

Aus dem Institut für Tropenmedizin und Internationale
Gesundheit der Medizinischen Fakultät Charité –
Universitätsmedizin Berlin

DISSERTATION

Prävalenz, Risikofaktoren und Manifestation von
Polyparasitismus bei Schulkindern in Ruanda
mit besonderer Betrachtung von Artemisinin-Resistenz bei
Plasmodium falciparum

zur Erlangung des akademischen Grades
Doctor medicinae (Dr. med.)

vorgelegt der Medizinischen Fakultät
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Dominik Theodor Wilhelm Geus

aus Leverkusen

Datum der Promotion: 17.09.2021

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis	1
Abstract	2
Abstract auf Deutsch	2
Abstract auf Englisch	3
Manteltext	5
1. Einleitung	5
2. Methodik	8
2.1. Lokalisation, Studienpopulation und Studiendesign	8
2.2. Datenerhebung und Untersuchung der Schulkinder	9
2.3. Labortechnische Untersuchungen der Blut- und Stuhlproben	10
2.4. Resistenzanalyse von <i>Plasmodium falciparum</i> Isolaten	11
2.5. Statistische Analyse	12
3. Ergebnisse	13
3.1. Studienpopulation, Prävalenzen und klinische Manifestation bei Infektion mit <i>Plasmodium spp.</i>	13
3.2. Studienpopulation, Prävalenzen und klinische Manifestation bei Koinfektionen	14
3.2.1. Assoziationen und Risikofaktoren von Infektionen mit <i>A.</i> <i>lumbricoides</i> , <i>G. duodenalis</i> und <i>Plasmodium spp.</i>	14
3.2.2. Klinische Manifestation von Mono- bzw. Koinfektionen im Vergleich zu nichtinfizierten Kindern	15
3.2.3. Klinische Manifestation von Koinfektionen im Vergleich zu Monoinfektionen mit <i>A. lumbricoides</i> , <i>G. duodenalis</i> und <i>Plasmodium spp.</i>	16
3.3. Artemisinin-Resistenz assoziierte Polymorphismen von <i>Plasmodium</i> <i>falciparum</i>	17
4. Diskussion	17
5. Literaturverzeichnis	24
Eidesstattliche Versicherung	30
Anteilerklärung an den erfolgten Publikationen	32
Druckexemplare der ausgewählten Publikationen	34
Lebenslauf	67
Komplette Publikationsliste	69
Danksagung	70

Abkürzungsverzeichnis

Abb.	Abbildung
BAZ	BMI-zu-Alter Verhältnis ("BMI-for-Age Z-score")
BMI	Körpermasseindex („Body-Mass-Index“)
bzw	beziehungsweise
°C	Celsius-Temperatur
Ct	Schwellenwertzyklus ("Threshold cycle")
DNS	Desoxyribonukleinsäure
g/dl	Gramm pro Deziliter
HAZ	Größe-zu-Alter Verhältnis ("Height-for-Age Z-score")
Hb	Hämoglobin
i.d.R.	in der Regel
e.g.	zum Beispiel („exempli gratia“)
K13	Kelch 13
KI	Konfidenzintervall
m	Meter
mm	Millimeter
MUAC	Umfang des mittleren Oberarms ("Children's Mid Upper Arm Circumference")
OR	Chance („Odd's Ratio“)
PCR	Polymerase-Kettenreaktion
PhHV-1	Phocines-Herpesvirus-1
µL	Mikroliter
SD	Standardabweichung
SNP	Einzelnukleotid-Polymorphismus ("Single Nucleotide Polymorphism")
spp.	Spezies
SSA	Subsahara-Afrika
STH	Geohelminthen ("Soil transmitted helminth")
Supp. Tabelle	Ergänzende Tabelle ("Supplementary")
u.a.	unter anderem
WAZ	Gewicht-zu-Alter Verhältnis ("Weight-for-Age Z-score")

Abstract

Abstract auf Deutsch

Hintergrund: Infektionen mit *Plasmodium spp.*, *Ascaris lumbricoides* und *Giardia duodenalis* sind häufig bei Schulkindern in Subsahara Afrika. Die Datenlage bezüglich der Epidemiologie und der klinischer Manifestation von Koinfektionen stellt sich jedoch unzureichend dar. Während der Einfluss von Malaria auf die kindliche Gesundheit bekannt ist, erhalten Akut- und Langzeitauswirkungen von asymptomatisch erscheinenden *Plasmodium*-Infektionen erst neuerlich Beachtung. Aufkommende Artemisinin-Resistenzen gefährden neuere Erfolge von Malaria-Kontrollprogrammen. Die Kelch 13 (K13) Propeller-Domäne von *Plasmodium falciparum* wird mit Artemisinin-Resistenz in Verbindung gebracht.

Methoden: Im Jahr 2014 wurden 1089 Schulkinder im Alter von 6-10 Jahren, welche 12 Schulen im Huye-Bezirk Ruandas besuchten, klinisch sowie anthropometrisch untersucht, Daten bezüglich der individuellen medizinischen Vorgeschichte und Sozioökonomie eingeholt sowie deren Blut- und Stuhlproben gesammelt. Die Bestimmung von *Plasmodium spp.*, *A. lumbricoides* und *G. duodenalis* Infektionen erfolgte durch Mikroskopie und PCR-Verfahren. Weiterführend wurden insgesamt 222 *Plasmodium falciparum* Isolate von Kindern des Huye-Bezirk aus den Jahren 2010, 2014 und 2015 mit der Frage nach einer möglichen Präsenz von K13-Polymorphismen untersucht.

Ergebnisse: Die Mehrheit der 1089 Schulkinder waren asymptomatisch (Fieber 2,7%) am Untersuchungstag. *Plasmodium spp.* konnte in 22,4% (davon 41% submikroskopische Infektionen) der Fälle detektiert werden. *Plasmodium spp.* zeigte sich assoziiert mit Anämie, Fieber, Untergewicht, klinischer Mangelernährung sowie weiterer unspezifischer, Symptome, in der medizinischen Vorgeschichte (u.a. Müdigkeit, Schwäche, Erbrechen). Mit der Ausnahme von Untergewicht imponierten diese Beschwerden ebenso im Falle von submikroskopischen Infektionen. Bezüglich der Prävalenz, Risikofaktoren und Auswirkungen von Koinfektionen lagen vollständige Datensätze für 878 der Kinder vor. *Plasmodium spp.*, *A. lumbricoides* und *G. duodenalis* waren präsent in 22%, 35% und 36% der Kinder, 24% wiesen Koinfektionen mit zwei oder mehr Parasiten auf.

Assoziierte Risikofaktoren für Koinfektionen spiegelten vor allem einen niedrigen soziökonomischen Status wider. Viele der erhobenen und beschriebenen Symptome waren mit einer *Plasmodium*-Infektion assoziiert, und Koinfektionen modifizierten kaum das klinische Erscheinungsbild. Desweiteren konnten 2014 und 2015 2,5% bzw. 4,5% *K13*-Polymorphismen von *P. falciparum* detektiert werden, während dies 2010 nicht der Fall war. Zwei Isolate zeigten *K13*-Mutationen (P574L und A675V), welche mit verzögerter Parasitenelimination von Artemisinin-Behandlung einhergehen.

Schlussfolgerung: Polyparasitismus ist häufig unter ruandischen Schulkindern. Während die Manifestation vor allem durch *Plasmodium spp.* dominiert wird, präsentieren die meisten Kinder unspezifische Symptome, welche dennoch die Langzeitentwicklung der Kinder beeinflussen. Neu detektierte *K13*-Polymorphismen mit Assoziation zu Artemisinin-Resistenz gefährden die Gesundheit der Kinder zudem. Die Ergebnisse bilden eine Grundlage für verbesserte schulbasierte Gesundheitsprogramme bei Schulkindern in Ruanda.

Abstract auf Englisch

Background: Infections with *Plasmodium spp.*, *Ascaris lumbricoides* and *Giardia duodenalis* are common among school-aged children in sub-Saharan Africa. Data on the epidemiology and clinical manifestation of co-infections are rare, and while the impact of malaria on children's health is well known, acute and long-term impairments from supposedly asymptomatic infections with *Plasmodium spp.* are increasingly recognized. The emergence of artemisinin resistance endangers the previous achievements of malaria control programs. Mutations in the *Plasmodium falciparum* Kelch 13 (*K13*) propeller domain are considered to confer artemisinin resistance.

Methods: In 2014, 1,089 schoolchildren aged 6–10 years attending 12 schools in the Huye district of Rwanda were clinically and anthropometrically examined. Data on the children's socioeconomic status and medical history were obtained and their blood and stool samples were collected. Infections with *Plasmodium spp.*, *A. lumbricoides* and *G. duodenalis* were determined by microscopy and PCR assays. Furthermore, 222 samples of *Plasmodium falciparum* isolated from the region in 2010, 2014, and 2015 were investigated for the presence of *K13* polymorphism.

Results: The majority of the 1,089 schoolchildren were asymptomatic (fever 2.7%) upon examination. *Plasmodium spp.* was detected in 22.4% (41% submicroscopic infections) of children. Associated with *Plasmodium spp.* infection were anemia, fever, underweight, and clinically assessed malnutrition in addition to nonspecific symptoms (i.e. tiredness, weakness, vomiting) in the children's medical history. Except for underweight, these conditions were also increased in submicroscopic infections. Considering the prevalence and implications of co-infections, full data on infection status were available for 878 children. *Plasmodium spp.*, *A. lumbricoides*, and *G. duodenalis* were present in 22%, 35%, and 36% of children, respectively; 24% of children had co-infections with two or more parasites. The factors associated with parasite infections largely overlapped and reflected low socioeconomic status. Many of the reported and assessed signs and symptoms were associated with *Plasmodium spp.*, and co-infections did not modify the clinical picture significantly. Furthermore, in 2014 and 2015, *K13* polymorphisms were detected in 2.5% and 4.5% (none in 2010) of the children, respectively. Two isolates showed *K13* resistance mutations (P574L and A675V) associated with delayed parasite clearance.

