeweiligen Single-Primern erneut getestet und waren in allen Fällen negativ.

#### 3.11.1 Nachweis von Zika-Virus im Urin

Von 75 Patient:innen wurden Urinproben entnommen und in einem Gefrierschrank vor Ort bei -20° C gelagert. Anschließend wurden die Urinproben mittels PCR im Mainzer Labor unter Verwendung einzelner Primer auf ZIKV getestet. Die Ergebnisse waren bei allen Urinproben negativ.

### 3.12 Serologie arboviraler Antikörper

Die serologische Untersuchung auf Dengue-IgM, -IgG (DENV 1-4) und Chikungunya-IgG fand am FHI in Leipzig statt. Von 85 Patient:innen wurden 11 Patient:innen (13 %) positiv auf DENV-IgM-Antikörper getestet. Zwei Studienteilnehmer:innen waren positiv für DENV-IgG-Antikörper (2,4 %) und 6 Patient:innen (7 %) waren positiv für CHIKV-IgG-Antikörper.

Nach Ausschluss der Malaria-positiven Proben waren 3 Patient:innen positiv für DENV-IgM-Antikörper (3,5 %), null positiv für DENV-IgG-Antikörper und 4 positiv für CHIKV-IgG-Antikörper (4,7 %) (siehe Abb. 22).

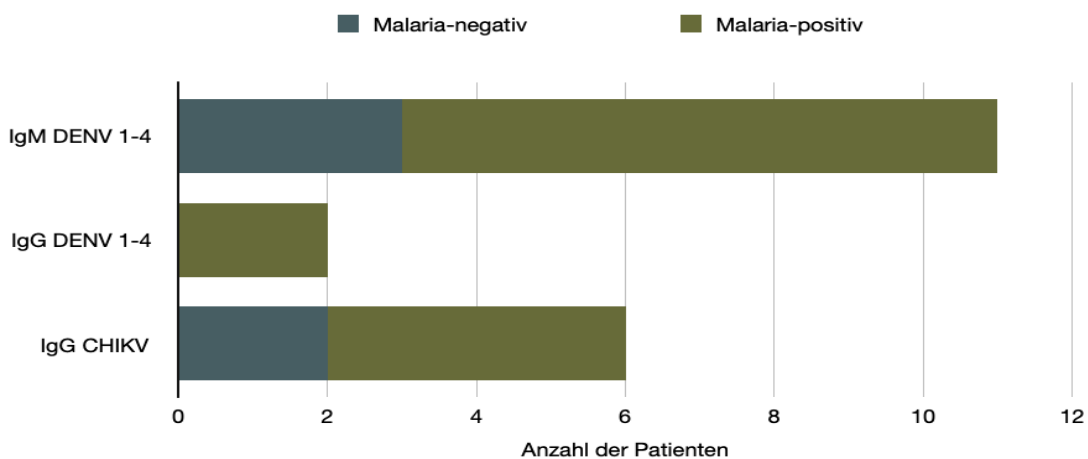


Abbildung 22 Serologie der DENV-IgM, -IgG und CHIKV-IgG Antikörper

### 3.13 Urinanalyse

#### 3.13.1 Urinteststreifen

Von 75 Patient:innen konnten Urinproben entnommen werden. In 25 Fällen wurde der Urin mit Hilfe eines Urinbeutels gesammelt. In 50 Fällen wurde Mittelstrahlurin mithilfe eines Bechers gewonnen. Die Urinproben wurden anhand ihres makroskopischen Aussehens wie Farbe und Trübung beurteilt. Für jede Urinprobe wurden semiquantitative Urinteststreifen verwendet. Die Analyse umfasste die Untersuchung auf Glukose, Bilirubin, Ketone, spezifisches Gewicht, Blut, pH-Wert, Proteine, Urobilinogen, Nitrit und Leukozyten. Der Einfachheit halber wurde auf die Darstellung aller semiquantitativen Werte verzichtet.

Tabelle 22: Ergebnisse der Urinteststreifen

<b>Urinteststreifen-Ergebnisse</b>	<b>n</b>	<b>%</b>
<u>Glukose<sup>1</sup></u>		
negativ	72/75	96,0
positiv	3/75	4,0
<u>Bilirubin<sup>2</sup></u>		
Negativ	41/75	55,0
Positiv	34/75	45,0
<u>Ketone<sup>3</sup></u>		
Negativ	46/75	61,0
Positiv	29/75	39,0
<u>Blut<sup>4</sup></u>		
Negativ	51/75	68,0
Positiv	24/75	32,0
<u>Proteine<sup>5</sup></u>		
Negativ	35/75	47,0
Positiv	39/75	53,0
<u>Urobilinogen</u>		
Normal	67/75	89,0
Erhöht	8/75	11,0
<u>Nitrit<sup>6</sup></u>		
Negativ	75/75	100,0
Positiv	0	0
<u>Leukozyten<sup>7</sup></u>		
Negativ	48/75	64,0
Positiv	27/75	36,0
Spuren	6/75	8,0
+	5/75	6,7
++	12/75	16,0
+++	4/75	5,3

<sup>1</sup> Glukose: als positiv bewertet, wenn >5 mmol/l

<sup>2</sup> Bilirubin: als positiv bewertet, wenn >17 µl

<sup>3</sup> Ketone: als positive bewertet, wenn >0,5 mmol/l

<sup>4</sup> Blut: als positiv bewertet, wenn >10 Zellen/µl

<sup>5</sup> Proteine: als positive bewertet, wenn >15 mg/dl

<sup>6</sup> Nitrit: Werte entsprechen dem Grad der Rosafärbung

<sup>7</sup> Leukozyten: Werte nach Zellen/µl: 15 Zellen/µl(trace), 70 Zellen/µl(+), 125 Zellen/µl(++), 500 Zellen/µl(+++)

Bei 88 % (66/75) aller Urinteststreifen zeigte sich mindestens ein auffälliger Teststreifenparameter. Bei 12 % der Untersuchungen waren die Urin-Tests negativ. In mehr als 50 % der Fälle waren die Urinteststreifen positiv für eine Proteinurie. Bei 45 % der Urinteststreifen zeigte sich ein erhöhter Bilirubinwert. Mehr als ein Drittel aller Urinproben (36 %, 27/75) waren positiv für LE. Alle Teststreifen waren Nitrit-negativ. Die Verteilung der auffälligen Urinteststreifen (n=66) lässt sich Abbildung 23 entnehmen. Einige Teststreifen zeigten mehr als einen positiven Parameter.

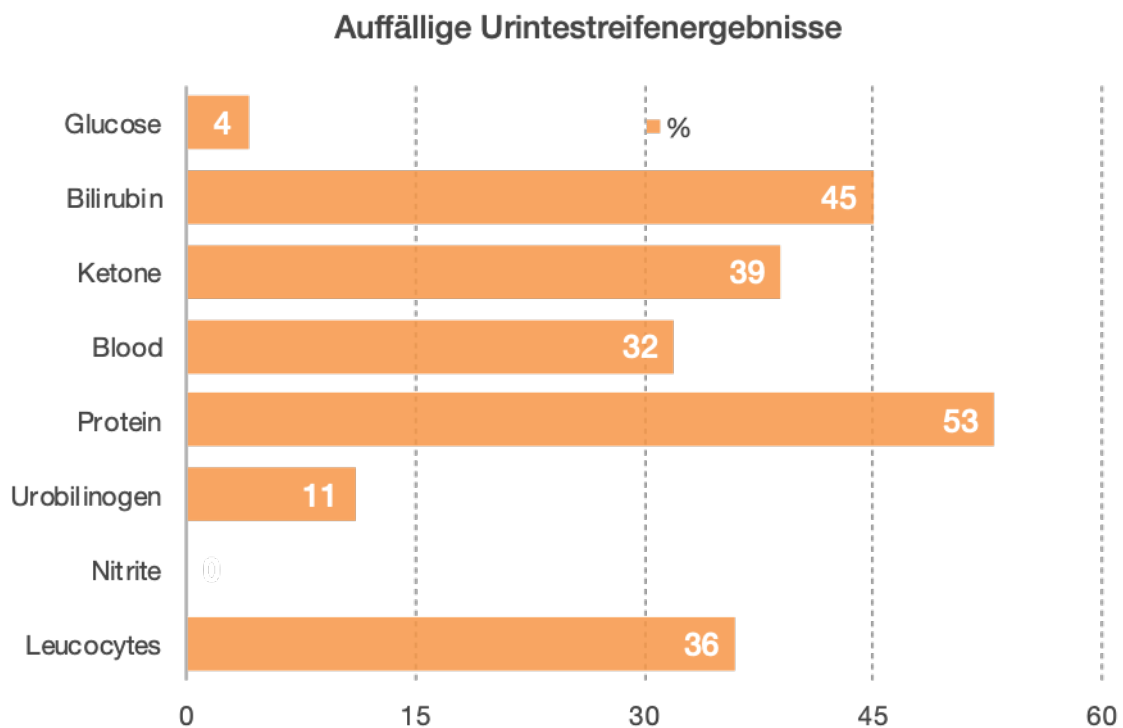


Abbildung 23 Verteilung der auffälligen Urinparameter in den verwendeten Urinteststreifen

### 3.13.2 Arbeitsdiagnose „Harnwegsinfekt“

Die Arbeitsdiagnose „Harnwegsinfekt“ wurde bei sechs Studienteilnehmer:innen gestellt (6/101). Es wurde bei fünf Patient:innen eine diagnostische Mikroskopie des Urins durchgeführt, welche in allen Fällen als „Pyurie“ gewertet wurde. Es wurde lediglich bei einem dieser Patient:innen anschließend die Diagnose „Harnwegsinfekt“ gestellt.

### 3.13.3 Therapie des Harnwegsinfekts

Alle sechs Patient:innen, bei denen eine Harnwegsinfektion diagnostiziert wurde, erhielten eine Antibiotikatherapie, z. B. mit Amoxicillin (1x), Ampicillin und Cloxacillin (1x), Ampicillin, Cloxacillin und Gentamycin (2x) und Ceftriaxon und Ampicillin (1x), Gentamycin, Cloxacillin und Cephalexin (1x). Bei 86 % der Patient:innen mit positiven Leukozyten im Urinteststreifen (44/51) wurde eine antibiotische Behandlung durchgeführt.

### 3.13.4 Protein-Kreatinin-Quotient

Dem Protein-Kreatinin-Quotienten zufolge wies mehr als ein Drittel aller Patient:innen (25/75) eine Proteinurie auf. Darüber hinaus zeigten 16 % (12/75) ein fortgeschrittenes Nierenversagen. Bei einer Studienteilnehmer:in zeigte sich durch den Protein-Kreatinin-Quotienten eine Proteinurie im nephrotischen Bereich.

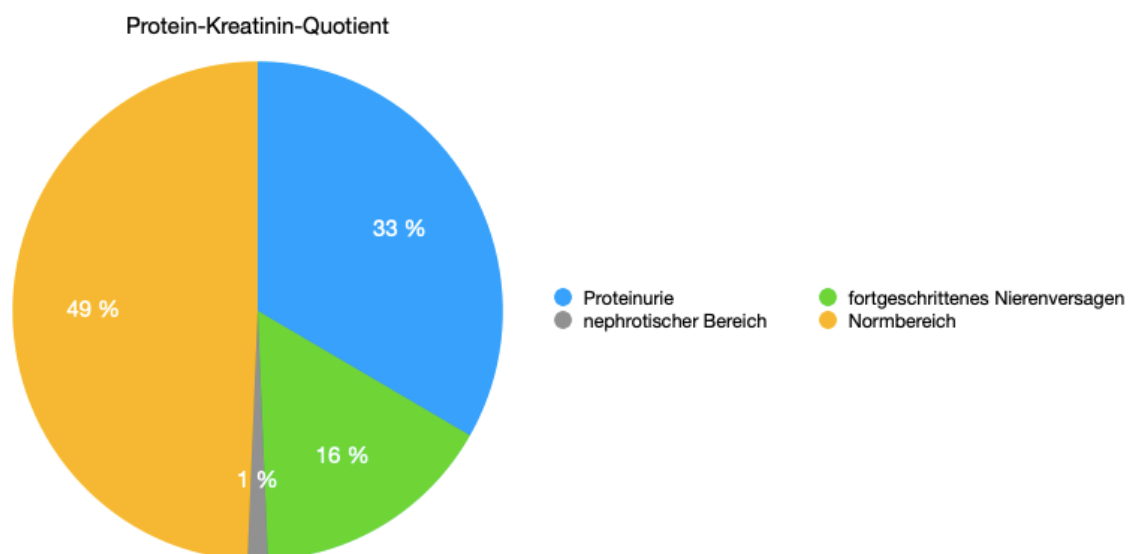


Abbildung 24 Protein-Kreatinin-Quotient der untersuchten Urinproben

### 3.13.5 Übereinstimmung der Testergebnisse im Hinblick auf Proteinurie bei Urinteststreifen und Protein-Kreatinin-Quotient im Labor

Die Testergebnisse im Hinblick auf Proteinurie wurden zwischen den beiden Testverfahren Urinteststreifen und Protein-Kreatinin-Ratio verglichen. Zum Vergleich der Interrater Reliabilität wurde Cohen's Kappa berechnet, welcher  $\kappa=0,011$  betrug. Nach den Bewertungsgrenzen von Landis und Koch (Landis, Koch 1977) ergibt sich hierbei eine Bewertung von „etwas Übereinstimmung“.

### 3.13.6 Zusammenhang zwischen Proteinurie und Malaria

In unserer Studienpopulation gab es keine statistisch signifikanten Unterschiede zwischen Malaria-positiven und -negativen Kindern im Hinblick auf Vorliegen einer Proteinurie, fortschreitendem Nierenversagen oder nephrotischem Syndrom ( $p=0,9$ ,  $p=0,8$ ,  $p=0,1$ ), wenn man den Protein-Kreatinin-Quotienten aus dem Spontanurin heranzieht. Bei Verwendung der Ergebnisse der Urinteststreifen zeigten sich ebenfalls keine statistisch signifikanten Unterschiede hinsichtlich einer Proteinurie bei Malaria-positiven und negativen Patient:innen ( $p=0,52$ ). Es wurde außerdem untersucht, ob ein Unterschied zwischen den beiden Patient:innen-Gruppen hinsichtlich einer Leukozyturie oder erhöhtem Urobilinogen auf den Urinteststreifen besteht, es zeigte sich ebenfalls keine statistische Signifikanz ( $p=0,23$ ,  $p=0,2$ ).

### 3.14 Laborwerte

#### 3.14.1 Hämoglobinwerte

Bei 81 % aller Patient:innen (82/101) wurde der Hämoglobinwert (Hb) im Blut bestimmt. Zur Definition einer vorliegenden Anämie im Kindesalter wurden die WHO-Richtwerte herangezogen (WHO Buch 2011). Demnach definiert die WHO eine Anämie im Kindesalter als einen Hb-Wert niedriger als 10 g/dl und eine schwere Anämie als einen Hb-Wert unter 5 g/dl. In unserer Studienpopulation ergab sich hieraus, dass 43 % (35/82) der Patient:innen, bei denen ein kleines Blutbild durchgeführt wurde, eine Anämie aufwiesen. Bei 11 Patient:innen (13 %) zeigte sich sogar eine schwere Anämie. Um einen statistischen Zusammenhang zwischen Malaria-positiven und -negativen Patient:innen hinsichtlich des Hb-Werts zu ermitteln, wurde der t-Test angewendet. Hier ergab sich statistisch kein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Patient:innen-Gruppen ( $p=0,129$ ) (siehe Abb. 25).

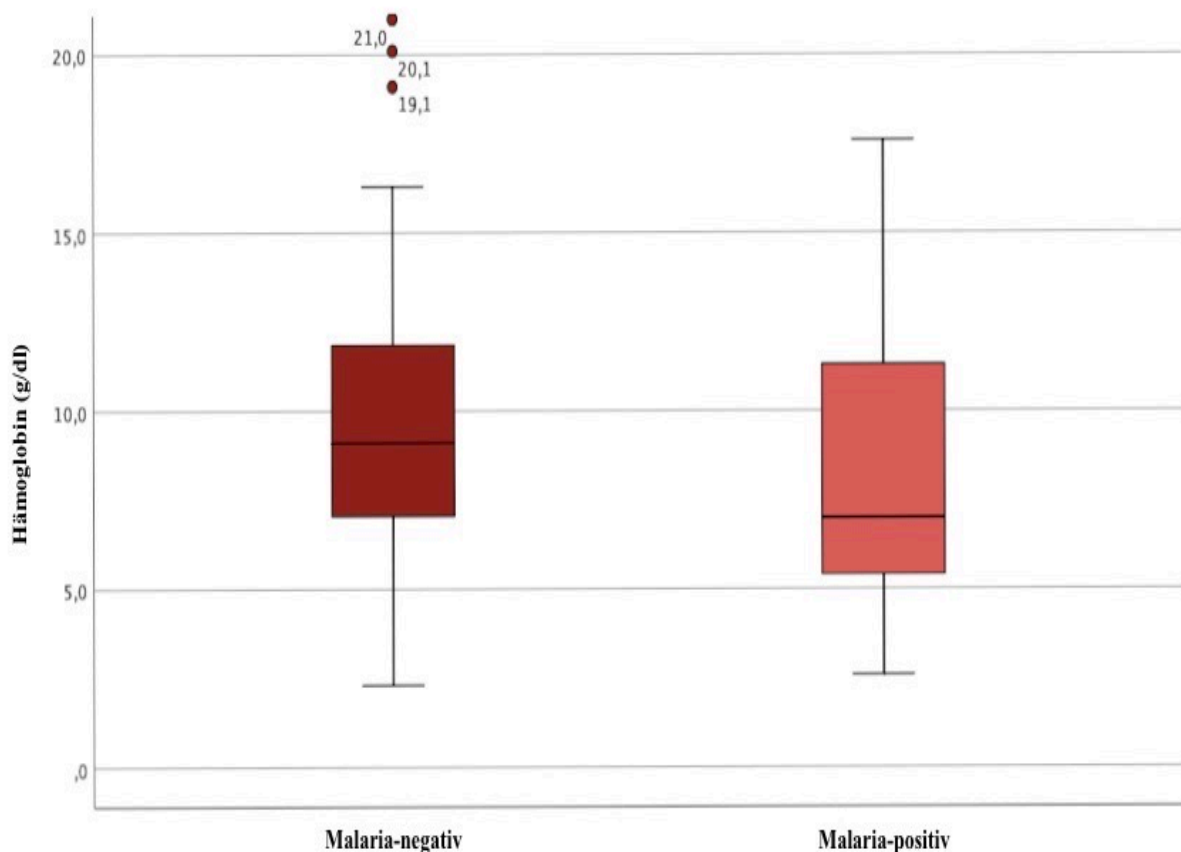


Abbildung 25 Boxplots Hämoglobinwerte bei Malaria-positiven und -negativen Patient:innen

### 3.14.2 Thrombozytenwerte

Thrombozytenwerte konnten bei insgesamt 52 Patient:innen ermittelt werden. Als Normalbereich werden 100-400 000 Thrombozyten/ $\mu\text{l}$  im Kindesalter definiert (Laborlexikon, 2016). Demnach wird eine Thrombozytenzahl von weniger als 150 000 Thrombozyten/ $\mu\text{l}$  im Kindesalter als Thrombozytopenie definiert.