Conclusion: Polyparasitism is common in Rwandan schoolchildren. While the clinical manifestation is predominated by *Plasmodium* infection, most children seem asymptomatic or present nonspecific symptoms that may nevertheless affect their long-term development. Emerging *K13* polymorphisms associated with artemisinin resistance may aggravate the impact on children's health. The results form the basis for improved school-based health programs for children in Rwanda.

Beide Versionen des Abstracts sowie der Manteltext selbst folgen in modifizierter Form grundlegend, soweit nicht anders benannt, den drei hier zu Dissertationzwecken vorgelegten Publikationen¹⁻³

Manteltext

1. Einleitung

Hohe Prävalenzen von *Plasmodium spp.*, Geohelminthen („*soil-transmitted helminths*“, *STHs*) und *Giardia duodenalis* zeigen sich insbesondere im Schulkindalter in vielen Regionen Subsahara Afrikas (SSA). In vorangegangenen Studien im Huye-Bezirk Ruandas imponierte eines von sechs getesteten Schulkindern durch eine Infektion mit *Plasmodium falciparum*. Der Großteil der Kinder zeigte asymptomatische sowie submikroskopische Infektionen⁴. Die Bedeutung von asymptomatischen und submikroskopischen Infektionen mit *P. falciparum* bei Schulkindern wird zunehmend gewürdigt⁴⁻¹¹. Weiterhin zeigten in vorangegangenen Studien im Huye-Bezirk rund ein Drittel der getesteten Schulkinder Infektionen mit *STHs* oder *G. duodenalis*^{12, 13}. Unter den *STHs* war *Ascaris lumbricoides* der am häufigsten vorkommende Erreger in der Region¹³.

Während sich *A. lumbricoides*, *G. duodenalis* und *Plasmodium spp.* teilweise hinsichtlich sozioökonomischer und verhaltensbezogener Risikofaktoren ähneln, bleibt die Modulation der manifesten Symptomatik aufgrund von Erregerinteraktion nahezu unverstanden^{4, 14-20}.

Insbesondere der Malariaerreger besticht durch seine hohe Morbidität und Mortalität im Kindesalter²¹. Durch die Implementierung von Artemisinin-basierten Kombinationspräparaten zeigte sich in den letzten Jahren eine Reduktion der Malaria in Ruanda²². Während in Südostasien aufkommende Artemisinin-Resistenzen bereits gehäuft gezeigt werden konnten²³, stellen diese auch eine Gefahr für SSA dar. Entsprechend bedürfen mögliche neue Artemisinin-Resistenzen in der Region Afrikas besonderer Betrachtung.

Im Folgenden sollen die spezifischen Hintergründe der sich hieraus ergebenden Fragestellungen detaillierter dargelegt werden.

Plasmodium spp. zeigt eine große Variabilität in der klinischen Manifestation. Eine partielle Immunität gegenüber dem Malariaerreger entwickelt sich vor allem in endemischen Gebieten als Folge wiederholter Exposition⁷. Insbesondere Kinder im Schulalter zeigen hohe Raten an submikroskopischen und asymptomatischen Infektionen^{5, 24-26}. Die meisten jener

Infektionen bleiben unerkannt und unbehandelt,^{26, 27} obwohl deren Bedeutung für Immunantwort, Anämie, mögliche kognitive Defizite und verzögerte physische Entwicklung bereits beschrieben wurde^{4, 5, 10, 11, 27-31}.

Zudem tendieren submikroskopische Infektionen zu längerer Persistenz im Organismus, weshalb sie besonders in niedrig-endemischen Gebieten als Reservoir der Transmission betrachtet werden^{6, 7, 24, 32}. Bisher waren keine Daten vorhanden, welche die epidemiologischen Aspekte der asymptomatischen bzw. submikroskopischen Infektionen mit *Plasmodium spp.* bei Schulkindern in der hypo- bis mesoendemischen Region in Ruanda beschreiben³³.

Ebenso wie bei *Plasmodium spp.* zeigt eine *G. duodenalis*-Infektion individuelle Unterschiede im Bezug auf ihre klinische Manifestation. Eine Infektion erfolgt durch Aufnahme der widerstandsfähigen Zysten aus der Umwelt mit Freigabe der Trophozoiten im Dünndarm³⁴. Mögliche Symptome können Mangelernährung, Anämie, akute oder chronische gastrointestinale Symptome oder reduzierte kognitive Fähigkeiten sein^{18, 34-37}. Gänzlich asymptomatische Verläufe sind insbesondere in Hochendemiegebieten nicht selten³⁴. Hohe Prävalenzen von *G. duodenalis* finden sich insbesondere im Schul- und Vorschulalter¹². Nicht zuletzt scheint die Manifestation ebenso von Endemizität wie von Mono- bzw. Koinfektionen abhängig zu sein^{12, 38}.

Auch *A. lumbricoides*, der global häufigste *STH*, zeigt ein gehäuftes Vorkommen im Vorschul- und Schulkindalter³⁹. Weiterhin zählen *Trichuris trichiura*, *Ancylostoma duodenale* und *Necator americanus* zu der Gruppe¹³. Die Erreger ähneln sich im Transmissionsweg *via* fäkal kontaminierter Erde. Sie gelten als Verursacher von Mangelernährung sowie reduzierter physischer und kognitiver Entwicklung^{13, 15, 40}.

Aufgrund der hohen Prävalenz in gleichen Altersgruppen liegen Wechselwirkungen zwischen *Plasmodium spp.* und *STH* Infektionen nahe, werden aber kontrovers diskutiert. Neuere Metaanalysen zeigen bei Kindern mit entsprechender Koinfektion Hinweise auf einen weniger symptomatischen oder komplikationsloseren Verlauf, insbesondere hinsichtlich der Malaria-induzierten Anämie⁴¹. Einzelne Studien im Hinblick auf Anämie erbringen jedoch für die Koinfektion von *A. lumbricoides* und *Plasmodium spp.* weniger klare Aussagen⁴²⁻⁴⁴.

Weiterhin sind Erbrechen, Diarrhoe und Untergewicht Symptome einer Infektion mit *Plasmodium spp.* als auch einer Infektion mit *G. duodenalis*^{1, 34},

³⁵. Der jeweilige Beitrag der beiden im Rahmen einer Koinfektion bleibt jedoch unklar.

Assoziationen mit geringen sozioökonomischen Lebensverhältnissen und Hygienestandards sowie ähnliche Transmissionswege sind für *A. lumbricoides* sowie *G. duodenalis* beschrieben. Während sich die Risikofaktoren der Erreger teils ähneln und teils überlappen, stellen Koinfektionen selbst einen Risikofaktor für weitere Infektionen da ⁴⁵. Entsprechend stellt sich die Frage nach einer möglichen Modifikation der klinischen Manifestation bei Koinfektionen.

Hohe Infektionsraten in den gleichen Altersgruppen, sowie der gemeinschaftliche Effekt der Erreger auf physische sowie kognitive Langzeitauswirkungen zeigen die besondere Bedeutung für das Gesundheitssystem der Region auf. Speziell in Ruanda zeigte sich aufgrund der Implementierung von Artemisinin-basierten Kombinationspräparaten zur Behandlung der Malaria seit dem Jahr 2005 eine Reduktion der Mortalität und Morbidität ²². Eine Konsequenz der erfolgreichen Implementierung des Malariakontrollprogrammes ist die Reduktion der Endemizität. Eine andere ist die Zunahme von submikroskopischen Infektionen ⁶. Die möglichen Auswirkungen auf die physische und psychische Gesundheit der Kinder wurde bereits besprochen. Darüber hinaus könnten aufkommende Artemisinin-Resistenzen bei *P. falciparum*, wie bereits in Südostasien etabliert ^{23, 46, 47}, die grundlegenden Erfolge gefährden.

Wenn auch selten, werden Fälle von Artemisinin-Resistenzen bereits in Subsahara Afrika beschrieben, so zum Beispiel bei drei Patienten in Uganda ⁴⁸.

Vor allem genetische Varianten der Kelch 13 (*K13*) Propeller Region wurde in den letzten Jahren als molekularer Marker bei Artemisinin-Resistenz des *P. falciparum* Erregers beschrieben und für Monitoring und Screening Methoden verwendet ⁴⁹.

Die *K13* Region kodiert für ein Kelch Protein, welches eine bedeutende Rolle im Artemisinin-Resistenzmechanismus bei *P. falciparum* zu spielen scheint ⁵⁰. Die „ring-stage survival assay“ Methode stellt ein *in-vitro* Verfahren zur Charakterisierung von Artemisinin-Resistenz dar, und die Ergebnisse dieses Verfahrens sind oftmals mit *K13*-Mutationen von *P. falciparum* assoziiert ⁵¹. Mittlerweile sind rund 200 nicht-synonyme *K13*-Mutationen identifiziert ²³. Die WHO bezieht eine deutliche Stellung bezüglich *K13*-Mutationen und deren

Rolle als Marker für verspätete Parasitenelimination und Resistenz²³. Sie differenziert unter anderem die sogenannten „validierten“ von „Kandidaten“-Markern. Als validierter Marker gelten Mutationen, welche in klinischen Studien mit reduzierter Parasitenelimination einhergehen sowie eine reduzierte *in-vitro* Sensitivität zeigen. Falls sich eine *K13*-Mutation einzig durch verzögerte Parasitenelimination in klinischen Studien auszeichnet ohne den Nachweis von reduzierter Sensitivität *in-vitro*, werden diese Mutationen als „Kandidaten“-Mutationen bezeichnet. Während *K13 C580Y* die weltweit häufigste validierte Mutation für Artemisinin-Resistenz darstellt⁵², gehören zur Liste potentieller Kandidaten weiterhin *P574L* und *A675V*²³. Jedoch befindet sich die Liste möglicher Artemisinin-Resistenz assoziierter Mutationen im ständigem Wandel.