Die Zahl der Thrombozyten bei Malaria-positiven und -negativen Patient:innen unserer Studienpopulation wies nach Anwendung des t-Tests signifikante Unterschiede auf ( $p < 0,001$ ). Die mittlere Thrombozytenzahl der Malaria-positiven Patient:innen betrug 123 000/ $\mu\text{l}$ , während die mittlere Thrombozytenzahl der Malaria-negativen Patient:innen 350 000/ $\mu\text{l}$  betrug (siehe Abb. 26).

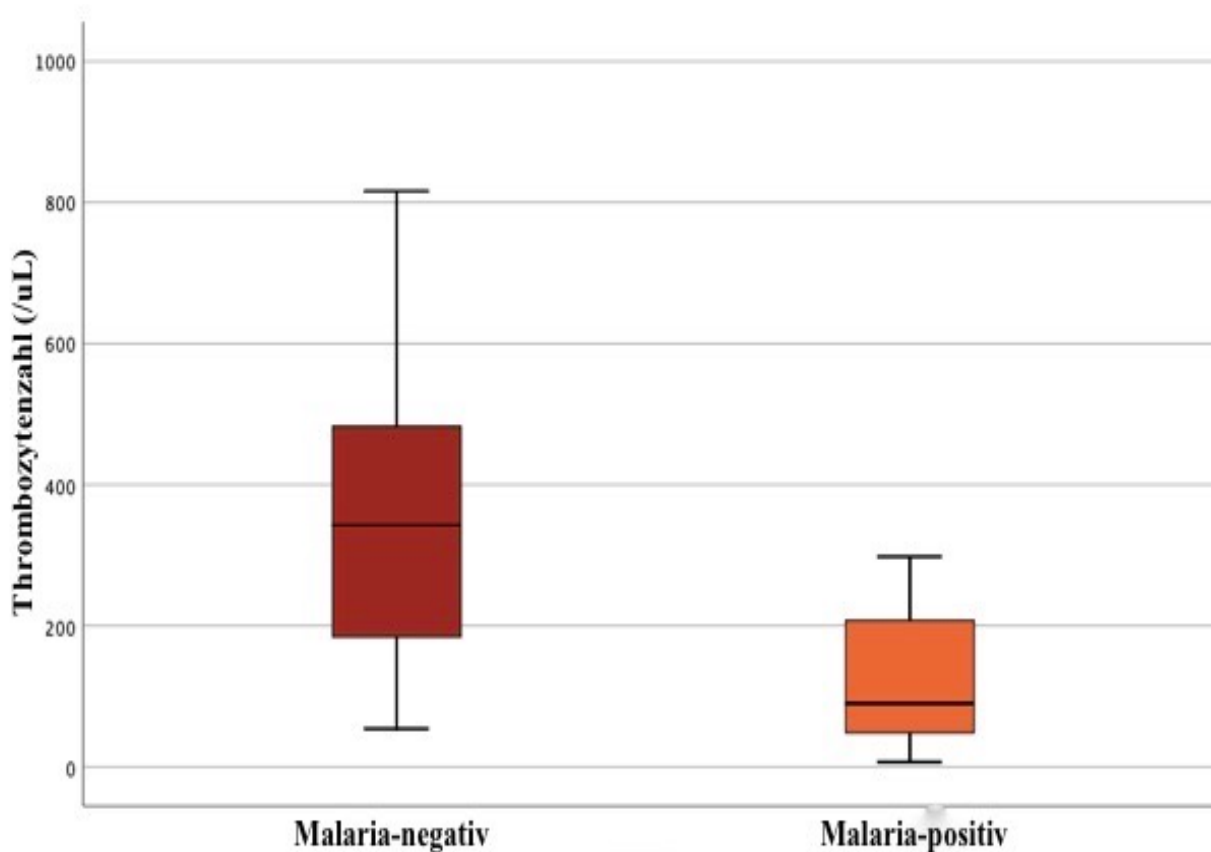


Abbildung 26 Boxplots Thrombozytenwerte bei Malaria-positiven und -negativen Patient:innen

### 3.14.3 Leukozytenwerte

Bei 52 Studienteilnehmer:innen wurde die Leukozytenanzahl im Blut ermittelt. Referenzwerte für eine normale Leukozytenzahl im Kindesalter werden zwischen 5 500-18 000 Leukozyten/ $\mu\text{l}$  angegeben (Laborlexikon, 2016). Der Mittelwert der Leukozytenzahl bei den Malaria-positiven Kindern lag bei 10 500 Leukozyten/ $\mu\text{l}$ . Bei den Malaria-negativen Kindern betrug der Mittelwert 15 800 Leukozyten/ $\mu\text{l}$ . Nach Anwendung des t-Tests zeigte sich hier zwischen den beiden Gruppen keine statistische Signifikanz ( $p=0,139$ ) (siehe Abb. 27).

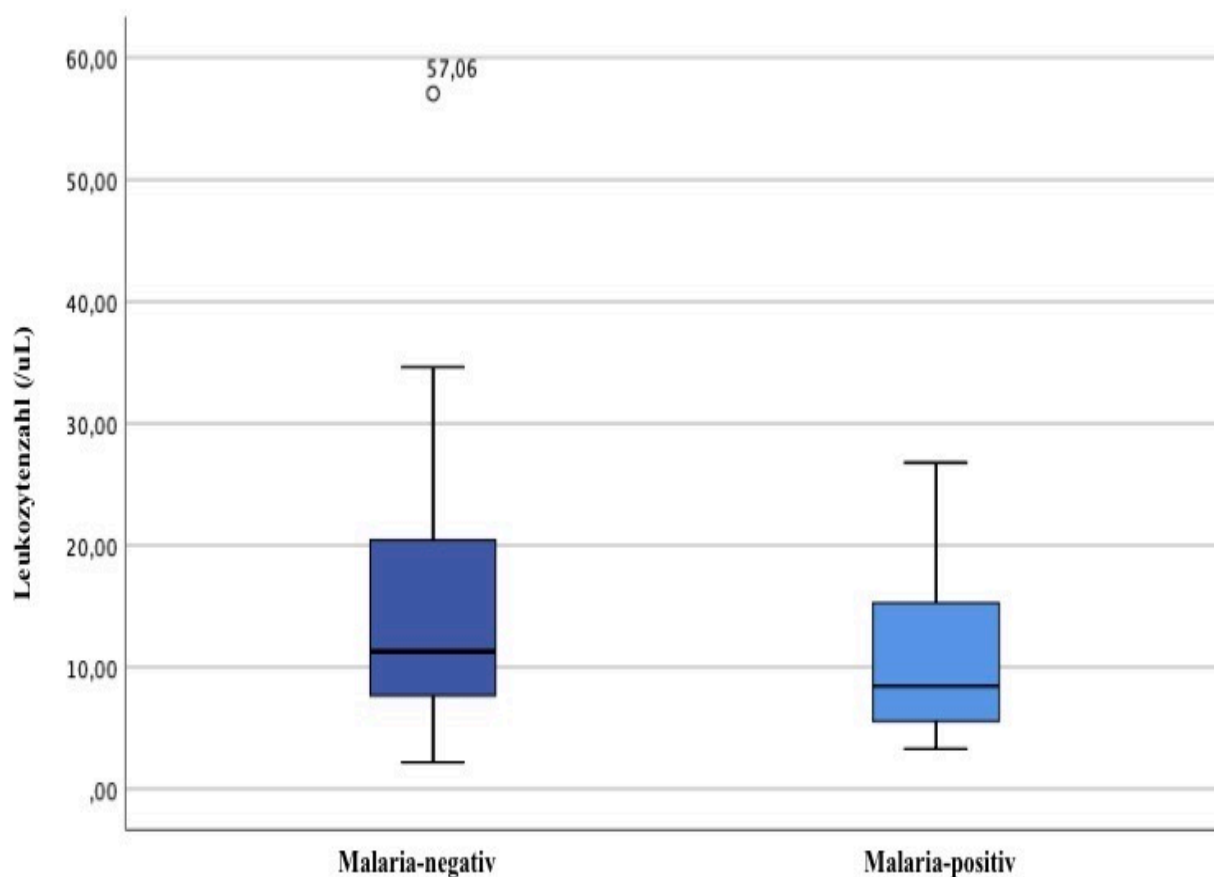


Abbildung 27 Boxplots Leukozytenzahl bei Malaria-positiven und -negativen Patient:innen

## 4 Diskussion

### 4.1 Kritische Diskussion des Studiendesigns und der angewandten Methoden

Die vorliegenden Ergebnisse wurden im Rahmen einer explorativen klinischen Querschnittstudie erhoben. Die Studienteilnehmer:innen wurden in mehrere Gruppen aufgeteilt (z.B. Malaria-positiv und Malaria-negativ) und hinsichtlich klinischer Merkmale (z.B. Blässe, Schmerzen, Hepato-, und Splenomegalie) und laborchemischer Marker (z.B. Proteinurie, Hb-Wert, Thrombozytenanzahl im Blut etc.) untersucht.

Bei repräsentativer Zufallsauswahl der Studienpopulation eignen sich Querschnittstudien dazu, von der Studienpopulation auf eine Zielpopulation zu schließen und bestimmte Risikofaktoren zu ermitteln. Vorteile des Studiendesigns liegen in der Kostengünstigkeit und der kurzen Dauer der Studie. Innerhalb von drei Monaten konnte somit eine Fallzahl von  $n=101$  erreicht werden. Zu den Limitationen des Studiendesigns zählt einerseits, dass Querschnittstudien nur bedingt zum Kausalitätsnachweis von Risikofaktoren geeignet sind und eher ein Instrument zur deskriptiven Epidemiologie darstellen (Ehrhardt et al., 2006, Kubo, 2006). Das geeignetere Studiendesign für die gleichzeitige Untersuchung mehrerer Risikofaktoren bzw. klinischer und laborchemischer Merkmale für eine Krankheit ist das Studiendesign einer Fall-Kontroll-Studie. Hierbei wird die Exposition im Nachhinein ermittelt (Kreienbrock L., 2000). Außerdem ist die Eignung des vorliegenden Studiendesigns im Hinblick auf die Dauer der untersuchten Erkrankungen kritisch zu hinterfragen, da Querschnittstudien eher für die Untersuchung von Erkrankungen mit langer Krankheitsdauer geeignet sind. Dies könnte in der vorliegenden Arbeit z.B. zur Überschätzung der tatsächlichen Prävalenz von Malaria und zur Unterschätzung der tatsächlich vorliegenden Prävalenzen von arboviralen Erkrankungen und Harnwegsinfekten im Kindesalter geführt haben. Eine weitere Limitation des gewählten Studiendesigns liegt in der großen Anfälligkeit für Störgrößen (bias). So könnte es beispielsweise bei der Rekrutierung der Studienteilnehmer:innen zu einer nicht-beabsichtigten Rekrutierung von älteren Kindern (>12 Jahre) durch fehlerhafte anamnestische Angaben oder fehlende Ausweisdokumente gekommen sein (Informations-bias). Als weitere wichtige Störgröße ist die sprachliche Barriere zu nennen, da wir durch nur rudimentäre Suaheli-Kenntnisse auf teils ebenfalls nur geringe Englisch-Kenntnisse der Begleitpersonen auf Übersetzungen durch das Klinikpersonal angewiesen waren. Hierbei ist denkbar, dass ggf. wichtige Informationen verloren gegangen sind. Andererseits könnte im Hinblick auf den Zeitpunkt der Rekrutierung (z.B. Schulzeiten, Besuche bei Verwandten etc.) eine Auswahlverzerrung aufgetreten sein (Selektions-bias). Als Faktoren für Confounding-bias könnten Faktoren wie vorstationäre Selbstmedikation und unterschiedliche Zugänge zum Gesundheitssystem genannt werden. Ein weiterer wichtiger

limitierender Faktor der vorliegenden Studie ist die geringe Studiendauer (Januar bis April 2018), weshalb lediglich von einer Momentaufnahme gesprochen werden kann und dies die Ergebnisse sehr anfällig für Störgrößen macht. Außerdem können aufgrund der geringen Fallzahl (n=101) nur eingeschränkt Aussagen über Assoziationen und statistischen Signifikanzen getroffen werden.

Betrachtet man die Verteilung der Studienpopulation in Bezug auf das Geschlecht, so stellt man fest, dass die Geschlechter nicht gleichmäßig verteilt sind.

#### 4.2 Überdiagnose von Malaria bei fiebernden Kindern

Bei etwa einem Drittel aller Patient:innen (37 %) wurde Malaria diagnostiziert, obwohl nur 40 % dieser Patient:innen später durch die PCR positiv auf Malaria getestet wurden. Mehr als die Hälfte aller Malaria-Diagnosen waren Fehldiagnosen (59 %, 22/37). Diese Ergebnisse deuten darauf hin, dass Malaria immer noch überdiagnostiziert wird. Unsere Ergebnisse korrelieren diesbezüglich mit mehreren anderen Studien (Reyburn et al., 2004, Orish et al., 2016). Es hat den Anschein, dass die Einführung von mRDTs die Überdiagnose von Malaria nicht signifikant reduziert, was auch von anderen Studien bestätigt wird (Hamer et al., 2007, Joshi et al., 2008, Chandler et al., 2008). Chandler et al. kamen zu dem Schluss, dass die Gründe für die Überdiagnose von Malaria trotz negativer Testergebnisse vielschichtig sind und beispielsweise in den wahrgenommenen Patient:innenpräferenzen, dem Gruppendruck, dem starken öffentlichen Krankheitsfokus und der Schulung liegen (Chandler et al., 2008). Es konnte bestätigt werden, dass trotz regelmäßiger Durchführung von mRDTs, negative Testergebnisse nicht unbedingt zu einem Ausschluss der Malariadiagnose führen. Außerdem wurde ein Mangel an Kommunikation zwischen Labor- und Stationspersonal festgestellt und es kann ein mangelndes Vertrauen in den mRDT vermutet werden. Die Ergebnisse dieser Studie machen deutlich, dass Maßnahmen zur Verbesserung der klinischen Entscheidungsfindung auf der Grundlage der evidenzbasierten Medizin ergriffen werden müssen.

#### 4.3 Übermäßiger Gebrauch von Malariamedikamenten

Nur die Hälfte der Patient:innen, die Malariamedikamente erhielten, waren tatsächlich PCR-positiv (52 %). Die Ergebnisse dieser Studie deuten darauf hin, dass Malaria übertherapiert wird und Malariamittel übermäßig eingesetzt werden. Andere Studien zeigen, dass bis zu 72 % der Kliniker:innen Malariamittel für mRDT-negative Patient:innen verschreiben (Salomao et al., 2015). Diese klinische Praxis steht im Widerspruch zu den WHO-Leitlinien, die besagen,

dass Malariamittel nur verschrieben werden sollten, wenn der parasitologische Test, sofern vorhanden, positiv ist (WHO, 2015). Der übermäßige Einsatz von Malariamitteln kann weitreichende Folgen haben. Darunter ist die Verschwendung von Arzneimitteln, die falsche Behandlung von Fiebererkrankungen, die nicht auf Malaria zurückzuführen sind, wirtschaftliche Verluste und eine mögliche Zunahme der Malariaresistenzen zu nennen (Mbonye et al., 2015, Reyburn et al., 2004, Akinyode et al., 2018). Diese Ergebnisse unterstreichen, wie wichtig es ist, die unangemessene Verschreibung von Malariamitteln zu reduzieren, um eine wirksame Behandlung von Patient:innen mit Malaria zu gewährleisten und eine unangemessene Therapie für fiebrige Patient:innen, die nicht unter Malaria leiden, zu verhindern.

#### 4.4 Geringe Sensitivität des mRDT

In dieser Studie lag die Sensitivität des mRDT bei 58,3 % und die Spezifität bei 100 %. Die berechnete Interrater-Reliabilität wurde als „erhebliche Übereinstimmung“ ( $\kappa = 0,68$ ) eingestuft, so dass bestätigt werden konnte, dass mRDTs ein nützliches Diagnoseinstrument für Malaria in schwach ausgestatteten klinischen Umgebungen sind. Allerdings ist die diagnostische Sensitivität in dieser Studie niedrig. In größeren Studien reichte die Sensitivität von mRDTs von 77,2 % bis 97 % (Singh et al., 2010, Chinkhumba et al., 2010). Eine systematische Überprüfung aus dem Jahr 2011 ergab, dass mRDTs eine mittlere Sensitivität und Spezifität von 95 % bzw. 95,2 % aufweisen (Abba et al., 2011). In einer Studie von Koliopoulos et al. wurden Sensitivitätswerte des mRDTs verschiedener Hersteller und an verschiedenen Teststandorten Tansanias zwischen 74 % und 97 % angegeben (Koliopoulos et al., 2024).

Es wurde bereits in anderen Arbeiten beschrieben, dass die Leistung von mRDTs aufgrund von Temperatur und Transport abnimmt (Chiodini et al., 2007), was eine mögliche Erklärung für die geringe Sensitivität in dieser Studie sein könnte.

Eine andere mögliche Erklärung ist, dass die in dieser Studie verwendeten mRDTs nicht in der Lage waren, Infektionen mit niedriger Parasitämie zu erkennen. Die hohe Sensitivität der PCR ermöglicht den Nachweis parasitärer DNA bei einer Parasitendichte von ca. 2,5-20 Parasiten/ $\mu\text{l}$  (Snounou et al., 1993). Somit ist es mithilfe der PCR möglich, submikroskopische Infektionen zu diagnostizieren, welche weder durch mikroskopische Beurteilung des dicken Tropfens (Nachweisgrenze 10-20 Parasiten/ $\mu\text{l}$  Blut), noch durch die Anwendung des mRDT möglich sind (Clendennen et al., 1995). Die Nachweisgrenze herkömmlicher mRDTs ist mit der

Blutausstrichmikroskopie vergleichbar (Koliopoulos et al., 2024).

Neuere Studienergebnisse hinsichtlich der Sensitivität der mRDTs decken sich mit unseren Ergebnissen. Eine Metaanalyse aus dem Jahr 2022 kam zu dem Schluss, dass herkömmliche mRDTs nur eine mittlere Sensitivität von 42 % aufweisen (Yimam et al., 2022). In einer Studie von Kaaya et al. wird ebenfalls von einer vergleichsweise niedrigen Sensitivität des mRDT (zwischen 75 % und 85 %) berichtet, wobei die falsch-negativen Proben mit einer niedrigen Parasitämie in Zusammenhang gebracht wurden (Kaaya et al., 2022). Die geringe Sensitivität des mRDT in unserer Studie ist somit möglicherweise auf eine submikroskopische Parasitämie zurückzuführen, die mit dem mRDT nicht nachgewiesen werden kann (Watson et al., 2019, Unwin et al., 2020, Lo et al., 2015). Die submikroskopische Infektion ist das Ergebnis einer immunologischen Hemmung der Parasitenvermehrung (Yazdani et al., 2006, Cabrera et al., 1977, Wilson and Phillips, 1976). Infolge der Exposition gegenüber den Malariaparasiten über einen langen Zeitraum hinweg verfügen Erwachsene wahrscheinlich über eine schützende Immunität gegen schwere Erkrankungen (Griffin et al., 2015, van den Hoogen et al., 2018). Beobachtungen aus Studien in der Subsahara legen nahe, dass eine häufigere Malariaexposition bei Kindern im Schulalter zu einer erhöhten malariaspezifischen Immunität und einer asymptomatischen Parasitenpersistenz geführt haben könnte (Mensah et al., 2021, Worku et al., 2014). Andere Studienergebnisse vermuten, dass der Nachweis einer niedrigen Parasitämie möglicherweise klinisch irrelevant ist und die betroffenen Patient:innen nicht von einer Malariatherapie profitieren (Hanscheid and Grobusch, 2002, Hartley et al., 2020). Weitere mögliche Gründe für falsch-positive mRDT-Ergebnisse sind Kreuzreaktivität (z.B. *Salmonella typhi*), Gametozytämie und ein anhaltendes positives Testergebnis nach einer Malariabehandlung (Dalrymple et al., 2018, Koliopoulos et al., 2024).

Der derzeit sensitivste mRDT weist das histidinreiche Protein 2 (HRP2) -Antigen nach, das spezifisch für *Plasmodium falciparum* ist, die *Plasmodium*-Spezies, die für über 95 % aller Malaria-Infektionen in der Subsahara verantwortlich ist (WHO, 2019b). Im Jahr 2017 wurde eine verbesserte Version des standardmäßigen HRP2-basierten mRDT, das ultrasensitive UsmRDT-Kit eingeführt. Dieses hat eine analytische Nachweisgrenze von 80 pg/ml HRP2-Antigen und wurde 2017 mit dem Hauptziel eingeführt, den schnellen Nachweis von asymptomatischen Malariaparasitenträger:innen mit geringer Parasitämie zu verbessern (Das et al., 2018). Bei fiebernden Kindern unter 5 Jahren hat der UsmRDT Berichten zufolge eine etwas höhere Sensitivität als der Standard-mRDT (Hofmann et al., 2019). Es gibt allerdings auch gegensätzliche Berichte, in denen kein Unterschied in der Leistungsfähigkeit des UsmRDT festgestellt wurde (Unwin et al., 2020).

Ein weiterer diskutierter Grund für falsch-negative mRDTs sind Parasitenmutationen, welche

das HRP2-Antigen nicht mehr exprimieren können und demnach durch mRDTs, die auf HRP-2 basieren, nicht nachweisbar sind. Die WHO hat empfohlen, dass Länder mit Berichten über Pfhpr2/3-Deletionen und ihre Nachbarländer repräsentative Basiserhebungen unter Malariaverdachtsfällen durchführen sollten. Damit soll festgestellt werden, ob die Prävalenz von Pfhpr2/3-Deletionen, die zu falsch-negativen mRDT-Ergebnissen führen, einen Schwellenwert erreicht hat, der eine Änderung des RDT erfordert (>5% Pfhpr2-Deletionen, die zu falsch-negativen RDT-Ergebnissen führen) (WHO, 2022c).

## 4.5 Prävalenz von arboviralen Erkrankungen

### 4.5.1 Nachweis mittels Dengue Virus-Schnelltest

Mit dem NS1-Antigen Panbio® Dengue Early ELISA Test konnten keine Dengue-Virusinfektionen nachgewiesen werden. Die aktuelle Studienlage zeigt unterschiedliche Ergebnisse im Hinblick auf Sensitivität und Spezifität von Dengue-Schnelltests: 79,1 %-95 % bzw. 75,8 %-95 % (Kyaw et al., 2019, Pal et al., 2014).

Ein Grund für potenziell falsch-negative Testergebnisse könnte der Zeitpunkt der Probenahme sein. Frühere Studien haben gezeigt, dass Dengue-Schnelltests eine höhere Sensitivität aufweisen, wenn Patient:innen innerhalb von drei Tagen nach Auftreten der Symptome getestet werden (Chuansumrit et al., 2008, Hang et al., 2009, Osorio et al., 2010, Liu et al., 2018). In unserer Studie betrug der durchschnittliche Testzeitpunkt ab Auftreten der Symptome jedoch 6,3 Tage, was zu einer geringeren Sensitivität der Testkits geführt haben könnte.

Darüber hinaus könnten das geringe saisonale Auftreten oder die Höhenlage des Studienorts für das Fehlen positiver DENV-Schnelltestergebnisse verantwortlich sein.

### 4.5.2 Nachweis von Arboviren mittels Multiplex-PCR

Mittels DBS auf Filterkarten und anschließender Multiplex-PCR konnten keine Arboviren in unserer Studie nachgewiesen werden. Es könnte sein, dass unsere Ergebnisse auf methodische Fehler zurückzuführen sind, beispielsweise könnten die verwendeten Whatman®-Filterkarten kein geeignetes Transportmedium für Arboviren sein. Beim Malaria-Nachweis zeigte der Transport über Whatman®-Filterkarten zuverlässige Ergebnisse. RNA-Erreger sind jedoch weniger stabil als DNA-Viren und ein kontinuierlicher RNA-Abbau auf Filterkarten wurde bereits in anderen Arbeiten beschrieben (Fiscus et al., 1998, Ghosh and Hazarika, 2018). Eine mögliche Lösung für dieses Problem wäre die Verwendung einer Reversen Transkriptase-Reaktion vor der Lagerung von DBS auf Filterkarten, wie von Till Eckert in seiner Dissertation vorgeschlagen (Eckert, 2019). Dies setzt jedoch gewisse Laborausstattungen voraus, welche in den beschriebenen klinischen Settings nicht immer gegeben sind. Unsere Ergebnisse könnten

andererseits auch auf die Lagerungsbedingungen zurückzuführen sein. Die viermonatige Lagerung könnte für den Verlust von RNA in unserer Studie verantwortlich sein und zu falsch-negativen Ergebnissen geführt haben. Andere Autor:innen konnten RNA aus Whatman®-Filterkarten nachweisen, die 28 Tage lang gelagert worden waren, obwohl es zu einem erheblichen RNA-Verlust kam (Dauner et al., 2015). Unsere Lagerzeit war viermal länger. Außerdem wurden die Filterkarten in unserer Studie zwar licht- und feuchtigkeitsgeschützt gelagert, jedoch nicht bei -20° C, wie es der Hersteller empfiehlt.

Außerdem könnte, wie bereits erwähnt, die Höhenlage des Untersuchungsgebiets ein zusätzlicher Faktor für das Fehlen von Arboviren sein (Watts et al., 2017, Viglietta et al., 2021). Filterkarten sind eine kostengünstige und einfache Lösung für den Transport von Blutproben. Daher wären weitere Studien zum RNA-Transport mit Filterkarten wünschenswert.

#### 4.5.3 Nachweis von Zika-Virus im Urin

Es konnten keine Zika-Viren im Urin nachgewiesen werden. Die WHO empfiehlt, die für den ZIKV-Nachweis verwendeten Proben bei -70° C einzufrieren, wenn die Lagerung länger als sieben Tage dauert (WHO, 2016). Unsere Urinproben wurden in einem örtlichen Krankenhaus drei Monate lang bei -20° C gelagert, was eine Erklärung für die negativen ZIKV-Ergebnisse sein könnte. Jedoch zeigte sich auch in den entsprechenden Seren kein Nachweis von Zika-Viren in der PCR, was eine entsprechende Prävalenz unwahrscheinlich macht.

#### 4.5.4 Nachweis von arboviralen Antikörpern in der Serologie

Kreuzreaktionen zwischen Malaria und arboviralen Antikörpern sind bereits beschrieben worden. Eine Malariainfektion verursacht eine polyklonale B-Zell-Aktivierung und die Synthese heterophiler Antikörper (Greenwood, 1974, Houba et al., 1974). Diese Antikörper können auf andere Erreger und Wirtsantigene reagieren, was zu einer Kreuzreaktivität zwischen Malariaparasiten und anderen *Flaviviridae* führt (Ferreira et al., 1988, Bygbjerg et al., 2018). Studien zeigen ein hohes Maß (10-70 %) an Kreuzreaktivität von Anti-DENV-IgM in Malaria-positiven Seren (Bygbjerg et al., 2018, Hunsperger et al., 2009). Hunsperger et al. fanden heraus, dass Patient:innen mit Malaria oder einer zurückliegenden Dengue-Infektion in 5-10 % der Fälle falsch-positive Ergebnisse für DENV-IgM aufwiesen (Hunsperger et al., 2009). Anderen Autor:innen zufolge ist der Nachweis von DENV-IgG aufgrund von Kreuzreaktionen mit anderen Flaviviren nicht spezifisch für eine Dengue-Virusinfektion. Anti-DENV-IgM-Antikörper sind spezifischer für eine Dengue-Infektion als Anti-DENV-IgG-Antikörper, aber

auch hier wurden Restkreuzreaktivitäten beschrieben (Shu and Huang, 2004).

In unserer Studie waren 11 Serumproben positiv für DENV-IgM, von denen 8 Patient:innen auch Malaria-positiv waren. Das Verhältnis von gleichzeitiger Malariainfektion (PCR bestätigt) und positiven Antikörpern für DENV-IgM, DENV-IgG und CHIKV-IgG betrug jeweils 72 %, 100 % und 33 %. Unsere Ergebnisse deuten auf ein hohes Maß an Kreuzreaktivität von einer vorliegenden Malariainfektion und Anti-DENV- und Anti-CHIKV-Antikörpern hin. Eine weitere Möglichkeit könnten Koinfektionen sein, aber sowohl das Fehlen positiver Antigen-Schnelltests (DENV), als auch das Fehlen eines positiven Virusnachweises mittels PCR deuten darauf hin, dass falsch-positive Ergebnisse von arboviralen Antikörpern in Seren von Kindern mit Malariainfektion wahrscheinlich sind.

Nach Ausschluss der Malaria-positiven Proben waren 3 Patient:innen positiv für DENV-IgM-Antikörper (3,5 %), keine Patient:innen positiv für DENV-IgG-Antikörper und 4 Patient:innen positiv für CHIKV-IgG-Antikörper (4,7 %).

Während die virale RNA 0 bis 7 Tage nach Auftreten der Symptome nachgewiesen werden kann, sind IgM-Antikörper 3 bis 5 oder mehr Tage nach Auftreten der Symptome positiv in der Serologie. Einige Autoren beschreiben sogar den generell möglichen Nachweis von IgM-Antikörpern bis zu 3 Monate nach der Infektion (Charrel, 2016). Es ist also möglich, dass Dengue-IgM noch nachweisbar war, die virale RNA aber nicht mehr mittels PCR nachgewiesen werden konnte (Kajeguka et al., 2016, Peeling et al., 2010).

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass unsere Ergebnisse als Hinweis für das Vorkommen von Arboviren in der Region Mwanza angesehen werden können. Andere Studien zeigen ähnliche Ergebnisse, obwohl die Prävalenz von CHIKV in unserer Studie gering war (Weaver and Lecuit, 2015, Kajeguka et al., 2016, Simo et al., 2019).

Insgesamt deutet das Fehlen von PCR-bestätigten Fällen in dieser Studie darauf hin, dass Dengue- und Chikungunya-Infektionen eher importiert als lokal übertragen wurden, obwohl anhand der Anamnese kein Zusammenhang zwischen positivem Dengue-IgM oder Chikungunya-IgG und berichteten Reisen in der nahen Vergangenheit festgestellt werden konnte. Andere Autor:innen beschreiben ähnliche Ergebnisse (Kajeguka et al., 2016).

Eine weitere Erklärung für falsch-positive Antikörper sind Kreuzreaktionen nach Impfungen. Kreuzreaktionen können nach Impfungen gegen andere Viren der gleichen Familie, wie YFV,

Japanisches Enzephalitis-Virus, oder nach einer Sekundärinfektion mit einem anderen Virus der gleichen Familie auftreten (Cleton et al., 2015). Allerdings wurden in der Studienpopulation keine Impfungen gegen YFV oder Japanische Enzephalitis erfasst. Sekundärinfektionen mit *Flaviviridae* oder *Togaviridae* sind denkbar.

Abschließend können wir feststellen, dass Arboviren wie das Dengue-Virus und das Chikungunya-Virus in Afrika südlich der Sahara wahrscheinlich prävalent sind und dass Kreuzreaktionen in der serologischen Antikörperdiagnostik häufig sind. Aus diesem Grund können in der vorliegenden Studie nur mit eingeschränkter Aussagekraft Aussagen über die Prävalenz von Arboviren getroffen werden.

Daher sind weitere Forschungsarbeiten zum Nachweis von Arboviren und epidemiologische Studien mit größeren Fallzahlen erforderlich, um Nicht-Malaria-Erkrankungen zu erkennen und Ausbrüche zu verhindern. Darüber hinaus zeigt der hohe Grad an Kreuzreaktionen in Seren von Malaria-positiven Patient:innen die begrenzte Aussagekraft der arboviralen Serologie in Malaria-endemischen Gebieten. Diese Ergebnisse unterstreichen den Bedarf an kostengünstigen Antigentests und der Durchführung von PCR-Tests vor Ort.

## 4.6 Harnwegsinfektionen bei Kindern unter Malaria-Verdacht

### 4.6.1 Diagnose von Harnwegsinfektionen

In unserer Studie wurde bei 6 Kindern im STRRH eine Harnwegsinfektion diagnostiziert. Alle Patient:innen erhielten anschließend eine antibiotische Behandlung. Es wurde bei 5 Patient:innen eine diagnostische Mikroskopie des Urins durchgeführt, welche in allen Fällen als „Pyurie“ gewertet wurde. Es wurde lediglich bei einem dieser Patient:innen die Diagnose „Harnwegsinfekt“ gestellt.

Im STRRH wurden keine Blasenkatheterisierungen oder suprapubischen Blasenpunktionen durchgeführt, weshalb eine sterile Uringewinnung nicht möglich war.

Sowohl im STRRH als auch in unserer Studie wurden aufgrund mangelnder Ressourcen und Verfügbarkeit keine Urinkulturen zur Diagnose von Harnwegsinfektionen angefertigt, welche der Goldstandard für die Diagnostik von Harnwegsinfektionen darstellen. Daher gibt es keine eindeutigen Hinweise auf eine Bakteriurie und es können keine eindeutigen Schlussfolgerungen über die Prävalenz von Harnwegsinfektionen in unserer Studiengruppe gezogen werden. Es gibt jedoch im STRRH kein klares diagnostisches Muster für die Diagnose von

Harnwegsinfektionen bei Kindern. Nur bei 5/101 Kindern mit Fieber wurde ein diagnostischer Test (Mikroskopie des Urins) durchgeführt, und obwohl alle getesteten Proben positiv auf Leukozyten waren, wurde nur bei einer Patient:in eine Harnwegsinfektion diagnostiziert. Urinteststreifen wurden vom klinischen Personal als diagnostisches Instrument nicht verwendet. Angesichts der Gesamtprävalenz von Harnwegsinfektionen bei Kindern in afrikanischen Ländern, die zwischen 5 % und 19,3 % liegt (Muvunyi et al., 2011, Sibal et al., 1996, Rabasa and Gofama, 2009, Masika et al., 2017, D'Acromont et al., 2014), kann davon ausgegangen werden, dass Harnwegsinfektionen bei fiebernden Kindern unterdiagnostiziert sind. Nach den NICE-Leitlinien (National Institute for Health and Clinical Excellence) sollte bei allen Kindern mit Fieber  $>38^{\circ}$  C und Symptomen, die auf eine Harnwegsinfektion hindeuten, wie Fieber, Erbrechen, Lethargie und spezifische Symptome wie Dysurie, Kontinenzveränderungen usw., eine Harnwegsinfektion in Betracht gezogen werden (Mori et al., 2007). Eine Studie von Okarska-Napierala et al. empfiehlt, dass Kinder mit typischen HWI-Symptomen oder unerklärlichem Fieber auf HWI getestet werden sollten (Okarska-Napierala et al., 2017). Da Fieber eines der Einschlusskriterien der Studie darstellte, war es gerechtfertigt, bei allen Kindern, die an unserer Studie teilnahmen, Urintests durchzuführen.

Es wurden Urinstreifentests als Point-of-Care-Diagnoseinstrument zur Erkennung von Harnwegsinfektionen bei Kindern mit Fieber verwendet. Diese lassen sich unkompliziert lagern und anwenden und sind darüber hinaus auch noch kostengünstig. Mehr als ein Drittel der Urinteststreifenergebnisse waren positiv für LE im Urin.

Leukozyten im Urin können jedoch auch bei anderen Erkrankungen wie Appendizitis, Gastroenteritis, Kawasaki-Syndrom und Hyperkalziurie auftreten (Schmidt and Copp, 2015, Korbel et al., 2017). Andere Autor:innen bewerteten, dass Urinschnelltests, die entweder für LE oder Nitrit im Urin positiv sind, eine Sensitivität von 88 % und eine Spezifität von 79 % für Harnwegsinfektionen aufwiesen (Williams et al., 2010).

Daher gibt es Hinweise, dass die Prävalenz von Harnwegsinfektionen in unserer Studiengruppe höher ist, als tatsächlich diagnostiziert.

#### 4.6.2 Abwesenheit von Nitrit-positiven Urinteststreifen

In einem Review von Mori et al. wird ein Test auf Harnwegsinfektionen mit dem Urinteststreifen bei Kindern über zwei Jahren empfohlen, nicht aber bei jüngeren Kindern. Darin heißt es, dass beide positiven Marker für LE und Nitrit sehr sensitiv für Harnwegsinfektionen sind, allerdings nicht in allen Fällen, da einige Bakterien kein Nitrit produzieren. Je länger der Urin in der Blase inkubiert wird, desto wahrscheinlicher ist es, dass

Nitrit positiv im Teststreifen auffällt. Folglich ist es weniger wahrscheinlich, dass Nitrit bei jüngeren Säuglingen positiv ist, da sie eine kleinere Blase haben und eine häufigere Miktionsfrequenz aufweisen (Mori et al., 2010). Laut Okarska-Napierala et al. stimmen die meisten Leitlinien darin überein, dass bei Säuglingen, die häufig urinieren, ein Urinteststreifen als diagnostisches Mittel nicht empfohlen wird (Okarska-Napierala et al., 2017). Dies könnte eine mögliche Erklärung für das Fehlen von Nitrit-positiven Urinteststreifen in unserer Studie sein, da das Durchschnittsalter unserer Studienpopulation 2,9 Jahre beträgt. Falsch-negative Ergebnisse für Nitrit können außerdem durch eine unzureichende Nitrataufnahme mit der Nahrung (die von Bakterien zu Nitrit reduziert wird) oder Infektionen durch nicht nitratreduzierende Bakterien wie *Pseudomonas* spp, *Enterococcus* spp, *Staphylococcus saprophyticus* oder Ascorbinsäure im Urin verursacht werden (Leung et al., 2019, Schmidt and Copp, 2015, Doern and Richardson, 2016, Ma and Shortliffe, 2004).

#### 4.7 Prävalenz von Harnwegsinfektionen bei Kindern unter Malaria-Verdacht

Urinteststreifen reichen als diagnostisches Mittel nicht aus, um eine Harnwegsinfektion bei Kindern zu diagnostizieren, da sowohl eine positive Urinanalyse, als auch eine Urinkultur erforderlich sind, um eine Harnwegsinfektion zu diagnostizieren (Okarska-Napierala et al., 2017). Folglich war es nicht möglich, bei unseren Studienteilnehmer:innen die genaue Diagnose einer Harnwegsinfektion zu stellen, da keine Urinkulturen durchgeführt wurden. Ein positiver Urinteststreifen ist jedoch ein hilfreiches Instrument für die Triage von Kindern, die weitere Untersuchungen benötigen (Williams et al., 2010). In Anbetracht der Umstände und der verfügbaren Ressourcen im klinischen Umfeld unseres Studienzentrums ist der Urinteststreifen ein kostengünstiges, leicht zugängliches und hilfreiches Diagnoseinstrument zur Identifizierung von Kindern mit möglichen Harnwegsinfektionen, die Anzeichen von Fieber unbekannter Herkunft aufweisen.