Die hier vorgelegte Arbeit zielt auf die Darlegung der jeweiligen Prävalenz von *Plasmodium spp.*, insbesondere submikroskopischer Infektionen, sowie von *G. duodenalis* und *A. lumbricoides* bei Schulkindern aus Ruanda ab. Dabei liegt das Hauptaugenmerk auf der klinischen Manifestation von submikroskopischen *Plasmodium*-Infektionen sowie auf die Modifikation der Symptomatik bei Koinfektionen mit den drei Erregern. Weitergehend soll die Fragestellung nach möglichen Artemisinin-Resistenzen in der Region im zeitlichen Verlauf zwischen 2010-2015 betrachtet werden. Entsprechende Daten stammen aus drei Querschnittsstudien aus den Jahren 2010, 2014 und 2015 mit Kindern unter 5 Jahren bzw. zwischen 6-10 Jahren des Huye-Bezirk aus der südlichen Region Ruandas.

2. Methodik

2.1. Lokalisation, Studienpopulation und Studiendesign

Den Fokus der Studien bildet der Huye-Bezirk der südlichen Provinz Ruandas. Dieser befindet sich auf Ruandas Zentralplateau und beherbergt ca. 330.000 Einwohner (Höhe 1600-1800 m, Durchschnittstemperatur ca. 19°C mit einem jährlichen Regenfall von 1200 mm). *P. falciparum* stellt hier den prädominanten Erreger der *Plasmodium spp.* dar und verursacht ca. 83% der Infektionen mit einem Malariaerreger⁴. Ebenso befällt *A. lumbricoides* mehr als 30% der Kinder, während die restlichen Erreger der *STHs*, namentlich

Hakenwurm und *Trichuris trichiura* nur eine Gesamtprävalenz von 4% bei konventioneller Mikroskopie zeigen^{13, 35, 39}. Entsprechend werden letztere Infektionen hier unbeachtet bleiben. Eine Infektion mit *G. duodenalis* betrifft bis zu 60% der Kinder in der Region, mit jedoch deutlichen geographischen Unterschieden^{12, 35}.

Die zentrale Datenerhebung zur Bedeutung von asymptomatischen und submikroskopischen *Plasmodien*-Infektionen (Sifft *et al.*, 2016) und zur klinischer Manifestation bei Polyparasitismus (Geus *et al.*, 2019) erfolgte 2014. Aus jeweils einem der 14 Subbezirke des Huye-Bezirks erfolgte die Auswahl einer Grundschule mit 500-1000 Schülern. Zwei Schulen waren aus logistischen Gründen nicht zugänglich, sodass die Studie an insgesamt 12 Schulen durchgeführt wurde.

An jeder Schule wurden 150 Schüler im Alter von 6-10 Jahren anhand der Schullisten zufällig vorselektiert. Ziel war die Teilnahme von 100 Studienteilnehmern pro Schule.

Einige Tage vor Beginn der Untersuchungen wurden Informationsveranstaltungen am jeweiligen Schulort bzw. im Gesundheitszentrum abgehalten. Die Kinder, Lehrer und Eltern wurden über die Ziele und die Abläufe der Studie informiert. Zudem wurde die schriftliche Einverständniserklärung der Eltern, beziehungsweise der Sorgeberechtigten, sowie der Schulkinder eingeholt.

Die Studienprotokolle wurden von der nationalen ruandischen Ethikkommission, sowie dem ruandischen Ministerium für Bildung genehmigt.

2.2. Datenerhebung und Untersuchung der Schulkinder

Die Untersuchung erfolgte einen Tag vor der landesweiten routinemäßigen Entwurmung. Eine Anamnese bezüglich zurückliegender Symptome wurde erhoben. Diese wurde mit den schriftlichen Angaben der Eltern bezüglich der medizinischen Vorgeschichte kombiniert. Hierfür sowie zur Erhebung der sozioökonomischen Daten und der Verhaltensweisen besuchte geschultes Gesundheitspersonal die Familien der Kinder in der Häuslichkeit und führte ein Interview mit den Eltern oder Fürsorgeberechtigten. Der Fragebogen auf Kinyarwanda beinhaltete Angaben zu Bildungsgrad, Arbeitsverhältnissen und Haushaltsmerkmalen sowie zur Fähigkeit der Zahlung von Schulgebühren bzw. Krankenversicherung und zum Besitz von Vieh.

Im Rahmen der klinischen Untersuchung durch eine Pädiaeterin erfolgte die Feststellung von Alter, Geschlecht, Größe und Gewicht sowie der mittlere Oberarmumfang (MUAC) und Körpertemperatur. Fieber wurde definiert als axillare Temperatur $\geq 37,5^{\circ}\text{C}$. Zudem nutzten wir „AnthroPlus“⁵³ zur Berechnung von Gewicht-zu-Alters Z-Score (WAZ), Größe-zu-Alters Z-Score (HAZ) sowie BMI-zu-Alter Z-Score (BAZ) zur Beurteilung von allgemeinem bzw. chronischem Untergewicht und von Magerkeit mit entsprechender Definition bei einem Wert von < -2 Standard-Abweichung (SD).

Peripher venöses Blut wurde entnommen zur Beurteilung der Hämoglobin (Hb) Konzentration mittels eines tragbaren HemoCue Photometers (Ängelholm, Sweden). Anämie wurde, angepasst an Höhenlage und Alter, definiert als Hb $< 12\text{g/dl}$ ⁵⁴.

2.3. Labortechnische Untersuchungen der Blut- und Stuhlproben

Noch vor Ort erfolgte die Malariadiagnostik mittels Teststreifen (SD BIO-LINE Malaria Ag P.f/Pan, Standard Diagnostics Inc, Gyeonggi-do, Korea), und Kinder mit positiven Testergebnissen erhielten eine Therapie mit Artemether-Lumefantrin. Eine weiterführende Behandlung erfolgte bei entsprechenden Befunden anhand der ruandischen Behandlungsrichtlinien durch die Fachärztin der Pädiatrie.

Weitere Malariadiagnostik erfolgte mittels Giemsa-gefärbten Dicken Tropfen und Auszählung der Malariaparasiten pro 200 Leukozyten. Bei Annahme einer mittleren Leukozytenzahl von $8000/\mu\text{L}$ konnte die Parasitenlast kalkuliert werden. Eine Probe wurde - bei fehlendem Nachweis des Erregers - nach Auszählung von 500 Leukozyten als negativ deklariert. Zudem erfolgte eine DNS-Extraktion aus stabilisiertem Vollblut (AS1 & QIAamp Blood Mini Kit; Qiagen).

Die Identifizierung der *Plasmodium*-Spezies sowie die Feststellung von submikroskopischen Infektionen erfolgte mittels eines geschachtelten Verfahrens der Polymerase-Kettenreaktion (PCR)⁵⁵. Ein Parasitennachweis mittels Mikroskopie oder PCR wurde als *Plasmodium spp.*-Infektion gewertet. Die Definition einer asymptomatischen Infektion erfolgte durch Nachweis von *Plasmodium spp.* ohne febrile Temperaturen und negativer Fieberanamnese in den letzten 48 Stunden. Dies schloß das Vorhandensein von weiteren Anzeichen und Symptomen in der medizinischen Historie der Kinder nicht aus. Von insgesamt 1182 rekrutierten Kindern, lagen letztendlich PCR-Ergebnisse

bezüglich *Plasmodium spp.* von 1089 Kindern vor. Diese bildeten die Grundlage für weitere Analysen zur Bedeutung von asymptomatischen und submikroskopischen Infektionen von *Plasmodium spp.* (Sifft *et al.*, 2016).

Die Schulkinder waren angehalten, eine morgendliche Stuhlprobe am Tag der Untersuchung vorzulegen. Diese wurde mittels direkter Mikroskopie von Nasspräparaten (wet-mount) auf *A. lumbricoides ova* und *G. duodenalis* Trophozoiten und Zysten untersucht. Zudem erfolgte auch hier die DNS-Extraktion (QIAamp Stool Mini Kit, Qiagen). Der Zusatz von phocinem Herpesvirus 1 (PhHV-1) diente als interne Kontrolle des Extraktionsprozesses. Mittels real-time PCR erfolgte die Detektion von *A. lumbricoides* und *G. duodenalis*^{56, 57} mit sowohl positiven als auch negativen Kontrollen.

Real-time PCR-Assays, welche einen Zyklusgrenzwert (C_t) von > 36 zeigten, wurden als limitiert reproduzierbar betrachtet und wiederholt. Hinweise auf fäkal-inhibitorische Faktoren (C_t -Wert für PhHV-1 > 36) wurden nicht beobachtet.

Vollständige Daten zum Infektionsstatus für *A. lumbricoides*, *Plasmodium spp.* und *G. duodenalis* via PCR lagen für 878 der untersuchten Kinder vor. Mikroskopische Ergebnisse hinsichtlich der Infektion mit intestinalen Parasiten bzw. Malariaparasiten standen für 848 bzw. 858 Kinder zur Verfügung.