Da Harnwegsinfektionen bei Kindern mit Fieber eine häufige Erkrankung sind, kann ein Urinteststreifen ein hilfreiches Instrument sein, um die Ursache für unbekanntes Fieber zu finden. Vor allem, wenn sie mit anderen Point-of-Care-Diagnoseinstrumenten wie mRDTs kombiniert werden. Insgesamt konnte festgestellt werden, dass Harnwegsinfektionen bei fiebernden Kindern in Mwanza wahrscheinlich unterdiagnostiziert werden und dass klare Kriterien für die Diagnose von Harnwegsinfektionen fehlen. Daraus lässt sich schließen, dass Harnwegsinfektionen bei Kindern als Ursache für ungeklärtes Fieber stärker in den Blickpunkt rücken müssen. Es besteht die Notwendigkeit, eine verbesserte Diagnostik für Harnwegsinfektionen bei Kindern in Entwicklungsländern zu entwickeln.

## 4.8 Proteinurie und nephrotisches Syndrom

Da es nur eine geringe Übereinstimmung zwischen der Proteinurie im Einzelspot-Urin und dem Protein im Urinteststreifen gab ( $\kappa=0,011$ ), ist davon auszugehen, dass die Methoden der Lagerung und des Transports der Urinproben zu fehlerhaften Ergebnissen führten.

Der Urinteststreifen ist sensitiv für Albumin, aber nicht für Globulin, und seine Sensitivität (70 mg/L) ist etwas geringer als andere diagnostische Methoden hinsichtlich einer Proteinurie (z.B. die der Sulfosalicylsäure-Methode). Falsch positive Ergebnisse können auftreten, wenn der pH-Wert des Urins aufgrund einer renalen tubulären Azidose, einer alkalischen Arzneimitteltherapie oder einer (vegetarischen) Ernährung erhöht ist (Carroll and Temte, 2000). Andere Studien zeigen ebenfalls eine unterlegene diagnostische Genauigkeit von Urinteststreifen im Hinblick auf Proteinurie im Vergleich zu Zentrallaboranalysen (Koeda et al., 2016, Ogi et al., 2022, Andersen et al., 2023).

## 4.9 Laborwerte im Zusammenhang mit Malaria

### 4.9.1 Hämoglobin

Obwohl Malaria in endemischen Ländern eine der Hauptursachen für eine Anämie ist (White, 2018), gab es in unserer Studie keinen statistischen Unterschied bei den Hämoglobinwerten zwischen Malaria-positiven und Malaria-negativen Patient:innen ( $p=0,129$ ). Hierbei sind auch die kleinen Fallzahlen, insbesondere der Gruppe der Malaria-positiven Patient:innen zu nennen (Malaria-positiv  $n=21$ , Malaria-negativ  $n=60$ ), welche die statistische Analyse anfällig für Störgrößen macht. Insgesamt waren mehr als ein Drittel aller Patient:innen (35 %) anämisch, 11 % wiesen sogar eine schwere Anämie auf. Mögliche Gründe dafür können außer einer Malariainfektion Erkrankungen wie eine Bakteriämie, HIV-Infektion, Vitamin A-, B12- und ein Folsäuremangel sein (Calis et al., 2008).

### 4.9.2 Leukozyten

Beim Vergleich der Leukozytenzahlen zwischen Malaria-positiven und -negativen Patient:innen wurde festgestellt, dass Malaria-positive Patient:innen niedrigere Leukozytenzahlen aufwiesen als Malaria-negative Patient:innen (10.500 Leukozyten/ $\mu\text{l}$  vs. 15.800 Leukozyten/ $\mu\text{l}$ ), obwohl die Unterschiede keine statistische Signifikanz erreichten ( $p=0,139$ ). Auch hier sind die Fallzahlen der untersuchten Patient:innen-Gruppen klein und statistische Aussagen dementsprechend von eingeschränkter Aussagekraft (malaria-positiv  $n=12$ , malaria-negativ  $n=39$ ). Es gibt nur sehr wenige Studien über die Rolle der Leukozyten

bei Malariainfektionen und die Ergebnisse sind umstritten (Berens-Riha et al., 2014, Olliaro et al., 2011, Jegede et al., 2017, Bostrom et al., 2017, Day et al., 1996). Leukopenien im Zusammenhang mit einer Malariainfektion wurden von anderen Autor:innen beschrieben (Kotepui et al., 2015, Leli et al., 2020). Eine mögliche Erklärung für eine malariabedingte Leukopenie ist, dass Infektionen mit *Plasmodium* spp. zu einer verringerten Chemotaxis von Neutrophilen führen können (Nielsen et al., 1986, Cunnington et al., 2012, Aitken et al., 2018). Insgesamt hat eine Leukopenie unseren Ergebnissen zufolge jedoch eine nur geringe Aussagekraft über das Vorliegen einer Malariainfektion, kann aber hinweisend sein.

#### 4.9.3 Thrombozyten

In dieser Studie wurde festgestellt, dass die Unterschiede der Thrombozytenzahl zwischen Malaria-positiven und -negativen Patient:innen statistisch signifikant waren ( $p < 0,001$ ). Die mittlere Thrombozytenzahl der Malaria-negativen Gruppe ( $n=39$ ) betrug  $123 \times 10^3/\mu\text{l}$ , während die mittlere Thrombozytenzahl der Malaria-positiven Gruppe ( $n=12$ )  $350 \times 10^3/\mu\text{l}$  betrug. Unsere Ergebnisse decken sich mit den Ergebnissen aktueller Studien (Paintsil et al., 2019, Gupta et al., 2019, Leli et al., 2020). Leli et al. fanden heraus, dass eine Thrombozytenzahl von mehr als 185 000 Zellen/ $\mu\text{l}$  als Screening-Parameter verwendet werden kann, um eine wahrscheinliche Malariainfektion auszuschließen (Leli et al., 2020). In einem systematischen Review von Taylor et al. wurde festgestellt, dass eine Thrombozytenzahl unter 150 000 Zellen/ $\mu\text{l}$  ein zuverlässiger Parameter für eine Malariaerkrankung ist (Taylor et al., 2010). Zusammenfassend zeigt diese Studie, dass eine niedrige Thrombozytenzahl als signifikanter Screening-Wert zur Identifizierung von Patient:innen mit Malariainfektionen verwendet werden kann. Wie bei den beiden obigen Kapiteln ist auch bei der hier angewendeten statistischen Analyse eine eingeschränkte Aussagekraft der Signifikanz vorhanden, da mit kleinen Fallzahlen gerechnet wurde.

## 5 Zusammenfassung

Die weltweite Malariaepidemiologie hat sich in den letzten zehn Jahren verändert und die Zahl der gemeldeten Krankheitsfälle und Todesfälle ist rückläufig. Nichtsdestotrotz entfallen auf Tansania etwa 4 % aller in den letzten Jahren gemeldeten Malariainfektionen und Todesfälle, Kinder gehören zu den besonders gefährdeten Risikopatient:innen (WHO, 2022c). Die vorliegende Arbeit ist eine Querschnittstudie, welche von Januar bis April 2018 durchgeführt wurde und insgesamt 101 Studienteilnehmer:innen miteinschließt.

Die von uns aufgestellte Hypothese, dass Malaria bei fiebrigen Kindern in der Subsahara überdiagnostiziert wird, bestätigt sich in unserer Arbeit. Insgesamt wurde bei mehr als einem Drittel (37 %) aller Studienteilnehmer:innen die Arbeitsdiagnose Malaria vom klinischen Personal vor Ort gestellt. Mehr als die Hälfte aller getätigten Malaria-Diagnosen stellten sich nach Durchführung der PCR als Fehldiagnosen heraus (59 %, 22/37). Negative Ergebnisse im mRDT führten nicht unbedingt zu einem Malaria-Ausschluss in der Arbeitsdiagnose.

Die Ergebnisse in unserer Studie deuten ebenfalls darauf hin, dass Malaria übertherapiert wird und Artemisinin-basierte Malariamedikamente übermäßig eingesetzt werden. Nur die Hälfte (52 %) der Patient:innen, die Malariamedikamente erhielten, stellten sich später durch die PCR als tatsächlich Malaria-positiv heraus.

Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit zeigen eine niedrige Sensitivität der verwendeten mRDTs, welche lediglich bei 58,3 % lag. Die Spezifität der mRDTs betrug 100 %. Obwohl die Interrater-Reliabilität zwischen mRDT und PCR noch als „erhebliche Übereinstimmung“ zu bewerten ist, konnte der mRDT 10 Studienteilnehmer:innen nicht als Malaria-positiv erkennen, die in der PCR als Malaria-positiv detektiert wurden. Allgemein geht man davon aus, dass falsch-negative Ergebnisse im mRDT sowohl auf eine niedrige Parasitämie, als auch auf Parasitenmutationen zurückzuführen sind, welche zu einer Deletion der im mRDT nachweisbaren HRP2/3-Antigene führt. Zu tatsächlich vorliegenden Parasitämien oder Mutationen können in dieser Arbeit keine Aussagen getroffen werden.

Es wurde untersucht, ob ein Zusammenhang zwischen Laborwerten (Leukozytenzahl, Thrombozytenzahl, Hämoglobinwert) und dem Vorliegen einer Malariainfektion besteht. Obwohl mehr als die ein Drittel (35 %) aller Studienteilnehmer:innen eine Anämie aufwies, konnte kein statistisch signifikanter Unterschied zwischen Malaria-positiven und -negativen Patient:innen im Hinblick auf den Hb-Wert festgestellt werden. Eine Leukopenie war ebenfalls kein statistisch signifikanter Hinweis für eine Malariainfektion. In dieser Studie wurde jedoch

festgestellt, dass die Unterschiede der Thrombozytenzahl zwischen der Malaria-positiven und -negativen Gruppe statistisch signifikant waren ( $p < 0,001$ ). Zusammenfassend zeigen diese Ergebnisse, dass eine niedrige Thrombozytenzahl als signifikanter Screening-Wert zur Identifizierung von Patient:innen mit Malariainfektionen verwendet werden kann und Laborwerte insgesamt im klinischen Setting unterbewertet werden.

Außerdem wurden klinische Hinweise bzw. Symptome auf einen Zusammenhang mit einer vorliegenden Malaria-Infektion untersucht. Hierbei konnten neurologische Symptome (Meningismus, gespannte Fontanellen und/oder Konvulsionen) in einen statistisch signifikanten ( $p = 0,021$ ) Zusammenhang mit einer Malaria-Infektion gebracht werden. Auch Schmerzen wurden häufiger bei Malaria-positiven Kindern geäußert, jedoch statistisch nur annähernd signifikant ( $p = 0,071$ ).

Arbovirale Infektionen konnten in der vorliegenden Arbeit weder mithilfe eines Dengue Virus-Schnelltests (dRDT), noch in der Multiplex-PCR nachgewiesen werden. Ein möglicher Grund für potenziell falsch-negative Testergebnisse könnte der Zeitpunkt der Probenahme sein. In unserer Studie betrug der durchschnittliche Testzeitpunkt ab Auftreten der Symptome 6,3 Tage, was zu einer geringeren Sensitivität der Dengue-Testkits geführt haben könnte. Darüber hinaus könnten das geringe saisonale Auftreten oder die Höhenlage des Studienorts für das Fehlen positiver DENV-Schnelltestergebnisse verantwortlich sein. Nach Ausschluss möglicher Kreuzreaktionen konnten in der Serologie bei 3,5 % der Studienteilnehmer:innen Dengue-IgM-Antikörper und bei 4,7 % CHIKV-IgG-Antikörper nachgewiesen werden. Der Nachweis entsprechender arboviraler Antikörper in dieser Studie legt nahe, dass Arboviren in dieser Gegend prävalent sind. Jedoch sprechen die negativen PCR-Ergebnisse für zurückliegende Infektionen, welche ebenfalls importiert sein könnten. Außerdem gibt es Annahmen, dass nicht nur Malaria-Infektionen, sondern auch zurückliegende Impfungen, wie z.B. gegen das Japanische Enzephalitis-Virus oder das Gelbfieber-Virus, zu Kreuzreaktionen in der Serologie führen können. Die Ergebnisse dieser Studie weisen darauf hin, dass Arboviren wie das Dengue-Virus und das Chikungunya-Virus in Afrika südlich der Sahara wahrscheinlich prävalent sind und dass Kreuzreaktionen in der serologischen Antikörperdiagnostik häufig sind. Aus diesem Grund können in der vorliegenden Studie nur mit eingeschränkter Aussagekraft Aussagen über die Prävalenz von Arboviren getroffen werden.

Ein weiterer Schwerpunkt dieser Arbeit lag in der Untersuchung febriler Kinder auf möglicherweise ursächliche Harnwegsinfektionen. Insgesamt wurde festgestellt, dass es vor Ort kein systematisches Screening auf Harnwegsinfektionen bei Kindern mit Fieber gab. Es wurden in der klinischen Routine keine Urinstreifentests verwendet und die Diagnose einer Harnwegsinfektion wurde nur bei einer Patient:in durch eine Mikroskopie bestätigt. In unserer Studie konnte bei 75 Teilnehmer:innen Urin gewonnen werden, welcher anschließend mittels eines Urineststreifens untersucht wurde. Bei mehr als einem Drittel aller Patient:innen zeigte sich eine Leukozyturie, was als unspezifischen Hinweis auf eine Infektion gewertet werden kann. Nitrit ließ sich in keinem der Urineststreifen nachweisen, was an dem geringen Durchschnittsalter (2,9 Jahre) der Studienteilnehmer:innen und der damit einhergehenden hohen Miktionsfrequenz liegen könnte. Urineststreifen sind ein einfach und leicht zu handhabendes Point-of-Care-Diagnoseinstrument; sie sind jedoch für jüngere Kinder allein nicht geeignet, um Harnwegsinfektionen zuverlässig zu erkennen. Harnwegsinfektionen bei fiebernden Kindern in Mwanza werden wahrscheinlich unterdiagnostiziert und klare Kriterien für die Diagnose von Harnwegsinfektionen fehlen in ressourcenarmen klinischen Umgebungen, in denen keine Urinkulturen angefertigt werden.

## 6 Ausblick

Diese wissenschaftliche Arbeit hat sich zum Ziel gesetzt, die Ursachen und Bedeutungen von Malaria-ähnlichen Erkrankungen bei Kindern in Tansania zu untersuchen. Um ein genaueres und umfassenderes Bild zu erlangen, ist es notwendig, dass weitere Studien zu diesem Thema an unterschiedlichen Studienorten und zu unterschiedlichen Zeiten (Regen/Trockenzeit) mit einer größeren Fallzahl durchgeführt werden, um mögliche saisonale Unterschiede zu berücksichtigen und eine höhere Aussagekraft zu erlangen.

Zudem benötigt es weitere Untersuchungen zur Verbesserung von Point-of-Care-Tests (POCT), insbesondere im Hinblick auf ihre Sensitivität bei der Malaria-Diagnostik. Die in dieser Arbeit verwendeten mRDTs zeigten eine relativ niedrige Sensitivität von 58,3 % und konnten 10 Malaria-positive Studienteilnehmer:innen nicht identifizieren. Hierbei spielt möglicherweise die Verbreitung von *P. falciparum*-Parasiten mit Pfhrp2/3-Gendeletion eine Rolle, welche insgesamt eine große Herausforderung in der Malaria-Diagnostik darstellen. Diesbezüglich ist neben einer weiten Überwachung dieser Parasitenmutation auch eine Identifizierung neuer Biomarker, die Verbesserung der Leistung von Nicht-HRP2-RDTs und die Stärkung von Labornetzwerken, um die Nachfrage nach molekularer Charakterisierung zur Bestimmung des Vorhandenseins oder Nichtvorhandenseins dieser Gendeletionen von großer Bedeutung und wird im aktuellen globalen Reaktionsplan der WHO als Ziel genannt (WHO, 2022c).

Unsere Ergebnisse zeigen, dass Artemisinin-basierte Malariamedikamente übermäßig eingesetzt werden. Laut WHO besteht ein weiterer Fokus in der Strategie, Malaria zu bekämpfen darin, neue Medikamente zu entwickeln, welche eine verbesserte Therapieoption für Kinder und Schwangere darstellen, die erhöhte Risiken für die Folgen einer Malariainfektion tragen. Ebenso besteht ein weiterer Therapieansatz darin, Nicht-Artemisinin-Behandlungsoptionen zu entwickeln, um die Therapie zu vereinfachen und um einer Resistenzverstärkung entgegenzuwirken. Hier befinden sich mehrere Medikamente der nächsten Generation in unterschiedlichen Testphasen (WHO, 2022c).

Ein weiterer wichtiger Aspekt des Globalen Reaktionsplans der WHO besteht in der Vektorkontrolle und damit der Prävention der Malariaerkrankung. Hier befinden sich unterschiedliche Produkte, wie z.B. Insektizid-behandelte Mosquitonetze oder Wandbehandlungen für Innenräume in der Testphase. Darüber hinaus sind Produkte der Vektorkontrolle in der Entwicklung, welche Larvizide, tödliche Hausmittel (Traufschläuche)

und gezielte Zuckerköder umfassen, die der Reduzierung von Bissen und Stichen im Freien dienen (WHO, 2022c).

Im März 2022 wurde die Empfehlung der WHO für den Impfstoff in die WHO-Leitlinien für Malaria aufgenommen. Bislang erhielten geschätzt zwei Millionen Kinder mindestens eine Dosis des RTS,S/AS01-Impfstoffs im Rahmen des von der WHO koordinierten Programms. Daten aus diesem Pilotprojekt zeigen vielversprechende Erfolge im Hinblick auf eine reduzierte Kindersterblichkeit. Im Oktober 2023 wurde eine weitere Empfehlung bezüglich eines zweiten Malariaimpfstoffs, R21, von Seiten der WHO ausgesprochen (WHO, 2023c).

In der vorliegenden Arbeit war es nicht möglich Harnwegsinfektionen der Studienteilnehmer:innen anhand von Urinteststreifen sicher zu detektieren, da lediglich nitritnegative Urinreifentests erhoben wurden und für die sichere Diagnose das Anfertigen einer Urinkultur notwendig ist. Um die Bedeutung von Harnwegsinfektionen bei Kindern mit Fieber genauer zu untersuchen sind weitere Untersuchungen notwendig. Dabei sollten Urinkulturen angelegt werden, um eine sichere Diagnose stellen zu können. Hierzu könnten z.B. Dipslides und vereinfachte Agar-Kulturen benutzt werden, welche auch in ressourcenarmen Laborsettings verwendet werden können. Die Durchführung weiterer Studien sollte dazu beitragen, das Verständnis für die Bedeutung von Harnwegsinfektionen im Kindesalter zu vertiefen und einfachere Diagnosemöglichkeiten (POCT) zu entwickeln und zu etablieren.