2.4. Resistenzanalyse von *Plasmodium falciparum* Isolaten

Zur Testung von Artemisinin-Resistenzmutationen wurden insgesamt 255 *P. falciparum*-Isolate aus dem Huye-Bezirk herangezogen. Diese entstammten zu je gleichen Anteilen aus der oben benannten Beprobung von 2014, einer Nachfolgestudie nach gleichem Prozedere aus dem Jahr 2015 sowie einer Studie von Gahutu *et al.* von 2010 zur Erfassung der Prävalenz von häufigen Kindheitserkrankungen in der Region⁴.

In der Studie von Gahutu *et al.* (2010) konnten insgesamt 749 Kinder unter fünf Jahren untersucht werden: 545 Kinder aus 24 Dörfern im Huye-Bezirk wurden in zufällig ausgewählten Haushalten rekrutiert, basierend auf der damals aktuellen Zensusdatenbank; weitere 204 Kinder wurden in zwei lokalen Gesundheitszentren rekrutiert. Zur Resistenztypisierung konnten hierdurch insgesamt 85 mikroskopisch positive Isolate von *P. falciparum* aus dem Jahr 2010 genutzt werden.

Zudem erfolgte die Hinzunahme von jeweils 85 mikroskopisch oder PCR-positiven *P. falciparum*-Isolaten aus den Jahren 2014 und 2015.

Alle 255 Proben ließen sich mittels PCR als *P. falciparum*-positive Proben bestätigen. Anhand eines 2014 veröffentlichten PCR-Verfahrens erfolgte die Amplifikation der *K13* Propeller-Domäne ⁴⁹. Die PCR-Amplifikate wurden bidirektional sequenziert (Source BioScience, Berlin), und multiple Sequenz „alignments“ erfolgten zur Detektion von *K13*-Polymorphismen mithilfe von BioEdit v.7.2.5. und SnapGene v.3.1. Software ^{58, 59}. Die *K13* Sequenz von *P. falciparum* 3D7, abgerufen von PlasmoDB, wurde als Referenz für die Ausrichtung genutzt ⁶⁰. Von 255 Proben konnten 222 (87%) *K13*-Amplifikate erfolgreich sequenziert werden.

2.5. Statistische Analyse

In Bezug auf die zuvor benannten drei Fragestellungen bestanden drei unterschiedliche Studienpopulationen, die im Detail bei Siftt *et al.* (2016), Geus *et al.* (2019) und Tacoli *et al.* (2016) beschrieben sind ¹⁻³.

Hinsichtlich der Frage nach der Bedeutung von asymptomatischen und submikroskopischen Infektionen mit *Plasmodium spp.* lagen vollständige Daten von 1084 der insgesamt 1182 rekrutierten Kindern vor.

Für die Arbeit von Geus *et al.* (2019) bedurfte es vollständiger Datensätze zu *A. lumbricoides*, *Plasmodium spp.* und *G. duodenalis*. Dies traf für 878 der initial rekrutierten 1182 Kinder zu. Im Hinblick auf mikroskopische Ergebnisse für intestinale Parasiten bzw. Malariaparasiten lagen Daten für 848 bzw. 858 der Kinder vor.

In Tacoli *et al.* (2016) konnten 255 *P. falciparum* PCR positive Proben bearbeitet werden, die zu gleichen Teilen aus 2010, 2014 und 2015 stammten. Eine erfolgreiche Sequenzierung war von 222 der *K13*-Amplifikate möglich.

Die Daten wurden unabhängig voneinander zweimalig in eine elektronische Datenbank eingespeist und diese miteinander abgeglichen. Zur statistischen Datenanalyse wurde SPSS (SPSS Statistics, Version 23.0, IBM Corp., Armonk, NY, USA) genutzt.

Kontinuierliche Variablen wurden zwischen z.B. Schülergruppen untereinander mittels Student's t-Test, Mann-Whitney U-Test oder Kruskal-Wallis Test

verglichen. Kategorielle Parameter wurden zwischen Gruppen mit χ^2 Test oder Fisher's exaktem Test verglichen.

Odds ratios (ORs) und 95% Konfidenzintervalle (KI) wurden berechnet.

Unabhängige Prädiktoren für Infektionen oder klinische Symptome wurden mithilfe multipler logistischer Regressionsanalysen mit schrittweiser Rückwärtseliminierung nicht assoziierter Faktoren berechnet. Die finalen Modelle beinhalteten jene Faktoren, welche statistisch signifikant blieben. Ein P-Wert $<0,05$ (zweiseitig) wurde als statistisch signifikant gewertet.

3. Ergebnisse

3.1. Studienpopulation, Prävalenzen und klinische Manifestation bei Infektion mit *Plasmodium spp.* (Siff et al., 2016)

Die Anzahl der rekrutierten Schulkinder variiert je nach Schulort von 28 bis 116 (Median, 71) Kindern. Bei den insgesamt 1089 untersuchten Schulkindern mit vollständigem Datensatz zeigte sich ein medianes Alter von acht Jahren mit einer Altersspanne von 6 bis 10 Jahren. Mädchen waren leicht in der Überzahl (54,1%). Eines von sechs der untersuchten Kindern zeigte Untergewicht (WAZ <-2 SD) sowie chronische Unterernährung (HAZ <-2 SD). Mittels PCR lag bei 22,4% der Kinder eine Infektion mit *Plasmodium spp. vor*. Der Großteil der *Plasmodien*-Infektionen wurde durch *P. falciparum* verursacht (84%). Hiervon waren 41% submikroskopische Infektionen, also nicht mikroskopisch jedoch mittels PCR darstellbar. Die Prävalenz der Infektion variierte deutlich mit dem Standort der Schulen ($P < 0.0001$; Siff et al., 2016; Abb. 1), zudem zeigten sich höhere Prävalenzen bei älteren Schulkindern ($P = 0.0007$).

Während am Untersuchungstag Fieber selten nachweisbar war (2,7%), benannten ca. ein Drittel (34,1%) der befragten Schulkinder und deren Eltern abdominelle Beschwerden, Fieber (25,3%), mangelnden Appetit (19,7%), Husten (28,2%) Schwäche (17,2%), Diarrhoe (12,8%), Müdigkeit (13,9%) oder Erbrechen (8,5%) in den letzten zwei Wochen.

Infektionen mit *Plasmodium spp.* (mikroskopisch und submikroskopisch) waren assoziiert mit Anämie, Fieber, Untergewicht und anamnestisch in den vergangenen zwei Wochen bestehender Müdigkeit, Schwäche, mangelndem

Appetit, Bauchschmerzen und Erbrechen. Im Fall des mikroskopischen Nachweises des Erregers war die Symptomrate höher als bei submikroskopischen Infektionen. Jedoch zeigte sich ebenso auf submikroskopischer Ebene eine fast verdoppelte Prävalenz für Anämie im Vergleich zu nichtinfizierten Kindern (mittlere Hämoglobindifferenz von -0,9g/dl). Die Prävalenz von Fieber am Untersuchungstag zeigte sich allerdings nicht erhöht, und es ließ sich keine Assoziation zum aktuellen Ernährungszustand beobachten. Jedoch wurden bei Kindern mit submikroskopischer Infektion im Vergleich zu nichtinfizierten Schulkindern Fieber, Müdigkeit, Schwäche, mangelnder Appetit und Erbrechen in den letzten zwei Wochen häufiger berichtet (Sifft *et al.*, 2016; Tabelle 4).

3.2. Studienpopulation, Prävalenzen und klinische Manifestation bei Koinfektionen (Geus *et al.*, 2019)

Wie bereits dargelegt, differiert die Gesamtzahl der Studienteilnehmer in Sifft *et al.* (2016) und Geus *et al.* (2019). Die Eckdaten der Kinder glichen sich jedoch in beiden Gruppen. Das mediane Alter lag bei 8 Jahre, mit einer Prädominanz von Mädchen (54,4%). Auch die Häufigkeit beschriebener Symptome in den letzten zwei Wochen wie Fieber (25,3%), abdominelle Beschwerden (28,3%), mangelnder Appetit (19,9%), Husten (27,9%), Schwäche (17,1%), Diarrhoe (11,7%), Müdigkeit (11%), Erbrechen (8,7%) unterschied sich nur wenig.

Mehr als ein Fünftel (21,9%) der Kinder waren mit *Plasmodium spp.* infiziert; dieser Wert lag bei 35,1% für *A. lumbricoides* und bei 35,5% für *G. duodenalis*. Ca. ein Drittel der Kinder (34,6%) zeigte sich frei von jeder der getesteten Infektionen. Infektionen mit einem, zwei oder drei Parasiten zeigten sich in 41,6%, 20,5% bzw. 3,3% der Kinder.

3.2.1. Assoziationen und Risikofaktoren von Infektionen mit *A. lumbricoides*, *G. duodenalis* und *Plasmodium spp.*

Abhängig vom Schulstandort zeigten die Kinder deutliche Unterschiede in der Prävalenz der jeweiligen parasitären Infektionen (jeweils: $P < 0,0001$; Geus *et al.*, 2019; Abb. 2). Höhere Prävalenzen von *Plasmodium spp.* ließen sich bei älteren Kindern nachweisen ($P = 0,007$; Geus *et al.*, 2019; Abb. 3a), wohingegen sich keine Altersunterschiede für Monoinfektionen mit *A.*

lumbricoides sowie *G. duodenalis* zeigten. Abgesehen von Dreifachinfektionen, welche bei höherem Alter häufiger auftraten (P = 0,006; Geus *et al.*, 2019; Abb. 3b), ließen sich keine Altersunterschiede für kumulative parasitäre Infektionen nachweisen.

In univarianter Analyse waren verschiedene sozioökonomische und verhaltensbezogene Faktoren mit einer erhöhten Chance einer parasitären Infektion assoziiert.

Alle Infektionserreger, sowohl in Mono- als auch in Koinfektionen, zeigten sich assoziiert mit Haushaltsindikatoren für einen niedrigen sozioökonomischen Status (keine Elektrizität, kein Mobiltelefon, Bodenmaterial aus Sand oder Erde). Die meisten Mono- bzw. Doppelinfektionen zeigten weiterhin eine Assoziation mit einer fehlenden Schulbildung der Kindsmutter (außer *Plasmodium*-Monoinfektion) sowie mit der Unfähigkeit der Zahlung einer Krankenversicherung oder Schulgebühren (außer *Giardia*-Monoinfektion). Zudem erschienen Verhaltensfaktoren (irreguläres Händewaschen vor Nahrungsaufnahme, Gebrauch von nicht vorbehandeltem Trinkwasser), wenn auch weniger deutlich, als weitere mit parasitärer Infektion *per se* vergesellschaftete Parameter.

Nach Adjustierung bezüglich Alter und Standort der Schule blieben im Rahmen der multivarianten Analyse jedoch nur wenige Risikofaktoren bestehen. Die Unfähigkeit der Zahlung einer Krankenversicherung blieb mit einer *Plasmodium*-Monoinfektion assoziiert sowie mit einer jeweiligen Koinfektion mit dem Malariaerreger.

Eine detaillierte Auflistung der Assoziationen mit den jeweiligen Mono- bzw. Koinfektionen findet sich in Geus *et al.*, 2019; Tabelle 1.

3.2.2. Klinische Manifestation von Mono- bzw. Koinfektionen im Vergleich zu nichtinfizierten Kindern

Es folgte der Vergleich von Schulkindern mit Koinfektionen und nichtinfizierten Schulkindern.

Die Prävalenz von Fieber war erhöht bei *Plasmodium*-Monoinfektionen sowie bei Koinfektionen mit Malariaerregern im Vergleich zu anderen Konstellationen. Anämie zeigte sich häufiger bei Koinfektionen mit *Plasmodium spp.* sowie bei Monoinfektionen mit *A. lumbricoides*. *Plasmodium-Giardia*

Infektionen sowie *Giardia-Ascaris* Koinfektionen waren assoziiert mit Untergewicht.

Nach Adjustierung für Alter und Schulstandort im Rahmen der multivariaten Analyse blieben die oben benannten Assoziationen bestehen. Einzig der Effekt einer *A. lumbricoides*-Infektion auf eine Anämie zeigte sich weniger deutlich und verlor statistische Signifikanz. Keine der (Ko-)Infektionen war assoziiert mit den berichteten Symptomen in der multivariaten Analyse. Eine detaillierte Auflistung von Symptomen in Bezug auf den Infektionsstatus findet sich ebenso in Geus *et al.*, 2019; Tabelle 3 und Supp. Tabelle 2.

3.2.3. Klinische Manifestation von Koinfektionen im Vergleich zu Monoinfektionen mit *A. lumbricoides*, *G. duodenalis* und *Plasmodium spp.*

Im nächsten Schritt wurde die klinische Manifestation von Monoinfektionen mit Doppel- bzw. Dreifachinfektionen verglichen.

Das klinische Bild einer Koinfektion mit *Plasmodium spp.* und *A. lumbricoides* oder *G. duodenalis* unterschied sich nicht wesentlich von einer Monoinfektion mit *Plasmodium spp.*. Anämie wurde häufiger berichtet im Falle einer Koinfektion mit dem Malariaerreger im Vergleich zu jeweiligen Monoinfektionen mit einem gastrointestinalen Parasiten (*A. lumbricoides*, *G. duodenalis*). Insbesondere im Bezug auf durchschnittliche Hämoglobinwerte zeigte sich kein signifikanter Unterschied zwischen einer *Plasmodium*-Monoinfektion und einer *Plasmodium-Ascaris* Koinfektion.

Eine Ausnahme bildet die *Plasmodium-Giardia* Koinfektionen im Hinblick auf Erbrechen in der Anamnese. Bei benannter Koinfektion berichteten die Kinder seltener von Erbrechen im Vergleich zur Monoinfektionen mit *Plasmodium spp.*

Unabhängig von Infektionen mit dem Malariaerreger zeigten Kinder mit Infektionskombinationen von *A. lumbricoides* und *G. duodenalis* (auch in Dreifachinfektion) reduzierte Ernährungszustände als im Falle von Monoinfektionen mit den jeweiligen gastrointestinalen Parasiten. Akute Mangelernährung (BAZ <-2 SD) zeigte sich signifikant häufiger bei Kindern mit *Ascaris-Giardia* Koinfektionen als bei den jeweiligen Monoinfektion. Ein ähnlicher Effekt imponierte für die Parameter „Untergewicht“ (WAZ <-2 SD) und „chronische Unterernährung“ (HAZ <-2 SD) im Vergleich zur *G.*

duodenalis Monoinfektion. Eine genauere Darlegung der Ergebnisse findet sich in Geus *et al.*, 2019; Tabelle 4.

3.3. Artemisinin-Resistenz assoziierte Polymorphismen von *Plasmodium falciparum*

Bezüglich der Resistenztypisierung standen uns *P. falciparum*-Isolate von 222 Kindern mit medianem Alter von acht Jahren (0,3 - 11 Jahre) zur Verfügung. Hiervon waren 51,8% der Kinder weiblich, und die Parasitenlast (geometrisches Mittel) betrug 4.217/µL (95% Konfidenzintervall, 3.175-5.601). Ausschließlich submikroskopisch positive Proben machten 10,4% der gesamten Probenzahl aus. Fieber zeigten 22% der Kinder. Die Einnahme von Malaria-Medikamenten, im allgemeinen Artemether-Lumefantrin, wurde von 6,7% (vergangene 2 Wochen) der 2010 sowie von 42,7% (vergangener Monat) der 2014 getesteten Kinder berichtet.

Fünf der 222 *P. falciparum* Isolate (2,3%) zeigten einen Einzelnukleotid-Polymorphismus (SNP) in der *K13* Propeller-Domäne. Alle der hier gefundenen SNPs waren nicht-synonyme Mutationen. Insgesamt ergab sich ein nicht-signifikanter Trend für eine zunehmende Prävalenz von Polymorphismen über die Zeit. Während 2010 keine SNPs detektiert wurden, traten diese mit 2,5% in 2014 auf und mit 4,5% in 2015 (χ^2 trend = 3,3; P = 0,07).

Zwei von drei der in 2015 nachgewiesenen SNPs (P574L und A675V) werden als Kandidaten-Mutationen eingeordnet²³. Drei Varianten wurden erstmals in Afrika beobachtet (D648H, V555A, A626S). Das Auftreten von *K13*-Polymorphismen war nicht assoziiert mit Alter, Geschlecht, Parasitenlast, Fieber oder vorheriger medizinischen Behandlung.

4. Diskussion

Rund 22% der untersuchten Kinder im südlichen Ruanda waren mit Malaria-Erregern infiziert, wobei die klinische Manifestation häufig fehlte und submikroskopische Infektionen einen erheblichen Anteil einnahmen. Dessen ungeachtet gingen auch submikroskopische Infektionen mit Symptomen einher, diese waren allerdings wenig spezifisch und mild, so wie Anämie,

Müdigkeit, Schwäche, mangelnder Appetit oder Erbrechen. Jeweils rund ein Drittel der Kinder waren mit *A. lumbricoides* bzw. *G. duodenalis* infiziert. Doppel-Infektionen mit zwei der drei benannten Erreger traten in einem von fünf Fällen auf. Ein wesentlicher Befund ist, dass bei Doppel- oder Dreifachinfektionen die klinische Manifestation weitestgehend durch die *Plasmodien*-Infektion geprägt wurde, der Beitrag von *A. lumbricoides* oder *G. duodenalis* diesbezüglich also gering war. Dies spricht für eine Bekämpfung der Malariaerreger auch im Schulkindalter, also in einer Gruppe, die derzeit nicht spezifisch im Fokus steht. Besorgniserregend ist in diesem Zusammenhang die Beobachtung, dass Mutationen von *P. falciparum*, die mit Artemisinin-Resistenz einhergehen, in Südrunda aufgetreten sind und sich binnen weniger Jahre ausgebreitet haben.

Der Großteil der mit *Plasmodien spp.* infizierten Schulkinder konnte entsprechend der benannten Definition als asymptomatisch eingeordnet werden. Während Fieber bei den *Plasmodien*-infizierten Kindern i.d.R. fehlte, war die Prävalenz von Anämie allerdings verdoppelt und der durchschnittliche Hämoglobinwert um ca. 1g/dL reduziert. Ebenso zeigten diese Kinder häufiger Untergewicht (WAZ < -2 SD) als ihre nichtinfizierten Altersgenossen. Bei genauerer Betrachtung der medizinischen Historie ergab sich zudem weniger das Bild einer gänzlich asymptomatischen Infektion als vielmehr das einer Malaria ohne offensichtliche Symptome: Fieber in den letzten zwei Wochen, Schwäche, Müdigkeit, Appetitlosigkeit, Bauchschmerzen und Erbrechen standen hier als führende Symptome im Vergleich zu nichtinfizierten Schulkindern, im Vordergrund.