Die serologischen Ergebnisse dieser Studie deuten darauf hin, dass arbovirale Infektionen wie Dengue-Fieber und Chikungunya in Tansania prävalent sind. Um ein besseres und genaueres Verständnis über die Prävalenz und Bedeutung von arboviralen Erkrankungen zu erlangen sind auch hier weitere wissenschaftliche Untersuchungen gefragt. Hierbei könnte ein früherer Testzeitpunkt der Studienteilnehmer:innen von Vorteil sein, um die Sensitivität der Dengue-Schnelltests zu erhöhen. Ebenso braucht es weitere Studien, um die Eignung von Whatman®-Filterkarten als Transportmedium für Arboviren zu untersuchen. Um einem RNA-Verlust vorzubeugen, könnte der Versuch unternommen werden, eine Reverse Transkriptase-Reaktion vor Lagerung der DBS auf Filterkarten durchzuführen.

POCT mit elektronischen Geräten ist ein vielversprechender Forschungsbereich und hat bereits Erfolge bei der Verringerung der nicht-indizierten Verschreibung von Antibiotika und

Malariamitteln bei Kindern mit akuten fiebrigen Erkrankungen in Tansania gezeigt (Keitel et al., 2017) . Intelligente ELISA-Verfahren zum Nachweis von serologischen IgG-Markern für DENV-Infektionen wurden bereits entwickelt und zeigten eine Sensitivität von bis zu 95 % (Thiha and Ibrahim, 2015). Diesem Beispiel folgend ist beabsichtigt, epidemiologische Daten über das Vorhandensein von Arboviren aus dem MPCR-Panel zu nutzen, um eine arbovirale Multiplex-PCR für die Point-of-Care-Diagnostik zu entwickeln, die zwischen den häufigsten Erregern, einschließlich Malaria, unterscheiden kann (Koliopoulos et al., 2021).

Ein größeres Bewusstsein für andere Malaria-ähnliche Infektionen, wie z.B. Harnwegsinfektionen im Kindesalter, und bessere Kenntnisse über die endemische Situation von Arboviren können nicht-indizierte Behandlungen verhindern und die allgemeine Versorgung von Kindern mit Fieber in der Subsahara Afrikas verbessern.

## 7 Anhang

### 7.1 Informationsblatt

Dieses Dokument wurde allen Patient:innen bzw. deren Angehörigen vor Einschluss in die Studie auf Englisch und/oder Suaheli ausgehändigt. Hier abgebildet ist die englische Version.

---



#### Information Sheet

**Your child is** requested to take part in a study regarding mosquito transmitted diseases. In the Neonatal and Child Health Profile (2013), the WHO claims that malaria is one of the main causes for child mortality in Tanzania. Acute febrile illnesses make up more than half of the post neonatal deaths (pneumonia, meningitis, malaria and diarrhea). Due to the lack of diagnostic tools delineating between the various potential causing pathogens, inadequate treatment decisions become unavoidable.

The ministry of Health in Tanzania addresses that problem in the Malaria Operational Plan (2016), and sets goals to reduce malaria mortality. In addition, the report emphasizes to 'incorporate new tools in the diagnosis of malaria' reacting to changed epidemiology. The presented project intends to detect the prevalent pathogens causing febrile diseases in the Lake Victoria region using new diagnostic methods.

**If you are willing to let your child** participate in this study, you need to sign this form as indicative of your willingness. Participation is strictly voluntary and unwillingness to participate in this study will not affect your treatment. Patients may withdraw their consent to participate at any time during the study period and such a decision will be respected by the doctor, and likewise it will not affect your treatment.

Participants will undertake an interview concerning your medical history, a physical examination including tests for puls rate and oxygen saturation and a Malaria Rapid Test (MRDT). In addition blood samples will be obtained from children. The blood test may cause pain at the time of drawing the blood sample but overall, there will be no physical impairment expected from participation. If the blood test is abnormal the results will be communicated

directly to the doctors who are treating **your child** on the ward. If this happens, the concerned participant will receive treatment according to the current standard of care in Tanzania.

If you have any queries regarding this study, feel free to contact:

Dr. Neema M. Kayange. Principal Investigator, Catholic University of health and allied sciences, Department of Pediatrics: P.O.Box 1464, Mwanza, Tanzania Tel: +255-754-018337

Prof. Dr. Stephan Gehring, Principal Investigator, Universitaetsmedizin Mainz, Department of Pediatrics, Langenbeckstarsse 1, 55131 Mainz, Germany, e-mail: [stephan.gehring@uni-mainz.de](mailto:stephan.gehring@uni-mainz.de)

Or in any case of any information concerning your rights as a study participant, please contact;

Prof Kongolla, Director of Research and Publications, Catholic University of Health and Allied Sciences, P.O.Box 1464, Mwanza.

## 7.2 Einverständniserklärung

Diese Einverständniserklärung wurde den Eltern bzw. Angehörigen des Kindes vor Einschluss in die Studie in Englisch und/oder Suaheli vorgelegt und anschließend unterschrieben. Hier abgebildet ist die englische Version.



### INFORMED CONSENT

**Your child is** requested to take part in a study regarding mosquito transmitted diseases. Doctors at Bugando Medical Centre and affiliated hospitals are looking for causes of febrile diseases in paediatric patients such as Dengue and Chikungunya virus. **If you are willing to let your child participate,** you need to sign this form as indicative of your willingness. Participation is strictly voluntary and unwillingness to participate in this study will **not affect the child's treatment.** Patients may withdraw their consent to participate at any time during the study period and such a decision will be respected by the doctor, and likewise it will not affect the treatment.

Participants will undertake an interview and a physical examination. Afterwards, Malaria Rapid Test (MRDT) and blood sample will be obtained from the child. **This blood sample will be used to perform a Malaria Rapid test. In addition, another part of the blood sample will be stored. We will use this part to test your child for certain diseases like Dengue and Chikungunya, that might be the cause for your child's fever.**

The blood test may cause pain at the time of drawing the blood sample but overall, there will be no physical impairment expected from participation. If the blood test is abnormal the result will be communicated directly to the doctors who are treating your child in the ward. If this happens, the concerned participant will receive treatment according to the current standard of care in Tanzania.

**Besides the outlined inconveniences (taking a blood sample and answering the questionnaire), we hope to offer some benefits. These include providing free Malaria Rapid Tests and Dengue Rapid Tests, as well as doing a full body examinations of your**

**child. In addition, the information gathered will hopefully help to improve that treatment for febrile children in your area in the future.**

I have had the chance to reflect the information given, ask questions and the answers provided were satisfactory.

I have understood the above information. I recognize that the participation is voluntary and that I am free to withdraw at any time, without giving any reason, without my medical care or legal rights being affected.

\_\_\_\_\_  
**Signature of parent/ legal guardian**  
\_\_\_\_\_  
**place, date**

\_\_\_\_\_  
**Signature of study staff**

**In case of illiteracy of parent/ legal guardian:**

\_\_\_\_\_  
**Signature of impartial witness**

If you have any queries regarding this study, feel free to contact:

**NIEMA M. KAYANGE**, Principal Investigator, Catholic University of Health and allied sciences, Department of Pediatrics: P.O.Box 1464, Mwanza. Tel: +255-754-018337.

Or in any case of any information concerning your rights as a study participant, please contact:

**Prof Kongola**, Director of Research and Publications, Catholic University of Health and Allied Sciences, P.O.Box 1464, Mwanza.

**National Institute for Medical Research**  
P.O. Box 9653, Dar es Salaam, Tanzania  
Telephone & Fax: Tel: +255 22 2121400, Fax: 255 22 2121360  
E-Mail: [ethics@nimr.or.tz](mailto:ethics@nimr.or.tz)  
[www.nimr.or.tz](http://www.nimr.or.tz)

### 7.3 Fragebogen

ID:

**Prevalence of arboviral infections in hospitalised and outpatient children under the suspicion of Malaria infection at Bugando Medical Center and affiliated hospitals in the Lake Victoria Region, Tanzania**

Thank you for participating in our study. I will read each question loud and wait for your response. For some questions I will also read loud some responses from which you can choose. Please take as long as you need to remember or think about your answer. If you need more clarification please tell us for further information. All your answers will be kept confidential and this questionnaire is anonymous.

**1. Socio-demographic data.**

QN	Code	Questions and Filters	Response
01	REASS	<i>Research Assistant</i>	Research Assistant 1 <input type="checkbox"/> Research Assistant 2 <input type="checkbox"/>
02	DOI	<i>Date of interview</i>	<input type="text"/> / <input type="text"/> / <input type="text"/> Day      Month      Year
03	SEX	<i>Sex</i>	Male <input type="checkbox"/> 0 Female <input type="checkbox"/> 1
04	AGE	<i>Age</i>	<input type="text"/>   <input type="text"/>   Years and <input type="text"/>   <input type="text"/>   Months
05	ETHNIC	<i>What is your tribal origin?</i>	<input type="radio"/> Sukuma <input type="radio"/> Zinza <input type="radio"/> Haya <input type="radio"/> Sumbwa <input type="radio"/> Jita <input type="radio"/> Nyamwezi <input type="radio"/> Mkurya <input type="radio"/> Kerewe <input type="radio"/> Muha <input type="radio"/> Other
06	REGION	<i>Current Area of Living (Closest city)</i>	<input type="radio"/> Sengerema <input type="radio"/> Biharamulo <input type="radio"/> Mwanza <input type="radio"/> Shinyanga <input type="radio"/> Geita <input type="radio"/> Other <input type="radio"/> Kahama

**Checklist:**

- mRDT
- Urin-Sample
- Urinstix
- Filtercard Serum
- Filtercard Urine
- Sera
- Dengue- RapidTest

## 2. Medical history



QN	Code	Question and filters	Response
07	HOF	<i>Since when are the Symptoms/ is the fever?</i>	Fever/ Symptoms for _____ days
08	CMEDICS	<i>Has the child already received any Medication because of the current disease?</i>	<input type="radio"/> Antibiotics <input type="radio"/> Antimalariamedication <input type="radio"/> Pain Medication <input type="radio"/> Others _____
09	VACCIN	<i>Vaccination-Card checked?</i>	<input type="radio"/> Vacc up to date
10	CROND	<i>Does the child have any chronic diseases?</i>	<input type="radio"/> HIV <input type="radio"/> SCD <input type="radio"/> Syndrome <input type="radio"/> Others _____
11	TRAVEL	<i>Where there any recent travels?</i>	<input type="radio"/> No 1 <input type="radio"/> Yes to _____ 2

## 3. Present symptoms

QN	Code	Question and filters	Responses
12	RASH	<i>Rash (Localization? <u>Dermatographic Urticaria</u> ?)</i>	No 0 Yes 1
13	GITINF	<i>Sings for Gastrointestinal Infection</i>	<input type="radio"/> Vomiting _____x <input type="radio"/> <u>Diarrhea</u> (≥ 4 x per day) <input type="radio"/> Abdominal discomfort
14	XPAIN	<i>Does the child have any pain?</i>	<input type="radio"/> Headache <input type="radio"/> Retro orbital <input type="radio"/> Muscles <input type="radio"/> Joint/ Bone/ Back

QN	Code	Question and filters	Responses
15	URINA	<i>Sings for UTI</i>	<input type="radio"/> Dysuria <input type="radio"/> Pollakiuria <input type="radio"/> Hematuria <input type="radio"/> Loin pain

#### 4. Physical examination

QN	Code	Question and filters	Coding categories
16	PALLOR	<i>Pallor (Conjunctival examination)</i>	No 0 Mild/Moderate Pale 1 Severely Pale 2
17	DEHYD	<i>Dehydration (Tugor, Tears, Mucous membrane)</i>	No 0 Yes 1
18	EDEMA	<i>Does the child have any Oedema?</i>	No 0 Yes 1
19	HEPSPLEN	<i>Does the child have Hepato- or Splenomegaly?</i>	<input type="radio"/> Hepatomegaly <input type="radio"/> Splenomegaly
20	PNEUM	<i>Are there any signs for Pneumonia?</i>	<input type="radio"/> Cough <input type="radio"/> Nasal discharge <input type="radio"/> DIB <input type="radio"/> Sputum <input type="radio"/> Crackles
21	MENENCE	<i>Are there any signs for Meningitis or Encephalitis?</i>	GCS _____ <input type="radio"/> Neck Stiffness <input type="radio"/> Convulsion
22	UTI	<i>Are there any signs for urinary tract infections?</i>	<input type="radio"/> no 0 <input type="radio"/> kidney throbbing pain 1 <input type="radio"/> suprapubic pain 2

**5. Physical measurements/ Labs– for all patients**

QN	Code	Question and filters	Coding categories
23	HGHTLENG	<i>Height/Length</i>	_____, ____ cm
24	WEIGHT	<i>Weight</i>	____, ____ kg
25	TEMP	<i>Body temperature</i>	____, ____ °C
26	RR	<i>Respiratory rate</i>	____ Breaths/minute
27	SPO2	<i>Saturation of O2 in room air</i>	____ %
28	PR	<i>Pulse rate</i>	____ Beats/minute
29	BS	<i>Rapid Test for malaria (Mainz)</i>  <i>(SekouToure)</i>	Negative (valid) <input type="radio"/> Positive (valid) Pf: <input type="checkbox"/> Pan: <input type="checkbox"/>  Negative (valid) <input type="radio"/> Positive (valid) Pf: <input type="checkbox"/> Pan: <input type="checkbox"/>
30	RD	<i>Rapid Test for Dengue</i>	Negative (valid) <input type="checkbox"/> Positiv (valid) <input type="checkbox"/>
31	WD	<i>What is the working Diagnose?</i>	<input type="radio"/> Malaria <input type="radio"/> UTI <input type="radio"/> RTI <input type="radio"/> Sepsis <input type="radio"/> Anaemia <input type="radio"/> GTI <input type="radio"/> _____
32	PM	<i>What is the prescribed Medication?</i>	<input type="radio"/> Antibiotics <input type="radio"/> Antimalariamедication <input type="radio"/> Pain Medication <input type="radio"/> Other: _____
33	AORD	<i>Was the Patient admitted or discharged?</i>	<input type="radio"/> Admitted <input type="radio"/> Discharged

## 6. Lab Results / Uristix

QN	Code	Question and filters	Coding categories
34	URISTIX	<p><i>Dipstick urinalysis</i></p> <p>Date: _____</p> <p>Sample: _____</p> <p>Macroscopy: _____</p> <p>Microscopy (<u>Sekoutoure</u>): _____</p>	<p>Glucose                      pH</p> <p>Bilirubin                    Proteins</p> <p>Ketone                        Urobili</p> <p>Spezif. Gew.                Nitrit</p> <p>Blood                         Leucocytes</p> <p>○ midstream urine</p> <p>○ collecting bag urine</p> <p>○ catheter urine</p> <p>○ suprapubic bladder puncture</p> <p>○ cloudy</p> <p>○ colourless/clear</p> <p>○ red</p>
35	BLOODANA	<i>Full Blood Picture</i>	<p>HB: _____</p> <p>Leuc.: _____</p> <p>Thromb.: _____</p> <p>Hct.: _____</p> <p>Others: _____</p>
36	NUTRIST	<p>_____ cm / _____ kg</p> <p><i>Weight for height/length:</i></p> <hr/> <p>_____ months / _____ kg</p> <p><i>Weight for age:</i></p> <hr/> <p>_____ kg      -</p>	<p>No malnutrition                      0</p> <p>Mild malnutrition                    1</p> <p>Moderate malnutrition              2</p> <p>Severe malnutrition                 3</p>



## 7.4 Literaturverzeichnis

- (CDC), C. F. D. C. A. P. 2022. *Dengue Vaccines Globally* [Online]. [Accessed April 2023].
- (RKI), R. K. I. 2017. *Infektionsepidemiologisches Jahrbuch meldepflichtiger Krankheiten für 2017* [Online]. Available: [www.rki.de/jahrbuch](http://www.rki.de/jahrbuch) [Accessed].
- (WHO), W. H. O. 2022. *Malaria vaccine: WHO position paper - march 2022. Weekly epidemiological record. 2022* [Online]. Available: <https://www.who.int/publications/i/item/who-wer9709-61%E2%80%93380> [Accessed 20.04. 2023].
- ABBA, K., DEEKS, J. J., OLLIARO, P., NAING, C. M., JACKSON, S. M., TAKWOINGI, Y., DONEGAN, S. & GARNER, P. 2011. Rapid diagnostic tests for diagnosing uncomplicated *P. falciparum* malaria in endemic countries. *Cochrane Database Syst Rev*, 2011, CD008122.
- AGENCY, E. M. 2015. *Opinion on medicine for use outside EU*. [Online]. Amsterdam, The Netherlands. Available: <https://www.ema.europa.eu/en/opinion-medicine-use-outside-EU/human/mosquirix> [Accessed 20.04.2023].
- AITKEN, E. H., ALEMU, A. & ROGERSON, S. J. 2018. Neutrophils and Malaria. *Front Immunol*, 9, 3005.
- AKINYODE, A. O., AJAYI, I. O., IBRAHIM, M. S., AKINYEMI, J. O. & AJUMOBI, O. O. 2018. Practice of antimalarial prescription to patients with negative rapid test results and associated factors among health workers in Oyo State, Nigeria. *Pan Afr Med J*, 30, 229.
- AMARASINGHE, A., KURITSK, J. N., LETSON, G. W. & MARGOLIS, H. S. 2011. Dengue virus infection in Africa. *Emerg Infect Dis*, 17, 1349-54.
- ANDERSEN, E. S., OSTERGAARD, C., ROTTGER, R., CHRISTENSEN, A. F., BRANDSLUND, I. & BRASEN, C. L. 2023. POCT urine dipstick versus central laboratory analyses: Diagnostic performance and logistics in the medical emergency department. *Clin Biochem*, 111, 17-25.
- ÄRZTEBLATT, D. 2018. Risiko autochthoner Infektionen: West-Nil-Virus in einheimischen Vögeln nachgewiesen.
- ÄRZTEBLATT, D. 2019a. Autochthone Dengue-Erkrankungen in Katalonien und Frankreich.
- ÄRZTEBLATT, D. 2019b. Erste autochthone Zika-Erkrankung in Europa.
- BACHMAN, J. 2013. Reverse-transcription PCR (RT-PCR). *Methods Enzymol*, 530, 67-74.
- BECKHAM, J. D. & TYLER, K. L. 2015. Arbovirus Infections. *Continuum (Minneapolis)*, 21, 1599-611.
- BERENS-RIHA, N., KROIDL, I., SCHUNK, M., ALBERER, M., BEISSNER, M., PRITSCH, M., KROIDL, A., FROSCHL, G., HANUS, I., BRETZEL, G., VON SONNENBURG, F., NOTHDURFT, H. D., LOSCHER, T. & HERBINGER, K. H. 2014. Evidence for significant influence of host immunity on changes in differential blood count during malaria. *Malar J*, 13, 155.
- BERNER 2018. *DGPI-Handbuch: Infektionen bei Kindern und Jugendlichen*, Deutsche Gesellschaft für Pädiatrische Infektiologie (DGPI).
- BHATT, S., WEISS, D. J., CAMERON, E., BISANZIO, D., MAPPIN, B., DALRYMPLE, U., BATTLE, K., MOYES, C. L., HENRY, A., ECKHOFF, P. A., WENGER, E. A., BRIET, O., PENNY, M. A., SMITH, T. A., BENNETT, A., YUKICH, J., EISELE, T. P., GRIFFIN, J. T., FERGUS, C. A., LYNCH, M., LINDGREN, F., COHEN, J. M., MURRAY, C. L. J., SMITH, D. L., HAY, S. I., CIBULSKIS, R. E. & GETTING, P. W. 2015. The effect of malaria control on *Plasmodium falciparum* in Africa between 2000 and 2015. *Nature*, 526, 207-211.