Während die symptomatische Malaria zu vermehrten Schulfehlzeiten, beeinträchtigter Kognition und schlechteren Schulleistungen beiträgt^{5, 10, 28, 31}, stellt sich die Datenlage bei asymptomatischen Infektionen differenzierter dar. Im Jemen⁶¹ und der Demokratischen Republik Kongo⁶² zeigte sich kein Hinweis auf kognitive Beeinträchtigungen der Kinder, anders als in Uganda¹⁰, Mali²⁸ und Kenya¹¹. Unsere Ergebnisse zeigen, dass Kinder mit submikroskopischen Infektionen durch ähnliche Effekte wie Schulkinder mit mikroskopisch erkennbarer Parasitämie beeinträchtigt sind. Lediglich in Bezug auf Untergewicht ließ sich keine Assoziation mit submikroskopischen Infektionen feststellen. Zudem zeigte sich ein geringerer Effekt auf die Hämoglobin-Werte als bei Kindern mit mikroskopisch nachweisbarer Parasitämie. Entsprechend liegt die Annahme nahe, dass auch scheinbar

„asymptomatische“ Infektionen Auswirkungen auf die Gesundheit der Kinder haben und als potenziell schädlich betrachtet werden sollten²⁷. Tatsächlich konnte gezeigt werden, dass mit *Plasmodium spp.* infizierte asymptomatische Kinder eine, wenn auch geringgradige, Entzündungsreaktion mit Plättchen- und Endothelaktivierung zeigen²⁷.

Während manche *Plasmodien*-Infektionen symptomatisch werden, bleiben andere über mehrere Monate asymptomatisch^{63, 64}. Kontraintuitiv zeigt sich eine inverse Korrelation von submikroskopischen Infektionen mit der Transmissionsintensität. So ist der relative Anteil submikroskopischer Infektionen hoch bei niedriger Endemizität^{6, 24, 32, 65}.

Asymptomatische Träger tragen zu einem beträchtlichen Anteil zur Transmission der Malaria, insbesondere in Regionen mit niedriger Endemizität bei⁶⁻⁸. Der Umfang der entsprechenden Auswirkungen ist jedoch noch nicht weitreichend geklärt⁶⁶.

Bei Koinfektionen stellte sich die jeweilige Symptomatik vor allem durch *Plasmodium spp.* beeinflusst dar. Schulkinder mit *Plasmodien*-Monoinfektion und solche mit Doppelinfektionen (*Plasmodium-Ascaris* bzw. *Plasmodium-Giardia*) hatten häufiger eine Anämie als nicht-infizierte Kinder oder solche mit gastrointestinalen Monoinfektionen (*A. lumbricoides* bzw. *G. duodenalis*). Allerdings war auch die *A. lumbricoides* Monoinfektion mit Anämie assoziiert. Außerdem zeigten Kinder mit *Plasmodium spp.* und *G. duodenalis* Koinfektion im Vergleich zu *Plasmodium*-Monoinfektionen weniger häufig Erbrechen. Zuletzt imponierten Koinfektionen mit *A. lumbricoides* und *G. duodenalis* generell durch schlechtere Ernährungsparameter als Kinder mit einer jeweiligen Monoinfektion.

Während Anämie als direkte und plausible Konsequenz der *Plasmodium*-Infektion angesehen werden kann, stehen Ernährungsdefizite bei den intestinalen Parasiten als Ursache im Vordergrund. Assoziationen von *A. lumbricoides*-Infektionen mit Anämie bei Kindern wurden bereits beobachtet^{67, 68}, wenn auch nicht konstant^{69, 70}. Reduzierter Appetit und Malabsorption durch *A. lumbricoides* resultiert in Mangelernährung und u.a. Vitamin A-Mangel⁷¹⁻⁷³. Steigende Hämoglobin-Werte nach Entwurmung wurden bereits mehrfach gezeigt^{71, 74}. Der Effekt von Koinfektionen mit *Plasmodium spp.* und *A. lumbricoides* in Bezug auf Anämie wird kontrovers diskutiert⁴¹. Unsere Ergebnisse zeigen ähnliche Hämoglobinwerte bei *Plasmodium*-Mono-

infizierten Kindern und bei Kindern mit einer *Plasmodium-Ascaris*-Doppelinfektion und widersprechen damit kürzlich veröffentlichten Studien in SSA ^{42, 44}. Jedoch zeigen andere Studien einen protektiven Effekt der Doppelinfektion auf eine Anämie ⁷⁵ oder können keinen Effekt nachweisen ⁷⁶.

Bezüglich der Modulation der kindlichen Symptomatik bei *Plasmodium-Giardia*-Doppelinfektion stellt sich die aktuelle Studienlage äußerst spärlich dar. Bereits hinsichtlich der klinischen Manifestation einer *G. duodenalis* Monoinfektion bestehen widersprüchliche Befunde: Während in Angola Anämie und *Giardia*-Infektion nicht assoziiert waren ⁴⁰, war dies in Ecuador der Fall ³⁶, wohingegen erhöhte Hämoglobinwerte in Malaysia beschrieben wurden ⁷⁷.

Daten aus Ägypten verweisen auf die Bedeutung der *G. duodenalis* Subtypen mit einer Häufung von Eisenmangelanämie bei Vorliegen von Assemblage A-Parasiten ⁷⁸. Assemblage A stellt die Minderheit der *G. duodenalis* Infektionen im Huye-Bezirk im südlichen Ruanda dar, ist jedoch im Gegensatz zu Assemblage B-Parasiten mit akuter Symptomatik, v.a. Erbrechen vergesellschaftet ³⁵. Ähnliche Unterschiede zeigten sich in Kuba ⁷⁹ und in Ägypten ⁸⁰.

Ascaris-Giardia-Koinfektionen gingen im Vergleich zur jeweiligen Monoinfektion mit reduzierten anthropometrischen Parametern einher. Die Assoziation dieser Koinfektionen mit chronischer Unterernährung (HAZ <-2 SD) mag umgekehrte Kausalität aufzeigen. Allerdings ist denkbar, dass in Armut lebende Kinder eine erhöhte Exposition und/ oder Suszeptibilität gegenüber parasitären intestinalen Infektionen besitzen ⁸¹. Untergewicht (WAZ <-2 SD) oder akute Mangelernährung (BAZ <-2 SD) erscheinen besser geeignet zur Evaluation des Einflusses von parasitären Infektionen auf ernährungsphysiologische Mangelzustände. Erhöhte Mukosapermeabilität und Störung der Zottenarchitektur werden als potenzielle pathogene Mechanismen der *G. duodenalis*- sowie der *A. lumbricoides*-Infektion diskutiert, wobei die tatsächliche Pathophysiologie unklar ist ^{71, 73, 82}. Unsere Daten suggerieren zumindest einen additiven Effekt der intestinalen Parasiten auf den Ernährungszustand der Kinder. Dies untermauert ¹² sowie widerspricht ^{83, 84} damit vorrangegangene Studien.

Wie dargestellt wurde, ist ein Großteil der zudem wenig imponierenden Symptomatik bei den untersuchten Kindern auf eine Infektion mit *Plasmodien spp.* zurückführbar. Dies spricht für die Einführung von schulbasierten

Interventionen gegen die Malaria, die i.d.R. auf präsumtive Therapie fussen⁸⁵,⁸⁶. In Anbetracht dessen muss aber die Resistenzsituation betrachtet werden. In Ruanda ist Artemether-Lumefantrin das Mittel der Wahl für die Therapie und Kontrolle der Malaria.

In zwei großangelegten Studien an afrikanischen Isolaten konnten keine validierten *K13*-Resistenzmutationen beobachtet werden. Es zeigte sich aber eine große Heterogenität: bei 1184 *P. falciparum* Isolaten aus 14 afrikanischen Ländern (gesammelt von 2002 bis 2011) wurden 23 unterschiedliche *K13*-Mutationen nachgewiesen, von welchen 18 auf umschriebene geographische Räume begrenzt waren. Zwei Kandidaten-Mutationen wurden detektiert, namentlich G449D in Mali und P553L in Kenya⁸⁷. Bei weiteren 1212 afrikanischen Isolaten (2013-2014) lagen 22 *K13*-Polymorphismen vor (sieben davon nicht-synonym)⁸⁸. Eine neuere Arbeit des MalariaGEN Konsortiums zeigte 64 *K13*-Polymorphismen bei 1648 afrikanischen Isolaten. Von 26 nicht-synonymen Polymorphismen waren 14 aus Südostasien bekannt und sieben als Resistenzmarker eingeordnet. Die Mehrheit der afrikanischen *K13*-Polymorphismen erschienen von lokaler Herkunft. Verglichen mit südostasiatischen Isolaten zeigten sich substanziell mehr, dafür aber seltenere Polymorphismen. Die Autoren beurteilten die Heterogenität von mehrheitlich seltenen, nichtsynonymen Polymorphismen in afrikanischen Isolaten als repräsentativ für den erst kurzzeitigen Zugang zu Artemisinin-basierter Kombinationstherapie in jenen Regionen und entsprechend geringerem medikamentösem Selektionsdruck verglichen mit Südostasien. In Zusammenhang mit dieser Idee zeigten weiterführende Analysen der afrikanischen Isolate vor allem neutrale Evolutionen der seltenen *K13*-Polymorphismen, welche ein großes Reservoir von „natürlichen“ *K13*-Propeller Varianten in SSA darstellen⁸⁹.

In unseren Untersuchungen von 2014 und 2015 konnten zwei *K13* Kandidat-Mutationen, namentlich P574L und A675V, detektiert werden. Während die A675V Variante bereits einmalig nachgewiesen wurde unter 4000 afrikanischen Isolaten von *P. falciparum*⁸⁷⁻⁸⁹, konnte die Mutation P574L hier erstmalig in Afrika gezeigt werden. Beide Varianten sind verbreitet in Südostasien und sind assoziiert mit verzögerter Parasiteneliminierung nach Therapie⁴⁹.