- BLACKSELL, S. D., JARMAN, R. G., BAILEY, M. S., TANGANUCHITCHARNCHAI, A., JENJAROEN, K., GIBBONS, R. V., PARIS, D. H., PREMARATNA, R., DE SILVA, H. J., LALLOO, D. G. & DAY, N. P. 2011a. Evaluation of six commercial point-of-care tests for diagnosis of acute dengue infections: the need for combining NS1 antigen and IgM/IgG antibody detection to achieve acceptable levels of accuracy. *Clin Vaccine Immunol*, 18, 2095-101.
- BLACKSELL, S. D., JARMAN, R. G., GIBBONS, R. V., TANGANUCHITCHARNCHAI, A., MAMMEN, M. P., JR., NISALAK, A., KALAYANAROOJ, S., BAILEY, M. S., PREMARATNA, R., DE SILVA, H. J., DAY, N. P. & LALLOO, D. G. 2012. Comparison of seven commercial antigen and antibody enzyme-linked immunosorbent assays for detection of acute dengue infection. *Clin Vaccine Immunol*, 19, 804-10.
- BLACKSELL, S. D., TANGANUCHITCHARNCHAI, A., JARMAN, R. G., GIBBONS, R. V., PARIS, D. H., BAILEY, M. S., DAY, N. P., PREMARATNA, R., LALLOO, D. G. & DE SILVA, H. J. 2011b. Poor diagnostic accuracy of commercial antibody-based assays for the diagnosis of acute Chikungunya infection. *Clin Vaccine Immunol*, 18, 1773-5.
- BODE, A. V., SEJVAR, J. J., PAPE, W. J., CAMPBELL, G. L. & MARFIN, A. A. 2006. West Nile virus disease: a descriptive study of 228 patients hospitalized in a 4-county region of Colorado in 2003. *Clin Infect Dis*, 42, 1234-40.
- BOSTROM, S., SCHMIEGELOW, C., ABU ABED, U., MINJA, D. T. R., LUSINGU, J., BRINKMANN, V., HONKPEHEDJI, Y. J., LOEMBE, M. M., ADEGNIKA, A. A., MORDMULLER, B., TROYE-BLOMBERG, M. & AMULIC, B. 2017. Neutrophil alterations in pregnancy-associated malaria and induction of neutrophil chemotaxis by *Plasmodium falciparum*. *Parasite Immunol*, 39.
- BYGBJERG, I. C., SIMONSEN, L. & SCHIOLER, K. L. 2018. Elimination of *Falciparum* Malaria and Emergence of Severe Dengue: An Independent or Interdependent Phenomenon? *Front Microbiol*, 9, 1120.
- CABRERA, E. J., BARR, M. L. & SILVERMAN, P. H. 1977. Long-term studies on rhesus monkeys (*Macaca mulatta*) immunized against *Plasmodium knowlesi*. *Infect Immun*, 15, 461-5.
- CALBA, C., GUERBOIS-GALLA, M., FRANKE, F., JEANNIN, C., AUZET-CAILLAUD, M., GRARD, G., PIGAGLIO, L., DECOPPET, A., WEICHERDING, J., SAVAILL, M. C., MUNOZ-RIVIERO, M., CHAUD, P., CADIOU, B., RAMALLI, L., FOURNIER, P., NOEL, H., DE LAMBALLERIE, X., PATY, M. C. & LEPARC-GOFFART, I. 2017. Preliminary report of an autochthonous chikungunya outbreak in France, July to September 2017. *Euro Surveill*, 22.
- CALIS, J. C., PHIRI, K. S., FARAGHER, E. B., BRABIN, B. J., BATES, I., CUEVAS, L. E., DE HAAN, R. J., PHIRI, A. I., MALANGE, P., KHOKA, M., HULSHOF, P. J., VAN LIESHOUT, L., BELD, M. G., TEO, Y. Y., ROCKETT, K. A., RICHARDSON, A., KWIATKOWSKI, D. P., MOLYNEUX, M. E. & VAN HENSBROEK, M. B. 2008. Severe anemia in Malawian children. *N Engl J Med*, 358, 888-99.
- CARROLL, M. F. & TEMTE, J. L. 2000. Proteinuria in adults: a diagnostic approach. *Am Fam Physician*, 62, 1333-40.
- CDC, C. F. D. C. A. P. 2023a. *Areas at Risk for Chikungunya* [Online]. Available: <https://www.cdc.gov/chikungunya/geo/index.html> [Accessed 15.02.2024].
- CDC, C. F. D. C. A. P. 2023b. *Chikungunya Virus* [Online]. Available: <https://www.cdc.gov/chikungunya/index.html> [Accessed 15.02.2024].
- CHANDLER, C. I., JONES, C., BONIFACE, G., JUMA, K., REYBURN, H. & WHITTY, C. J. 2008. Guidelines and mindlines: why do clinical staff over-diagnose malaria in

- Tanzania? A qualitative study. *Malar J*, 7, 53.
- CHANG, S. L. & SHORTLIFFE, L. D. 2006. Pediatric urinary tract infections. *Pediatr Clin North Am*, 53, 379-400, vi.
- CHARREL, R. N. 2016. Diagnosis of arboviral infections--A quagmire of cross reactions and complexities. *Travel Med Infect Dis*, 14, 11-12.
- CHINKHUMBA, J., SKARBINSKI, J., CHILIMA, B., CAMPBELL, C., EWING, V., SAN JOAQUIN, M., SANDE, J., ALI, D. & MATHANGA, D. 2010. Comparative field performance and adherence to test results of four malaria rapid diagnostic tests among febrile patients more than five years of age in Blantyre, Malawi. *Malar J*, 9, 209.
- CHIODINI, P. L., BOWERS, K., JORGENSEN, P., BARNWELL, J. W., GRADY, K. K., LUCHAVEZ, J., MOODY, A. H., CENIZAL, A. & BELL, D. 2007. The heat stability of Plasmodium lactate dehydrogenase-based and histidine-rich protein 2-based malaria rapid diagnostic tests. *Trans R Soc Trop Med Hyg*, 101, 331-7.
- CHUANSUMRIT, A., CHAIYARATANA, W., PONGTHANAPISITH, V., TANGNARARATCHAKIT, K., LERTWONGRATH, S. & YOKSAN, S. 2008. The use of dengue nonstructural protein 1 antigen for the early diagnosis during the febrile stage in patients with dengue infection. *Pediatr Infect Dis J*, 27, 43-8.
- CLENDENNEN, T. E., 3RD, LONG, G. W. & BAIRD, J. K. 1995. QBC and Giemsa-stained thick blood films: diagnostic performance of laboratory technologists. *Trans R Soc Trop Med Hyg*, 89, 183-4.
- CLETON, N. B., GODEKE, G. J., REIMERINK, J., BEERSMA, M. F., DOORN, H. R., FRANCO, L., GOEIJENBIER, M., JIMENEZ-CLAVERO, M. A., JOHNSON, B. W., NIEDRIG, M., PAPA, A., SAMBRI, V., TAMI, A., VELASCO-SALAS, Z. I., KOOPMANS, M. P. & REUSKEN, C. B. 2015. Spot the difference--development of a syndrome based protein microarray for specific serological detection of multiple flavivirus infections in travelers. *PLoS Negl Trop Dis*, 9, e0003580.
- CORDEIRO, M. T. 2019. Laboratory diagnosis of Zika virus. *Top Magn Reson Imaging*, 28, 15-17.
- CUNNINGTON, A. J., NJIE, M., CORREA, S., TAKEM, E. N., RILEY, E. M. & WALTHER, M. 2012. Prolonged neutrophil dysfunction after Plasmodium falciparum malaria is related to hemolysis and heme oxygenase-1 induction. *J Immunol*, 189, 5336-46.
- D'ACREMONT, V. & GENTON, B. 2010. [Malaria: an endangered species?]. *Rev Med Suisse*, 6, 950-4.
- D'ACREMONT, V., KAHAMA-MARO, J., SWAI, N., MTASIWA, D., GENTON, B. & LENGELER, C. 2011. Reduction of anti-malarial consumption after rapid diagnostic tests implementation in Dar es Salaam: a before-after and cluster randomized controlled study. *Malar J*, 10, 107.
- D'ACREMONT, V., KILOWOKO, M., KYUNGU, E., PHILIPINA, S., SANGU, W., KAHAMA-MARO, J., LENGELER, C., CHERPILLOD, P., KAISER, L. & GENTON, B. 2014. Beyond malaria--causes of fever in outpatient Tanzanian children. *N Engl J Med*, 370, 809-17.
- DALRYMPLE, U., ARAMBEPOLA, R., GETHING, P. W. & CAMERON, E. 2018. How long do rapid diagnostic tests remain positive after anti-malarial treatment? *Malar J*, 17, 228.
- DAS, S., PECK, R. B., BARNEY, R., JANG, I. K., KAHN, M., ZHU, M. & DOMINGO, G. J. 2018. Performance of an ultra-sensitive Plasmodium falciparum HRP2-based rapid diagnostic test with recombinant HRP2, culture parasites, and archived whole blood samples. *Malar J*, 17, 118.
- DASGUPTA, S. 2018. Burden of climate change on malaria mortality. *Int J Hyg Environ Health*, 221, 782-791.

- DAUNER, A. L., GILLILAND, T. C., MITRA, I., PAL, S., MORRISON, A. C., HONTZ, R. D. & WU, S. L. 2015. Evaluation of nucleic acid stabilization products for ambient temperature shipping and storage of viral RNA and antibody in a dried whole blood format. *Am J Trop Med Hyg*, 93, 46-53.
- DAY, N. P., PHAM, T. D., PHAN, T. L., DINH, X. S., PHAM, P. L., LY, V. C., TRAN, T. H., NGUYEN, T. H., BETHELL, D. B., NGUYAN, H. P., TRAN, T. H. & WHITE, N. J. 1996. Clearance kinetics of parasites and pigment-containing leukocytes in severe malaria. *Blood*, 88, 4694-700.
- DEUTSCHER WETTERDIENST. 2018. *Klimatafel von Mwanza* [Online]. Deutscher Wetterdienst. Available: [https://www.dwd.de/DWD/klima/beratung/ak/ak\\_637560\\_kt.pdf](https://www.dwd.de/DWD/klima/beratung/ak/ak_637560_kt.pdf) [Accessed 12.05.2018].
- DOERN, C. D. & RICHARDSON, S. E. 2016. Diagnosis of Urinary Tract Infections in Children. *J Clin Microbiol*, 54, 2233-42.
- DUKE, T. 2016. New WHO guidelines on emergency triage assessment and treatment. *Lancet*, 387, 721-4.
- ECDC. 2019a. *Zika virus disease in Var department, France* [Online]. Available: <https://www.ecdc.europa.eu/sites/default/files/documents/RRA-Zika-France-16-Oct-2019-corrected.pdf> [Accessed 23.04.2023].
- ECDC, E. C. F. D. P. A. C. 2019b. *Epidemiological update: second case of locally acquired Zika virus disease in Hyères, France* [Online]. Available: <https://www.ecdc.europa.eu/en/news-events/epidemiological-update-second-case-locally-acquired-zika-virus-disease-hyeres-france> [Accessed 30.10.2019].
- ECKERT, T. 2019. Bedeutung respiratorischer Infektionen bei Malaria-ähnlichen Erkrankungen in Tansania. In: MAINZ, Z. F. K.-U. J. (ed.).
- EHRHARDT, S., BURCHARD, G. D., MANTEL, C., CRAMER, J. P., KAISER, S., KUBO, M., OTCHWEMAH, R. N., BIENZLE, U. & MOCKENHAUPT, F. P. 2006. Malaria, anemia, and malnutrition in african children--defining intervention priorities. *J Infect Dis*, 194, 108-14.
- ELTOM, K., ENAN, K., EL HUSSEIN, A. R. M. & ELKHIDIR, I. M. 2021. Dengue Virus Infection in Sub-Saharan Africa Between 2010 and 2020: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Front Cell Infect Microbiol*, 11, 678945.
- ESSER, H. J., MOGLING, R., CLETON, N. B., VAN DER JEUGD, H., SPRONG, H., STROO, A., KOOPMANS, M. P. G., DE BOER, W. F. & REUSKEN, C. 2019. Risk factors associated with sustained circulation of six zoonotic arboviruses: a systematic review for selection of surveillance sites in non-endemic areas. *Parasit Vectors*, 12, 265.
- FERREIRA, P., SOARES, R., RIBEIRO, A. & ARALA-CHAVES, M. 1988. Correlation between specific immunosuppression and polyclonal B cell activation induced by a protein secreted by *Streptococcus mutans*. *Scand J Immunol*, 27, 549-54.
- FISCHER, M., STAPLES, J. E., ARBOVIRAL DISEASES BRANCH, N. C. F. E. & ZOONOTIC INFECTIOUS DISEASES, C. D. C. 2014. Notes from the field: chikungunya virus spreads in the Americas - Caribbean and South America, 2013-2014. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*, 63, 500-1.
- FISCUS, S. A., BRAMBILLA, D., GROSSO, L., SCHOCK, J. & CRONIN, M. 1998. Quantitation of human immunodeficiency virus type 1 RNA in plasma by using blood dried on filter paper. *J Clin Microbiol*, 36, 258-60.
- FROESCHL, G., SAATHOFF, E., KROIDL, I., BERENS-RIHA, N., CLOWES, P., MABOKO, L., ASSISYA, W., MWALONGO, W., GERHARDT, M., NTINGINYA, E. N. & HOELSCHER, M. 2018. Reduction of malaria prevalence after introduction of artemisinin-combination-therapy in Mbeya Region, Tanzania: results from a cohort

- study with 6773 participants. *Malar J*, 17, 245.
- GARCIA, L. S. 2010. Malaria. *Clin Lab Med*, 30, 93-129.
- GHOSH, R. & HAZARIKA, N. K. 2018. Detection of anti-hepatitis C virus and hepatitis C virus RNA in dried blood spot specimens using Whatman No. 1 filter paper. *Indian J Med Microbiol*, 36, 230-235.
- GOULD, E. A., GALLIAN, P., DE LAMBALLERIE, X. & CHARREL, R. N. 2010. First cases of autochthonous dengue fever and chikungunya fever in France: from bad dream to reality! *Clin Microbiol Infect*, 16, 1702-4.
- GOURINAT, A. C., O'CONNOR, O., CALVEZ, E., GOARANT, C. & DUPONT-ROUZEYROL, M. 2015. Detection of Zika virus in urine. *Emerg Infect Dis*, 21, 84-6.
- GREENWOOD, B. M. 1974. Possible role of a B-cell mitogen in hypergammaglobulinaemia in malaria and trypanosomiasis. *Lancet*, 1, 435-6.
- GRIFFIN, J. T., HOLLINGSWORTH, T. D., REYBURN, H., DRAKELEY, C. J., RILEY, E. M. & GHANI, A. C. 2015. Gradual acquisition of immunity to severe malaria with increasing exposure. *Proc Biol Sci*, 282, 20142657.
- GRONDAHL, B., PUPPE, W., HOPPE, A., KUHNE, I., WEIGL, J. A. & SCHMITT, H. J. 1999. Rapid identification of nine microorganisms causing acute respiratory tract infections by single-tube multiplex reverse transcription-PCR: feasibility study. *J Clin Microbiol*, 37, 1-7.
- GUZMAN, M. G., JAENISCH, T., GACZKOWSKI, R., TY HANG, V. T., SEKARAN, S. D., KROEGER, A., VAZQUEZ, S., RUIZ, D., MARTINEZ, E., MERCADO, J. C., BALMASEDA, A., HARRIS, E., DIMANO, E., LEANO, P. S., YOKSAN, S., VILLEGAS, E., BENDUZU, H., VILLALOBOS, I., FARRAR, J. & SIMMONS, C. P. 2010. Multi-country evaluation of the sensitivity and specificity of two commercially-available NS1 ELISA assays for dengue diagnosis. *PLoS Negl Trop Dis*, 4.
- HAMER, D. H., NDHLOVU, M., ZUROVAC, D., FOX, M., YEBOAH-ANTWI, K., CHANDA, P., SIPILINYAMBE, N., SIMON, J. L. & SNOW, R. W. 2007. Improved diagnostic testing and malaria treatment practices in Zambia. *JAMA*, 297, 2227-31.
- HANG, V. T., NGUYET, N. M., TRUNG, D. T., TRICOU, V., YOKSAN, S., DUNG, N. M., VAN NGOC, T., HIEN, T. T., FARRAR, J., WILLS, B. & SIMMONS, C. P. 2009. Diagnostic accuracy of NS1 ELISA and lateral flow rapid tests for dengue sensitivity, specificity and relationship to viraemia and antibody responses. *PLoS Negl Trop Dis*, 3, e360.
- HANSCHIED, T. & GROBUSCH, M. P. 2002. How useful is PCR in the diagnosis of malaria? *Trends Parasitol*, 18, 395-8.
- HARCHUT, K., STANDLEY, C., DOBSON, A., KLAASSEN, B., RAMBAUD-ALTHAUS, C., ALTHAUS, F. & NOWAK, K. 2013. Over-diagnosis of malaria by microscopy in the Kilombero Valley, Southern Tanzania: an evaluation of the utility and cost-effectiveness of rapid diagnostic tests. *Malar J*, 12, 159.
- HARTLEY, M. A., HOFMANN, N., KEITEL, K., KAGORO, F., ANTUNES MONIZ, C., MLAGANILE, T., SAMAKA, J., MASIMBA, J., SAID, Z., TEMBA, H., GONZALEZ, I., FELGER, I., GENTON, B. & D'ACREMONT, V. 2020. Clinical relevance of low-density Plasmodium falciparum parasitemia in untreated febrile children: A cohort study. *PLoS Med*, 17, e1003318.
- HOF, H. 2009. *Duale Reihe. Medizinische Mikrobiologie*, Thieme.
- HOFMANN, N. E., ANTUNES MONIZ, C., HOLZSCHUH, A., KEITEL, K., BOILLAT-BLANCO, N., KAGORO, F., SAMAKA, J., MBARACK, Z., DING, X. C., GONZALEZ, I. J., GENTON, B., D'ACREMONT, V. & FELGER, I. 2019. Diagnostic Performance of Conventional and Ultrasensitive Rapid Diagnostic Tests for Malaria in Febrile Outpatients in Tanzania. *J Infect Dis*, 219, 1490-1498.

- HOU, J., YE, W. & CHEN, J. 2022. Current Development and Challenges of Tetravalent Live-Attenuated Dengue Vaccines. *Front Immunol*, 13, 840104.
- HOUBA, V., FAULK, W. P. & MATOLA, Y. G. 1974. Heterophilic antibodies in relation to malarial infection: population and experimental studies. *Clin Exp Immunol*, 18, 89-93.
- HUITS, R., OKABAYASHI, T., CNOPS, L., BARBE, B., VAN DEN BERG, R., BARTHOLOMEEUSEN, K., ARIEN, K. K., JACOBS, J., BOTTIEAU, E., NAKAYAMA, E. E., SHIODA, T. & VAN ESBROECK, M. 2018. Diagnostic accuracy of a rapid E1-antigen test for chikungunya virus infection in a reference setting. *Clin Microbiol Infect*, 24, 78-81.
- HUNSPERGER, E. A., YOKSAN, S., BUCHY, P., NGUYEN, V. C., SEKARAN, S. D., ENRIA, D. A., PELEGRINO, J. L., VAZQUEZ, S., ARTSOB, H., DREBOT, M., GUBLER, D. J., HALSTEAD, S. B., GUZMAN, M. G., MARGOLIS, H. S., NATHANSON, C. M., RIZZO LIC, N. R., BESSOFF, K. E., KLIKS, S. & PEELING, R. W. 2009. Evaluation of commercially available anti-dengue virus immunoglobulin M tests. *Emerg Infect Dis*, 15, 436-40.
- JEGEDE, F. E., OYEYI, T. I., ABDULRAHMAN, S. A., MBAH, H. A., BADRU, T., AGBAKWURU, C. & ADEDOKUN, O. 2017. Effect of HIV and malaria parasites co-infection on immune-hematological profiles among patients attending anti-retroviral treatment (ART) clinic in Infectious Disease Hospital Kano, Nigeria. *PLoS One*, 12, e0174233.
- JOHNSON, B. W., RUSSELL, B. J. & GOODMAN, C. H. 2016. Laboratory Diagnosis of Chikungunya Virus Infections and Commercial Sources for Diagnostic Assays. *J Infect Dis*, 214, S471-S474.
- JOSHI, R., COLFORD, J. M., JR., REINGOLD, A. L. & KALANTRI, S. 2008. Nonmalarial acute undifferentiated fever in a rural hospital in central India: diagnostic uncertainty and overtreatment with antimalarial agents. *Am J Trop Med Hyg*, 78, 393-9.
- KAAYA, R. D., MATOWO, J., KAJEGUKA, D., TENU, F., SHIRIMA, B., MOSHA, F. & KAVISHE, R. 2022. The Impact of Submicroscopic Parasitemia on Malaria Rapid Diagnosis in Northeastern Tanzania, an Area with Diverse Transmission Patterns. *Infect Dis Rep*, 14, 798-809.
- KAFAI, N. M. & ODOM JOHN, A. R. 2018. Malaria in Children. *Infect Dis Clin North Am*, 32, 189-200.
- KAJEGUKA, D. C., KAAYA, R. D., MWAKALINGA, S., NDOSSI, R., NDARO, A., CHILONGOLA, J. O., MOSHA, F. W., SCHIOLER, K. L., KAVISHE, R. A. & ALIFRANGIS, M. 2016. Prevalence of dengue and chikungunya virus infections in north-eastern Tanzania: a cross sectional study among participants presenting with malaria-like symptoms. *BMC Infect Dis*, 16, 183.
- KARIUKI NJENGA, M., NDERITU, L., LEDERMANN, J. P., NDIRANGU, A., LOGUE, C. H., KELLY, C. H. L., SANG, R., SERGON, K., BREIMAN, R. & POWERS, A. M. 2008. Tracking epidemic Chikungunya virus into the Indian Ocean from East Africa. *J Gen Virol*, 89, 2754-2760.
- KEITEL, K., KAGORO, F., SAMAKA, J., MASIMBA, J., SAID, Z., TEMBA, H., MLAGANILE, T., SANGU, W., RAMBAUD-ALTHAUS, C., GERVAIX, A., GENTON, B. & D'ACREMONT, V. 2017. A novel electronic algorithm using host biomarker point-of-care tests for the management of febrile illnesses in Tanzanian children (e-POCT): A randomized, controlled non-inferiority trial. *PLoS Med*, 14, e1002411.
- KOEDA, Y., TANAKA, F., SEGAWA, T., OHTA, M., OHSAWA, M., TANNO, K., MAKITA, S., ISHIBASHI, Y., ITAI, K., OMAMA, S. I., ONODA, T., SAKATA, K., OGASAWARA, K., OKAYAMA, A. & NAKAMURA, M. 2016. Comparison between urine albumin-to-creatinine ratio and urine protein dipstick testing for

- prevalence and ability to predict the risk for chronic kidney disease in the general population (Iwate-KENCO study): a prospective community-based cohort study. *BMC Nephrol*, 17, 46.
- KOLIOPOULOS, P., KAYANGE, N., JENSEN, C., GRONDAHL, B., EICHMANN, J., DANIEL, T., HUTH, F., ECKERT, T., KLAMM, N., FOLLMANN, M., MEDINA-MONTANO, G. C., HOKORORO, A., PRETSCH, L., KLUBER, J., SCHMIDT, C., ZUCHNER, A., ADDO, M. M., OKAMO, B., MSHANA, S. E. & GEHRING, S. 2024. Challenges in Diagnosing and Treating Acutely Febrile Children with Suspected Malaria at Health Care Facilities in the Lake Mwanza Region of Tanzania. *Am J Trop Med Hyg*, 110, 202-208.
- KOLIOPOULOS, P., KAYANGE, N. M., DANIEL, T., HUTH, F., GRONDAHL, B., MEDINA-MONTANO, G. C., PRETSCH, L., KLUBER, J., SCHMIDT, C., ZUCHNER, A., ULBERT, S., MSHANA, S. E., ADDO, M. & GEHRING, S. 2021. Multiplex-RT-PCR-ELISA panel for detecting mosquito-borne pathogens: Plasmodium sp. preserved and eluted from dried blood spots on sample cards. *Malar J*, 20, 66.
- KORBEL, L., HOWELL, M. & SPENCER, J. D. 2017. The clinical diagnosis and management of urinary tract infections in children and adolescents. *Paediatr Int Child Health*, 37, 273-279.
- KOTEPUI, M., PIWKHAM, D., PHUNPHUECH, B., PHIWKLAM, N., CHUPEERACH, C. & DUANGMANO, S. 2015. Effects of malaria parasite density on blood cell parameters. *PLoS One*, 10, e0121057.
- KRAMER, L. D., LI, J. & SHI, P. Y. 2007. West Nile virus. *Lancet Neurol*, 6, 171-81.
- KREIENBROCK L., S. S. 2000. *Epidemiologische Methoden 3. Auflage*, Heidelberg, Spektrum, Akademischer Verlag.
- KUBO, M. 2006. Der Einfluss von Hämoglobin S und C auf die Infektion mit Plasmodium falciparum –  
Epidemiologische und klinische Untersuchungen in einem hyperendemischen Malariagebiet in Nordghana  
. In: INSTITUT FÜR TROPENMEDIZIN BERLIN, C. (ed.). Berlin, Deutschland.
- KYAW, A. K., NGWE TUN, M. M., NAING, S. T., HTET, K. K. K., HTWE, T. T., KHAING, Y. Y., TU MAR, T., AUNG, T., WIN, K. N., TAR, T., AYE, K. S., THANT, K. Z. & MORITA, K. 2019. Evaluation of commercially available three dengue rapid diagnostic test kits for diagnosis of acute dengue virus infection at the point-of-care setting in Myanmar. *J Virol Methods*, 273, 113724.
- LABORLEXIKON. 2016. *Normalwerte des Blutbildes bei Kindern* [Online]. Available: [http://www.laborlexikon.de/Lexikon/Tabellen/17-Blutbild\\_Kinder.htm](http://www.laborlexikon.de/Lexikon/Tabellen/17-Blutbild_Kinder.htm) [Accessed].
- LAMB, L. E., BARTOLONE, S. N., KUTLUAY, S. B., ROBLEDO, D., PORRAS, A., PLATA, M. & CHANCELLOR, M. B. 2016. Advantage of urine based molecular diagnosis of Zika virus. *Int Urol Nephrol*, 48, 1961-1966.
- LANCIOTTI, R. S., KOSOY, O. L., LAVEN, J. J., PANELLA, A. J., VELEZ, J. O., LAMBERT, A. J. & CAMPBELL, G. L. 2007. Chikungunya virus in US travelers returning from India, 2006. *Emerg Infect Dis*, 13, 764-7.
- LANDRY, M. L. & ST GEORGE, K. 2017. Laboratory Diagnosis of Zika Virus Infection. *Arch Pathol Lab Med*, 141, 60-67.
- LELI, C., DI MATTEO, L., GOTTA, F., VAY, D., CAVALLO, V., MAZZEO, R., BUSO, S., CARRABBA, L. & ROCCHETTI, A. 2020. Clinical Utility of Platelet Count for Screening of Malaria. *New Microbiol*, 43, 89-92.
- LEUNG, A. K. C., WONG, A. H. C., LEUNG, A. A. M. & HON, K. L. 2019. Urinary Tract Infection in Children. *Recent Pat Inflamm Allergy Drug Discov*, 13, 2-18.
- LIU, L. T., DALIPANDA, T., JAGILLY, R., WANG, Y. H., LIN, P. C., TSAI, C. Y., LAI,

- W. T. & TSAI, J. J. 2018. Comparison of two rapid diagnostic tests during a large dengue virus serotype 3 outbreak in the Solomon Islands in 2013. *PLoS One*, 13, e0202304.
- LO, E., ZHOU, G., OO, W., AFRANE, Y., GITHEKO, A. & YAN, G. 2015. Low parasitemia in submicroscopic infections significantly impacts malaria diagnostic sensitivity in the highlands of Western Kenya. *PLoS One*, 10, e0121763.
- LYKE, K. E. 2017. Steady progress toward a malaria vaccine. *Curr Opin Infect Dis*, 30, 463-470.
- MA, J. F. & SHORTLIFFE, L. M. 2004. Urinary tract infection in children: etiology and epidemiology. *Urol Clin North Am*, 31, 517-26, ix-x.
- MANIMUNDA, S. P., VIJAYACHARI, P., UPPOOR, R., SUGUNAN, A. P., SINGH, S. S., RAI, S. K., SUDEEP, A. B., MURUGANANDAM, N., CHAITANYA, I. K. & GURUPRASAD, D. R. 2010. Clinical progression of chikungunya fever during acute and chronic arthritic stages and the changes in joint morphology as revealed by imaging. *Trans R Soc Trop Med Hyg*, 104, 392-9.
- MARX, A., PEWSNER, D., EGGER, M., NUESCH, R., BUCHER, H. C., GENTON, B., HATZ, C. & JUNI, P. 2005. Meta-analysis: accuracy of rapid tests for malaria in travelers returning from endemic areas. *Ann Intern Med*, 142, 836-46.
- MASIKA, W. G., O'MEARA, W. P., HOLLAND, T. L. & ARMSTRONG, J. 2017. Contribution of urinary tract infection to the burden of febrile illnesses in young children in rural Kenya. *PLoS One*, 12, e0174199.
- MATTOO, T. K., SHAIKH, N. & NELSON, C. P. 2021. Contemporary Management of Urinary Tract Infection in Children. *Pediatrics*, 147.
- MBONYE, A. K., MAGNUSSEN, P., LAL, S., HANSEN, K. S., CUNDILL, B., CHANDLER, C. & CLARKE, S. E. 2015. A Cluster Randomised Trial Introducing Rapid Diagnostic Tests into Registered Drug Shops in Uganda: Impact on Appropriate Treatment of Malaria. *PLoS One*, 10, e0129545.
- MENSAH, B. A., MYERS-HANSEN, J. L., OBENG AMOAKO, E., OPOKU, M., ABUAKU, B. K. & GHANSAH, A. 2021. Prevalence and risk factors associated with asymptomatic malaria among school children: repeated cross-sectional surveys of school children in two ecological zones in Ghana. *BMC Public Health*, 21, 1697.
- MESSINA, J. P., BRADY, O. J., SCOTT, T. W., ZOU, C., PIGOTT, D. M., DUDA, K. A., BHATT, S., KATZELNICK, L., HOWES, R. E., BATTLE, K. E., SIMMONS, C. P. & HAY, S. I. 2014. Global spread of dengue virus types: mapping the 70 year history. *Trends Microbiol*, 22, 138-46.
- MICHEL 2016. *Die Urologie*, Springer.
- MISHRA, N., NG, J., RAKEMAN, J. L., PERRY, M. J., CENTURIONI, D. A., DEAN, A. B., PRICE, A., THAKKAR, R., ANGUS, A. G., WILLIAMSON, P., DELWART, E., CARRINGTON, C., SAHADEO, N., CHE, X., BRIESE, T., TOKARZ, R. & LIPKIN, W. I. 2019. One-step pentaplex real-time polymerase chain reaction assay for detection of zika, dengue, chikungunya, West Nile viruses and a human housekeeping gene. *J Clin Virol*, 120, 44-50.
- MOODY, A. 2002. Rapid diagnostic tests for malaria parasites. *Clin Microbiol Rev*, 15, 66-78.
- MORI, R., LAKHANPAUL, M. & VERRIER-JONES, K. 2007. Diagnosis and management of urinary tract infection in children: summary of NICE guidance. *BMJ*, 335, 395-7.
- MORI, R., YONEMOTO, N., FITZGERALD, A., TULLUS, K., VERRIER-JONES, K. & LAKHANPAUL, M. 2010. Diagnostic performance of urine dipstick testing in children with suspected UTI: a systematic review of relationship with age and comparison with microscopy. *Acta Paediatr*, 99, 581-4.
- MUVUNYI, C. M., MASAISA, F., BAYINGANA, C., MUTESA, L., MUSEMAKWERI,

- A., MUHIRWA, G. & CLAEYS, G. W. 2011. Decreased susceptibility to commonly used antimicrobial agents in bacterial pathogens isolated from urinary tract infections in Rwanda: need for new antimicrobial guidelines. *Am J Trop Med Hyg*, 84, 923-8.
- NEPHROLOGIE, S. A. F. P. 2013. *Diagnose und Behandlung von Harnwegsinfektionen beim Kind* [Online]. Available: <https://www.paediatricschweiz.ch> [Accessed 23.04.2023].
- NIELSEN, H., KHARAZMI, A. & THEANDER, T. G. 1986. Suppression of blood monocyte and neutrophil chemotaxis in acute human malaria. *Parasite Immunol*, 8, 541-50.
- OCHOLA, L. B., VOUNATSOU, P., SMITH, T., MABASO, M. L. & NEWTON, C. R. 2006. The reliability of diagnostic techniques in the diagnosis and management of malaria in the absence of a gold standard. *Lancet Infect Dis*, 6, 582-8.
- OGI, M., SETO, T. & WAKABAYASHI, Y. 2022. A comparison of the utility of the urine dipstick and urine protein-to-creatinine ratio for predicting microalbuminuria in patients with non-diabetic lifestyle-related diseases -a comparison with diabetes. *BMC Nephrol*, 23, 377.
- OKABAYASHI, T., SASAKI, T., MASRINOUL, P., CHANTAWAT, N., YOKSAN, S., NITATPATTANA, N., CHUSRI, S., MORALES VARGAS, R. E., GRANDADAM, M., BREY, P. T., SOEGIJANTO, S., MULYANTNO, K. C., CHURROTIN, S., KOTAKI, T., FAYE, O., FAYE, O., SOW, A., SALL, A. A., PUIPROM, O., CHAICHANA, P., KUROSU, T., KATO, S., KOSAKA, M., RAMASOOTA, P. & IKUTA, K. 2015. Detection of chikungunya virus antigen by a novel rapid immunochromatographic test. *J Clin Microbiol*, 53, 382-8.
- OKARSKA-NAPIERALA, M., WASILEWSKA, A. & KUCHAR, E. 2017. Urinary tract infection in children: Diagnosis, treatment, imaging - Comparison of current guidelines. *J Pediatr Urol*, 13, 567-573.
- OLLIARO, P., DJIMDE, A., DORSEY, G., KAREMA, C., MARTENSSON, A., NDIAYE, J. L., SIRIMA, S. B., VAILLANT, M. & ZWANG, J. 2011. Hematologic parameters in pediatric uncomplicated Plasmodium falciparum malaria in sub-Saharan Africa. *Am J Trop Med Hyg*, 85, 619-25.
- ORGANIZATION, P. A. H. 2015. *Number of Reported Cases of Chikungunya Fever in the Americas, by Country or Territory 2013-2014* [Online]. Available: <https://www.paho.org/hq/dmdocuments/2015/2015-may-15-cha-CHIKV-cumulative-cases.pdf> [Accessed 29.10.2019].
- ORISH, V. N., ANSONG, J. Y., ONYEABOR, O. S., SANYAOLU, A. O., OYIBO, W. A. & IRIEMENAM, N. C. 2016. Overdiagnosis and overtreatment of malaria in children in a secondary healthcare centre in Sekondi-Takoradi, Ghana. *Trop Doct*, 46, 191-198.
- ORMUNDO, L. F., BARRETO, C. T. & TSURUTA, L. R. 2023. Development of Therapeutic Monoclonal Antibodies for Emerging Arbovirus Infections. *Viruses*, 15.
- OSORIO, L., RAMIREZ, M., BONELO, A., VILLAR, L. A. & PARRA, B. 2010. Comparison of the diagnostic accuracy of commercial NS1-based diagnostic tests for early dengue infection. *Virol J*, 7, 361.
- PAL, S., DAUNER, A. L., MITRA, I., FORSHEY, B. M., GARCIA, P., MORRISON, A. C., HALSEY, E. S., KOCHER, T. J. & WU, S. J. 2014. Evaluation of dengue NS1 antigen rapid tests and ELISA kits using clinical samples. *PLoS One*, 9, e113411.
- PEELING, R. W., ARTSOB, H., PELEGRINO, J. L., BUCHY, P., CARDOSA, M. J., DEVI, S., ENRIA, D. A., FARRAR, J., GUBLER, D. J., GUZMAN, M. G., HALSTEAD, S. B., HUNSPERGER, E., KLIKS, S., MARGOLIS, H. S., NATHANSON, C. M., NGUYEN, V. C., RIZZO, N., VAZQUEZ, S. & YOKSAN, S. 2010. Evaluation of diagnostic tests: dengue. *Nat Rev Microbiol*, 8, S30-8.
- PUPPE, W., WEIGL, J., GRONDAHL, B., KNUF, M., ROCKAHR, S., VON BISMARCK, P., ARON, G., NIESTERS, H. G., OSTERHAUS, A. D. & SCHMITT, H. J. 2013. Validation of a multiplex reverse transcriptase PCR ELISA for the detection of 19