Wie bereits beschrieben, zeigte sich ein zunehmender Anteil von *K13*-Polymorphismen über die Zeit in Ruanda. Während auch die Inzidenz der

Malaria seit 2011 gestiegen ist ⁹⁰, spiegeln die Zahlen insgesamt eine erhöhte Wahrscheinlichkeit des Auftretens der *K13*-Varianten wider. Bereits 2010 legte die Allel-Konstellation eines anderen Resistenzmarkers, *pfmdr1*, einen ausgeprägten medikamentösen Druck mit Artemether-Lumefantrin nahe ⁹¹. Insgesamt bleibt jedoch zu konstatieren, dass die Rolle von *K13*-Polymorphismen in SSA weit entfernt liegt, verstanden worden zu sein.

Die Ergebnisse sollten vor dem Hintergrund bestimmter Limitationen der Studien betrachtet werden. Während eine „asymptomatische“ Infektion mit *Plasmodium spp.* anhand der Befunde am Untersuchungstag definiert wurde, besteht die Möglichkeit eines tatsächlich präsymptomatischen Infektionsstatus. Zudem kann die submikroskopische Parasitämie ein sehr frühes, asymptomatisches Stadium einer Infektion widerspiegeln. Der Schulbesuch setzt eine zufriedenstellende körperliche Gesundheit der Kinder voraus. Es liegen keine Daten bezüglich einer möglichen Anzahl von Kindern vor, welche aufgrund von schwerer Erkrankung am Untersuchungstag nicht vorstellig werden konnten. Entsprechend stehen die Daten eher repräsentativ für Kinder, welche die Schule besuchen konnten, anstatt für Schulkinder im Allgemeinen. Anthropometrische Kalkulationen erfolgten nach Alter in Jahren. Entsprechend variiert die Einschätzung bezüglich des Normalgewichtes beispielsweise für ein Kind mit 8 Jahren und einem Monat oder 8 Jahren und elf Monaten. Folglich könnten die Ernährungsparameter in den Berechnungen eher unterschätzt werden. Letztlich handelt es sich um Querschnittsstudien, welche mögliche Assoziationen beschreiben können, jedoch keinen Hinweisen auf Kausalitäten erlauben.

Polyparasitismus betrifft ein Viertel aller Schulkinder im südlichen Ruanda. Individuelle Risikofaktoren für parasitäre Infektionen sind erkennbar, diese werden jedoch überlagert durch einen generellen niedrigen sozio-ökonomischen Status. Insbesondere *Plasmodium spp.* präsentiert sich, wenn auch meist asymptomatisch erscheinend, durch eine Aggravation der Anämie sowie durch weitere unspezifische Symptome. Eine Koinfektion mit dem Malariaerreger ist weitgehend durch dessen klinische Manifestation geprägt, also der Einfluss von *A. lumbricoides* und *G. duodenalis* gering. Kinder mit *Ascaris-Giardia* Doppelinfektionen präsentieren hingegen schlechtere Ernährungszustände als Kinder mit der jeweiligen Monoinfektion. Infektionen mit den Erregern zeigen Auswirkungen auf die kognitive und physische

Entwicklung der Kinder. Die initialen Erfolge nach Implementierung von Artemisinin-basierten Kombinationspräparaten zur Behandlung der Malaria könnten gefährdet sein durch neue Artemisinin-Resistenzen in der Region. Entsprechend stellen die Ergebnisse somit grundlegende Daten in Bezug auf Prävalenz, klinische Symptomatik und Resistenzprofil von parasitären Erkrankungen von Schulkindern in Ruanda dar und bilden eine Grundlage für weiterführende und verbesserte schulbasierte Gesundheitsprogramme für Schul Kinder, welche sonst wenig im Fokus der Aufmerksamkeit stehen.

5. Literaturverzeichnis

1. Siftt KC, Geus D, Mukampunga C, Mugisha JC, Habarugira F, Fraundorfer K, Bayingana C, Ndoli J, Umulisa I, Karema C, von Samson-Himmelstjerna G, Aebischer T, Martus P, Sendegeya A, Gahutu JB, Mockenhaupt FP, 2016. Asymptomatic only at first sight: malaria infection among schoolchildren in highland Rwanda. *Malar J* 15: 553.
2. Tacoli C, Gai PP, Bayingana C, Siftt K, Geus D, Ndoli J, Sendegeya A, Gahutu JB, Mockenhaupt FP, 2016. Artemisinin Resistance-Associated K13 Polymorphisms of *Plasmodium falciparum* in Southern Rwanda, 2010-2015. *Am J Trop Med Hyg* 95: 1090-1093.
3. Geus D, Siftt KC, Habarugira F, Mugisha JC, Mukampunga C, Ndoli J, Bayingana C, Sendegeya A, Martus P, Fraundorfer K, von Samson-Himmelstjerna G, Gahutu JB, Klotz C, Aebischer A, Mockenhaupt FP, 2019. Co-infections with *Plasmodium*, *Ascaris* and *Giardia* among Rwandan schoolchildren. *Trop Med Int Health* 24: 409-420.
4. Gahutu JB, Steininger C, Shyirambere C, Zeile I, Cwinya-Ay N, Danquah I, Larsen CH, Eggelte TA, Uwimana A, Karema C, Musemakweri A, Harms G, Mockenhaupt FP, 2011. Prevalence and risk factors of malaria among children in southern highland Rwanda. *Malar J* 10: 134.
5. Nankabirwa J, Brooker SJ, Clarke SE, Fernando D, Gitonga CW, Schellenberg D, Greenwood B, 2014. Malaria in school-age children in Africa: an increasingly important challenge. *Trop Med Int Health* 19: 1294-309.
6. Bousema T, Okell L, Felger I, Drakeley C, 2014. Asymptomatic malaria infections: detectability, transmissibility and public health relevance. *Nat Rev Microbiol* 12: 833-40.
7. Galatas B, Bassat Q, Mayor A, 2016. Malaria Parasites in the Asymptomatic: Looking for the Hay in the Haystack. *Trends Parasitol* 32: 296-308.
8. Alves FP, Gil LH, Marrelli MT, Ribolla PE, Camargo EP, Da Silva LH, 2005. Asymptomatic carriers of *Plasmodium* spp. as infection source for malaria vector mosquitoes in the Brazilian Amazon. *J Med Entomol* 42: 777-9.
9. Baliraine FN, Afrane YA, Ameyna DA, Bonizzoni M, Menge DM, Zhou G, Zhong D, Vardo-Zalik AM, Githeko AK, Yan G, 2009. High prevalence of asymptomatic *plasmodium falciparum* infections in a highland area of western Kenya: a cohort study. *J Infect Dis* 200: 66-74.
10. Nankabirwa J, Wandera B, Kiwanuka N, Staedke SG, Kanya MR, Brooker SJ, 2013. Asymptomatic *Plasmodium* infection and cognition among primary schoolchildren in a high malaria transmission setting in Uganda. *Am J Trop Med Hyg* 88: 1102-8.
11. Clarke SE, Jukes MC, Njagi JK, Khasakhala L, Cundill B, Otido J, Crudder C, Estambale BB, Brooker S, 2008. Effect of intermittent preventive treatment of malaria on health and education in schoolchildren: a cluster-randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Lancet* 372: 127-38.
12. Heimer J, Staudacher O, Steiner F, Kayonga Y, Havugimana JM, Musemakweri A, Harms G, Gahutu JB, Mockenhaupt FP, 2015. Age-dependent decline and association with stunting of *Giardia duodenalis* infection among schoolchildren in rural Huye district, Rwanda. *Acta Trop* 145: 17-22.
13. Staudacher O, Heimer J, Steiner F, Kayonga Y, Havugimana JM, Ignatius R, Musemakweri A, Ngabo F, Harms G, Gahutu JB, Mockenhaupt FP, 2014. Soil-transmitted helminths in southern highland Rwanda: associated factors and effectiveness of school-based preventive chemotherapy. *Trop Med Int Health* 19: 812-24.
14. Bizimana JP, Twarabamenye E, Kienberger S, 2015. Assessing the social vulnerability to malaria in Rwanda. *Malar J* 14: 2.
15. Muller I, Yap P, Steinmann P, Damons BP, Schindler C, Seelig H, Htun NS, Probst-Hensch N, Gerber M, du Randt R, Puhse U, Walter C, Utzinger J, 2016. Intestinal parasites, growth and physical fitness of schoolchildren in poor neighbourhoods of Port Elizabeth, South Africa: a cross-sectional survey. *Parasit Vectors* 9: 488.
16. Faria CP, Zanini GM, Dias GS, da Silva S, de Freitas MB, Almendra R, Santana P, Sousa MD, 2017. Geospatial distribution of intestinal parasitic infections in Rio de Janeiro (Brazil) and its association with social determinants. *PLoS Negl Trop Dis* 11: e0005445.
17. Mehraj V, Hatcher J, Akhtar S, Rafique G, Beg MA, 2008. Prevalence and factors associated with intestinal parasitic infection among children in an urban slum of Karachi. *PLoS One* 3: e3680.
18. Rogawski ET, Bartelt LA, Platts-Mills JA, Seidman JC, Samie A, Havt A, Babji S, Trigos DR, Qureshi S, Shakoor S, Haque R, Mduma E, Bajracharya S, Gaffar SMA, Lima