- respiratory tract pathogens. *Infection*, 41, 77-91.
- PUPPE, W., WEIGL, J. A., ARON, G., GRONDAHL, B., SCHMITT, H. J., NIESTERS, H. G. & GROEN, J. 2004. Evaluation of a multiplex reverse transcriptase PCR ELISA for the detection of nine respiratory tract pathogens. *J Clin Virol*, 30, 165-74.
- RABASA, A. I. & GOFAMA, M. M. 2009. Urinary tract infection in febrile children in Maiduguri north eastern Nigeria. *Niger J Clin Pract*, 12, 124-7.
- REDDY, A., BOSCH, I., SALCEDO, N., HERRERA, B. B., DE PUIG, H., NARVAEZ, C. F., CAICEDO-BORRERO, D. M., LORENZANA, I., PARHAM, L., GARCIA, K., MERCADO, M., TURCA, A. M. R., VILLAR-CENTENO, L. A., GELVEZ-RAMIREZ, M., RIOS, N. A. G., HILEY, M., GARCIA, D., DIAMOND, M. S. & GEHRKE, L. 2020. Development and Validation of a Rapid Lateral Flow E1/E2-Antigen Test and ELISA in Patients Infected with Emerging Asian Strain of Chikungunya Virus in the Americas. *Viruses*, 12.
- REYBURN, H., MBATIA, R., DRAKELEY, C., CARNEIRO, I., MWAKASUNGULA, E., MWERINDE, O., SAGANDA, K., SHAO, J., KITUA, A., OLOMI, R., GREENWOOD, B. M. & WHITTY, C. J. 2004. Overdiagnosis of malaria in patients with severe febrile illness in Tanzania: a prospective study. *BMJ*, 329, 1212.
- REZZA, G., NICOLETTI, L., ANGELINI, R., ROMI, R., FINARELLI, A. C., PANNING, M., CORDIOLI, P., FORTUNA, C., BOROS, S., MAGURANO, F., SILVI, G., ANGELINI, P., DOTTORI, M., CIUFOLINI, M. G., MAJORI, G. C., CASSONE, A. & GROUP, C. S. 2007. Infection with chikungunya virus in Italy: an outbreak in a temperate region. *Lancet*, 370, 1840-6.
- RKI. 2019a. *Antworten auf häufig gestellte Fragen (FAQ): Zika-Virus Infektionen* [Online]. Available: <https://www.rki.de/SharedDocs/FAQ/Zikavirus/Zikavirus-Infektionen.html> [Accessed 23.04.2023].
- RKI 2019b. *Epidemiologisches Bulletin* 4/2019
- RKI. 2019c. *Epidemiologisches Bulletin Nr. 25* [Online]. Available: [https://www.rki.de/DE/Content/Infekt/EpidBull/Archiv/2019/Ausgaben/25\\_19.pdf?\\_\\_blob=publicationFile](https://www.rki.de/DE/Content/Infekt/EpidBull/Archiv/2019/Ausgaben/25_19.pdf?__blob=publicationFile) [Accessed 29.10.2019].
- RKI, R. K. I. 2004. *Arboviren – durch Arthropoden übertragbare Viren* [Online]. Available: <https://edoc.rki.de/bitstream/handle/176904/91/24Uaay5vzMZHnRE.pdf?sequence=1&isAllowed=y> [Accessed 28.10.2019].
- RKI, R. K. I. 2016. *Epidemiologisches Bulletin 20/2016* [Online]. Available: [https://www.rki.de/DE/Content/Infekt/EpidBull/Archiv/2016/Ausgaben/20\\_16.pdf?\\_\\_blob=publicationFile](https://www.rki.de/DE/Content/Infekt/EpidBull/Archiv/2016/Ausgaben/20_16.pdf?__blob=publicationFile) [Accessed 30.10.2019].
- RKI, R. K. I. 2020. *Infektionsepidemiologisches Jahrbuch meldepflichtiger Krankheiten für 2020* [Online]. Available: [https://www.rki.de/DE/Content/Infekt/Jahrbuch/Jahrbuch\\_2020.pdf?\\_\\_blob=publicationFile](https://www.rki.de/DE/Content/Infekt/Jahrbuch/Jahrbuch_2020.pdf?__blob=publicationFile) [Accessed].
- RKI, R. K. I. 2023a. *Antworten zu häufig gestellten Fragen zu Dengue und zur Impfung* [Online]. Available: <https://www.rki.de/SharedDocs/FAQ/Dengue/FAQ-Liste.html#:~:text=Der%20Impfstoff%20ist%20seit%20März,von%203%20Monaten%20verabreicht%20werden.> [Accessed 15.02.2024].
- RKI, R. K. I. 2023b. *Epidemiologisches Bulletin* [Online]. Available: [https://www.rki.de/DE/Content/Infekt/EpidBull/Archiv/2023/Ausgaben/48\\_23.pdf?\\_\\_blob=publicationFile](https://www.rki.de/DE/Content/Infekt/EpidBull/Archiv/2023/Ausgaben/48_23.pdf?__blob=publicationFile) [Accessed 09.02.2024].
- RKI, R. K. I. 2023c. *Epidemiologisches Bulletin* [Online]. Available: [https://www.rki.de/DE/Content/Infekt/EpidBull/Archiv/2023/Ausgaben/46\\_23.pdf?\\_\\_blob=publicationFile](https://www.rki.de/DE/Content/Infekt/EpidBull/Archiv/2023/Ausgaben/46_23.pdf?__blob=publicationFile) [Accessed 08.02.2024].
- ROBINSON, J. L., FINLAY, J. C., LANG, M. E., BORTOLUSSI, R., CANADIAN PAEDIATRIC SOCIETY, I. D. & IMMUNIZATION COMMITTEE, C. P. C. 2014.

- Urinary tract infections in infants and children: Diagnosis and management. *Paediatr Child Health*, 19, 315-25.
- ROBINSON, M. C. 1955. An epidemic of virus disease in Southern Province, Tanganyika Territory, in 1952-53. I. Clinical features. *Trans R Soc Trop Med Hyg*, 49, 28-32.
- ROSSATI, A., BARGIACCHI, O., KROUMOVA, V., ZARAMELLA, M., CAPUTO, A. & GARAVELLI, P. L. 2016. Climate, environment and transmission of malaria. *Infez Med*, 24, 93-104.
- RUBIO, J. M., BENITO, A., BERZOSA, P. J., ROCHE, J., PUENTE, S., SUBIRATS, M., LOPEZ-VELEZ, R., GARCIA, L. & ALVAR, J. 1999. Usefulness of seminested multiplex PCR in surveillance of imported malaria in Spain. *J Clin Microbiol*, 37, 3260-4.
- SALOMAO, C. A., SACARLAL, J., CHILUNDO, B. & GUDO, E. S. 2015. Prescription practices for malaria in Mozambique: poor adherence to the national protocols for malaria treatment in 22 public health facilities. *Malar J*, 14, 483.
- SCHLAGER, T. A. 2016. Urinary Tract Infections in Infants and Children. *Microbiol Spectr*, 4.
- SCHMIDT, B. & COPP, H. L. 2015. Work-up of Pediatric Urinary Tract Infection. *Urol Clin North Am*, 42, 519-26.
- SHU, P. Y. & HUANG, J. H. 2004. Current advances in dengue diagnosis. *Clin Diagn Lab Immunol*, 11, 642-50.
- SIBAL, A., PATWARI, A. K., ANAND, V. K., CHHABRA, A. K. & CHANDRA, D. 1996. Associated infections in persistent diarrhoea--another perspective. *J Trop Pediatr*, 42, 64-7.
- SIMMONS, C. P., FARRAR, J. J., NGUYEN V, V. & WILLS, B. 2012. Dengue. *N Engl J Med*, 366, 1423-32.
- SIMO, F. B. N., BIGNA, J. J., WELL, E. A., KENMOE, S., SADO, F. B. Y., WEAVER, S. C., MOUNDIPA, P. F. & DEMANOU, M. 2019. Chikungunya virus infection prevalence in Africa: a contemporaneous systematic review and meta-analysis. *Public Health*, 166, 79-88.
- SIMÕES E SILVA, A. C. & OLIVEIRA, E. A. 2015. Update on the approach of urinary tract infection in childhood. *J Pediatr (Rio J)*, 91, S2-10.
- SINGH, N., SAXENA, A. & VALECHA, N. 2000. Field evaluation of the ICT malaria P.f/P.v immunochromatographic test for diagnosis of Plasmodium falciparum and P.vivax infection in forest villages of Chhindwara, central India. *Trop Med Int Health*, 5, 765-70.
- SINGH, N., SHUKLA, M. M., SHUKLA, M. K., MEHRA, R. K., SHARMA, S., BHARTI, P. K., SINGH, M. P., SINGH, A. & GUNASEKAR, A. 2010. Field and laboratory comparative evaluation of rapid malaria diagnostic tests versus traditional and molecular techniques in India. *Malar J*, 9, 191.
- SMELLIE, J. M., POULTON, A. & PRESCOD, N. P. 1994. Retrospective study of children with renal scarring associated with reflux and urinary infection. *BMJ*, 308, 1193-6.
- SNOUNOU, G., VIRIYAKOSOL, S., ZHU, X. P., JARRA, W., PINHEIRO, L., DO ROSARIO, V. E., THAITHONG, S. & BROWN, K. N. 1993. High sensitivity of detection of human malaria parasites by the use of nested polymerase chain reaction. *Mol Biochem Parasitol*, 61, 315-20.
- SOUSA, C. A., CLAIROUIN, M., SEIXAS, G., VIVEIROS, B., NOVO, M. T., SILVA, A. C., ESCOVAL, M. T. & ECONOMOPOULOU, A. 2012. Ongoing outbreak of dengue type 1 in the Autonomous Region of Madeira, Portugal: preliminary report. *Euro Surveill*, 17.
- STEIN 2012. *Kinderurologie in Klinik und Praxis*, Springer.
- STRAUSS, J. H., STRAUSS, E. G. & KUHN, R. J. 1995. Budding of alphaviruses. *Trends*

- Microbiol*, 3, 346-50.
- SUBCOMMITTEE ON URINARY TRACT INFECTION, S. C. O. Q. I., MANAGEMENT & ROBERTS, K. B. 2011. Urinary tract infection: clinical practice guideline for the diagnosis and management of the initial UTI in febrile infants and children 2 to 24 months. *Pediatrics*, 128, 595-610.
- TANZANIA-NETWORK. 2022. *Vorläufige Ergebnisse der tansanischen Volkszählung 2022* [Online]. Available: <https://tanzania-network.de/aktuelles/zensus2022> [Accessed 24.04.2023].
- THIHA, A. & IBRAHIM, F. 2015. A Colorimetric Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) Detection Platform for a Point-of-Care Dengue Detection System on a Lab-on-Compact-Disc. *Sensors (Basel)*, 15, 11431-41.
- TRICOU, V., VU, H. T., QUYNH, N. V., NGUYEN, C. V., TRAN, H. T., FARRAR, J., WILLS, B. & SIMMONS, C. P. 2010. Comparison of two dengue NS1 rapid tests for sensitivity, specificity and relationship to viraemia and antibody responses. *BMC Infect Dis*, 10, 142.
- TUEKPRAKHON, A., NAKAYAMA, E. E., BARTHOLOMEEUSEN, K., PUIPROM, O., SASAKI, T., HUIITS, R., LUPLERTLOP, N., KOSOLTANAPIWAT, N., MANEEKAN, P., ARIEN, K. K., SHIODA, T. & LEAUNGWUTIWONG, P. 2018. Variation at position 350 in the Chikungunya virus 6K-E1 protein determines the sensitivity of detection in a rapid E1-antigen test. *Sci Rep*, 8, 1094.
- UNWIN, V. T., AHMED, R., NOVIYANTI, R., PUSPITASARI, A. M., UTAMI, R. A. S., TRIANTY, L., LUKITO, T., SYAFRUDDIN, D., POESPOPRODJO, J. R., SANTANA-MORALES, M. A., TER KUILE, F. O. & ADAMS, E. R. 2020. Use of a highly-sensitive rapid diagnostic test to screen for malaria in pregnancy in Indonesia. *Malar J*, 19, 28.
- VAN DEN HOOGEN, L. L., WALK, J., OULTON, T., REULING, I. J., REILING, L., BEESON, J. G., COPPEL, R. L., SINGH, S. K., DRAPER, S. J., BOUSEMA, T., DRAKELEY, C., SAUERWEIN, R. & TETTEH, K. K. A. 2018. Antibody Responses to Antigenic Targets of Recent Exposure Are Associated With Low-Density Parasitemia in Controlled Human Plasmodium falciparum Infections. *Front Microbiol*, 9, 3300.
- VARGHESE, J., DE SILVA, I. & MILLAR, D. S. 2023. Latest Advances in Arbovirus Diagnostics. *Microorganisms*, 11.
- VENTURI, G., DI LUCA, M., FORTUNA, C., REMOLI, M. E., RICCARDO, F., SEVERINI, F., TOMA, L., DEL MANSO, M., BENEDETTI, E., CAPORALI, M. G., AMENDOLA, A., FIORENTINI, C., DE LIBERATO, C., GIAMMATTEI, R., ROMI, R., PEZZOTTI, P., REZZA, G. & RIZZO, C. 2017. Detection of a chikungunya outbreak in Central Italy, August to September 2017. *Euro Surveill*, 22.
- VIGLIETTA, M., BELLONE, R., BLISNICK, A. A. & FAILLOUX, A. B. 2021. Vector Specificity of Arbovirus Transmission. *Front Microbiol*, 12, 773211.
- VU, D. M., JUNGKIND, D. & ANGELLE DESIREE, L. 2017. Chikungunya Virus. *Clin Lab Med*, 37, 371-382.
- WANG, S. M. & SEKARAN, S. D. 2010. Early diagnosis of Dengue infection using a commercial Dengue Duo rapid test kit for the detection of NS1, IGM, and IGG. *Am J Trop Med Hyg*, 83, 690-5.
- WATSON, O. J., SUMNER, K. M., JANKO, M., GOEL, V., WINSKILL, P., SLATER, H. C., GHANI, A., MESHNICK, S. R. & PARR, J. B. 2019. False-negative malaria rapid diagnostic test results and their impact on community-based malaria surveys in sub-Saharan Africa. *BMJ Glob Health*, 4, e001582.
- WATTS, A. G., MINIOTA, J., JOSEPH, H. A., BRADY, O. J., KRAEMER, M. U. G., GRILLS, A. W., MORRISON, S., ESPOSITO, D. H., NICOLUCCI, A., GERMAN,

- M., CREATORE, M. I., NELSON, B., JOHANSSON, M. A., BRUNETTE, G., HAY, S. I., KHAN, K. & CETRON, M. 2017. Elevation as a proxy for mosquito-borne Zika virus transmission in the Americas. *PLoS One*, 12, e0178211.
- WEAVER, S. C. & LECUIT, M. 2015. Chikungunya virus and the global spread of a mosquito-borne disease. *N Engl J Med*, 372, 1231-9.
- WHITE, N. J. 2018. Anaemia and malaria. *Malar J*, 17, 371.
- WHITEHORN, J. & YACOB, S. 2019. Global warming and arboviral infections. *Clin Med (Lond)*, 19, 149-152.
- WHITING, P., WESTWOOD, M., BOJKE, L., PALMER, S., RICHARDSON, G., COOPER, J., WATT, I., GLANVILLE, J., SCULPHER, M. & KLEIJNEN, J. 2006. Clinical effectiveness and cost-effectiveness of tests for the diagnosis and investigation of urinary tract infection in children: a systematic review and economic model. *Health Technol Assess*, 10, iii-iv, xi-xiii, 1-154.
- WHO, W. H. O. 2012. *World Malaria Report 2012* [Online]. Available: <https://www.who.int/publications/i/item/9789241564533> [Accessed 28.02.2024].
- WHO, W. H. O. 2015. *Guidelines for the treatment of malaria* [Online]. Italy. Available: [https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/162441/9789241549127\\_eng.pdf?sequence=1](https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/162441/9789241549127_eng.pdf?sequence=1) [Accessed 2019].
- WHO, W. H. O. 2016. *Laboratory testing for Zika virus infection* [Online]. Available: [https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/204671/WHO\\_ZIKV\\_LAB\\_16.1\\_eng.pdf?sequence=1](https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/204671/WHO_ZIKV_LAB_16.1_eng.pdf?sequence=1) [Accessed 30.10.2019].
- WHO, W. H. O. 2017. *Dengue Control. Epidemiology* [Online]. Available: <https://www.who.int/denguecontrol/epidemiology/en/> [Accessed 29.10.2019].
- WHO, W. H. O. 2018a. *United Republic of Tanzania (Mainland)* [Online]. Available: [https://www.who.int/malaria/publications/country-profiles/profile\\_tz2\\_en.pdf?ua=1](https://www.who.int/malaria/publications/country-profiles/profile_tz2_en.pdf?ua=1) [[Accessed 2019].
- WHO, W. H. O. 2018b. *World Malaria Report* [Online]. Geneva. Available: <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/275867/9789241565653-eng.pdf?ua=1> [Accessed 2019].
- WHO, W. H. O. 2018c. *Zika Virus* [Online]. Available: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/zika-virus> [Accessed 30.10.2019].
- WHO, W. H. O. 2019a. *Dengue control. What is dengue?* [Online]. Available: <https://www.who.int/denguecontrol/disease/en/> [Accessed 19.10.2019].
- WHO, W. H. O. 2019b. *Malaria* [Online]. Available: <https://www.who.int/malaria/en/> [Accessed 2019].
- WHO, W. H. O. 2022a. *Chikungunya* [Online]. Available: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/chikungunya> [Accessed 15.02.2024].
- WHO, W. H. O. 2022b. *Countries and territories with current or previous Zika virus transmission* WHO.
- WHO, W. H. O. 2022c. *World Malaria Report 2022* [Online]. Available: <https://play.google.com/books/reader?id=ST-hEAAAQBAJ&pg=GBS.PR6&hl=de> [Accessed 2021].
- WHO, W. H. O. 2022d. *Zika epidemiology update - February 2022* [Online]. Available: <https://www.who.int/publications/m/item/zika-epidemiology-update---february-2022> [Accessed 15.02.2024].
- WHO, W. H. O. 2023a. *Dengue - Global Situation* [Online]. Available: <https://www.who.int/emergencies/disease-outbreak-news/item/2023-DON498> [Accessed 09.02.2024].
- WHO, W. H. O. 2023b. *Dengue and severe Dengue* [Online]. Available: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/dengue-and-severe-dengue> [Accessed 09.02.2024].

- WHO, W. H. O. 2023c. *World Malaria Report 2023* [Online]. Available: <https://www.who.int/teams/global-malaria-programme/reports/world-malaria-report-2023> [Accessed 30.11.2023 08.02.2024].
- WILLIAMS, G. J., MACASKILL, P., CHAN, S. F., TURNER, R. M., HODSON, E. & CRAIG, J. C. 2010. Absolute and relative accuracy of rapid urine tests for urinary tract infection in children: a meta-analysis. *Lancet Infect Dis*, 10, 240-50.
- WILSON, R. J. & PHILLIPS, R. S. 1976. Method to test inhibitory antibodies in human sera to wild populations of *Plasmodium falciparum*. *Nature*, 263, 132-4.
- WORKU, L., DAMTIE, D., ENDRIS, M., GETIE, S. & AEMERO, M. 2014. Asymptomatic Malaria and Associated Risk Factors among School Children in Sanja Town, Northwest Ethiopia. *Int Sch Res Notices*, 2014, 303269.
- YAZDANI, S. S., MUKHERJEE, P., CHAUHAN, V. S. & CHITNIS, C. E. 2006. Immune responses to asexual blood-stages of malaria parasites. *Curr Mol Med*, 6, 187-203.
- YIMAM, Y., MOHEBALI, M. & ABBASZADEH AFSHAR, M. J. 2022. Comparison of diagnostic performance between conventional and ultrasensitive rapid diagnostic tests for diagnosis of malaria: A systematic review and meta-analysis. *PLoS One*, 17, e0263770.
- ZEANA, C., KELLY, P., HEREDIA, W., CIFUENTES, A., FRANCHIN, G., PURSWANI, M., TIENG, A. & HAGMANN, S. H. F. 2016. Post-chikungunya rheumatic disorders in travelers after return from the Caribbean. *Travel Med Infect Dis*, 14, 21-25.
- ZORC, J. J., KIDDOO, D. A. & SHAW, K. N. 2005. Diagnosis and management of pediatric urinary tract infections. *Clin Microbiol Rev*, 18, 417-22.