- AAM, Kang G, Kosek MN, Ahmed T, Svensen E, Mason C, Bhutta ZA, Lang DR, Gottlieb M, Guerrant RL, Houghton ER, Bessong PO, Investigators M-EN, 2017. Determinants and Impact of Giardia Infection in the First 2 Years of Life in the MAL-ED Birth Cohort. *J Pediatric Infect Dis Soc* 6: 153-160.
19. Hotez PJ, Brindley PJ, Bethony JM, King CH, Pearce EJ, Jacobson J, 2008. Helminth infections: the great neglected tropical diseases. *J Clin Invest* 118: 1311-21.
 20. Brooker S, Akhwale W, Pullan R, Estambale B, Clarke SE, Snow RW, Hotez PJ, 2007. Epidemiology of plasmodium-helminth co-infection in Africa: populations at risk, potential impact on anemia, and prospects for combining control. *Am J Trop Med Hyg* 77: 88-98.
 21. Geneva: World Health Organization, 2019. World malaria report. Available at: <https://www.who.int/publications/i/item/world-malaria-report-2019>. Accessed.
 22. Karema C, Aregawi MW, Rukundo A, Kabayiza A, Mulindahabi M, Fall IS, Gausi K, Williams RO, Lynch M, Cibulskis R, Fidele N, Nyemazi JP, Ngamije D, Umulisa I, Newman R, Binagwaho A, 2012. Trends in malaria cases, hospital admissions and deaths following scale-up of anti-malarial interventions, 2000-2010, Rwanda. *Malar J* 11: 236.
 23. World Health Organization, 2018. Artemisinin resistance and artemisinin-based combination therapy efficacy. Available at: <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/274362/WHO-CDS-GMP-2018.18-eng.pdf?ua=1>. Accessed.
 24. Okell LC, Bousema T, Griffin JT, Ouedraogo AL, Ghani AC, Drakeley CJ, 2012. Factors determining the occurrence of submicroscopic malaria infections and their relevance for control. *Nat Commun* 3: 1237.
 25. Laishram DD, Sutton PL, Nanda N, Sharma VL, Sobti RC, Carlton JM, Joshi H, 2012. The complexities of malaria disease manifestations with a focus on asymptomatic malaria. *Malar J* 11: 29.
 26. Walldorf JA, Cohee LM, Coalson JE, Bauleni A, Nkanaunena K, Kapito-Tembo A, Seydel KB, Ali D, Mathanga D, Taylor TE, Valim C, Laufer MK, 2015. School-Age Children Are a Reservoir of Malaria Infection in Malawi. *PLoS One* 10: e0134061.
 27. de Mast Q, Brouwers J, Syafruddin D, Bousema T, Baidjoe AY, de Groot PG, van der Ven AJ, Fijnheer R, 2015. Is asymptomatic malaria really asymptomatic? Hematological, vascular and inflammatory effects of asymptomatic malaria parasitemia. *J Infect* 71: 587-96.
 28. Thuilliez J, Sissoko MS, Toure OB, Kamate P, Berthelemy JC, Doumbo OK, 2010. Malaria and primary education in Mali: a longitudinal study in the village of Doneguebougou. *Soc Sci Med* 71: 324-334.
 29. Kurtzhals JA, Addae MM, Akanmori BD, Dunyo S, Koram KA, Appawu MA, Nkrumah FK, Hviid L, 1999. Anaemia caused by asymptomatic Plasmodium falciparum infection in semi-immune African schoolchildren. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 93: 623-7.
 30. Ehrhardt S, Burchard GD, Mantel C, Cramer JP, Kaiser S, Kubo M, Otchwemah RN, Bienzle U, Mockenhaupt FP, 2006. Malaria, anemia, and malnutrition in african children--defining intervention priorities. *J Infect Dis* 194: 108-14.
 31. Fernando SD, Rodrigo C, Rajapakse S, 2010. The 'hidden' burden of malaria: cognitive impairment following infection. *Malar J* 9: 366.
 32. Okell LC, Ghani AC, Lyons E, Drakeley CJ, 2009. Submicroscopic infection in Plasmodium falciparum-endemic populations: a systematic review and meta-analysis. *J Infect Dis* 200: 1509-17.
 33. Kateera F, Mens PF, Hakizimana E, Ingabire CM, Muragijemariya L, Karinda P, Grobusch MP, Mutesa L, van Vugt M, 2015. Malaria parasite carriage and risk determinants in a rural population: a malariometric survey in Rwanda. *Malar J* 14: 16.
 34. Feng Y, Xiao L, 2011. Zoonotic potential and molecular epidemiology of Giardia species and giardiasis. *Clin Microbiol Rev* 24: 110-40.
 35. Ignatius R, Gahutu JB, Klotz C, Steininger C, Shyirambere C, Lyng M, Musemakwari A, Aebischer T, Martus P, Harms G, Mockenhaupt FP, 2012. High prevalence of Giardia duodenalis Assemblage B infection and association with underweight in Rwandan children. *PLoS Negl Trop Dis* 6: e1677.
 36. Sackey ME, Weigel MM, Armijos RX, 2003. Predictors and nutritional consequences of intestinal parasitic infections in rural Ecuadorian children. *J Trop Pediatr* 49: 17-23.
 37. Berkman DS, Lescano AG, Gilman RH, Lopez SL, Black MM, 2002. Effects of stunting, diarrhoeal disease, and parasitic infection during infancy on cognition in late childhood: a follow-up study. *Lancet* 359: 564-71.
 38. Blackwell AD, Martin M, Kaplan H, Gurven M, 2013. Antagonism between two intestinal parasites in humans: the importance of co-infection for infection risk and recovery dynamics. *Proc Biol Sci* 280: 20131671.

39. Krucken J, Fraundorfer K, Mugisha JC, Ramunke S, Siftt KC, Geus D, Habarugira F, Ndoli J, Sendegeya A, Mukampungu C, Bayingana C, Aebischer T, Demeler J, Gahutu JB, Mockenhaupt FP, von Samson-Himmelstjerna G, 2017. Reduced efficacy of albendazole against *Ascaris lumbricoides* in Rwandan schoolchildren. *Int J Parasitol Drugs Drug Resist* 7: 262-271.
40. Oliveira D, Ferreira FS, Atouguia J, Fortes F, Guerra A, Centeno-Lima S, 2015. Infection by Intestinal Parasites, Stunting and Anemia in School-Aged Children from Southern Angola. *PLoS One* 10: e0137327.
41. Degarege A, Veledar E, Degarege D, Erko B, Nacher M, Madhivanan P, 2016. Plasmodium falciparum and soil-transmitted helminth co-infections among children in sub-Saharan Africa: a systematic review and meta-analysis. *Parasit Vectors* 9: 344.
42. Matangila JR, Doua JY, Linsuke S, Madinga J, Inocencio da Luz R, Van Geertruyden JP, Lutumba P, 2014. Malaria, schistosomiasis and soil transmitted helminth burden and their correlation with anemia in children attending primary schools in Kinshasa, Democratic Republic of Congo. *PLoS One* 9: e110789.
43. Naing C, Whittaker MA, Nyunt-Wai V, Reid SA, Wong SF, Mak JW, Tanner M, 2013. Malaria and soil-transmitted intestinal helminth co-infection and its effect on anemia: a meta-analysis. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 107: 672-83.
44. Sumbele IU, Nkemnji GB, Kimbi HK, 2017. Soil-transmitted helminths and plasmodium falciparum malaria among individuals living in different agroecosystems in two rural communities in the mount Cameroon area: a cross-sectional study. *Infect Dis Poverty* 6: 67.
45. Lello J, Knopp S, Mohammed KA, Khamis IS, Utzinger J, Viney ME, 2013. The relative contribution of co-infection to focal infection risk in children. *Proc Biol Sci* 280: 20122813.
46. Dondorp AM, Nosten F, Yi P, Das D, Phyo AP, Tarning J, Lwin KM, Arie F, Hanpithakpong W, Lee SJ, Ringwald P, Silamut K, Imwong M, Chotivanich K, Lim P, Herdman T, An SS, Yeung S, Singhasivanon P, Day NP, Lindegardh N, Socheat D, White NJ, 2009. Artemisinin resistance in Plasmodium falciparum malaria. *N Engl J Med* 361: 455-67.
47. Ashley EA, Dhorda M, Fairhurst RM, Amaratunga C, Lim P, Suon S, Sreng S, Anderson JM, Mao S, Sam B, Sopha C, Chuor CM, Nguon C, Sovannaroth S, Pukrittayakamee S, Jittamala P, Chotivanich K, Chutasmit K, Suchatsoonthorn C, Runchaoren R, Hien TT, Thuy-Nhien NT, Thanh NV, Phu NH, Htut Y, Han KT, Aye KH, Mokuolu OA, Olaosebikan RR, Folaranmi OO, Mayxay M, Khanthavong M, Hongvanthong B, Newton PN, Onyamboko MA, Fanello CI, Tshetu AK, Mishra N, Valecha N, Phyo AP, Nosten F, Yi P, Tripura R, Borrmann S, Bashraheil M, Peshu J, Faiz MA, Ghose A, Hossain MA, Samad R, Rahman MR, Hasan MM, Islam A, Miotto O, Amato R, MacInnis B, Stalker J, Kwiatkowski DP, Bozdech Z, Jeeyapant A, Cheah PY, Sakulthaew T, Chalk J, Intharabut B, Silamut K, Lee SJ, Vihokhern B, Kunasol C, Imwong M, Tarning J, Taylor WJ, Yeung S, Woodrow CJ, Flegg JA, Das D, Smith J, Venkatesan M, Plowe CV, Stepniewska K, Guerin PJ, Dondorp AM, Day NP, White NJ, Tracking Resistance to Artemisinin C, 2014. Spread of artemisinin resistance in Plasmodium falciparum malaria. *N Engl J Med* 371: 411-23.
48. Hawkes M, Conroy AL, Opoka RO, Namasopo S, Zhong K, Liles WC, John CC, Kain KC, 2015. Slow Clearance of Plasmodium falciparum in Severe Pediatric Malaria, Uganda, 2011-2013. *Emerg Infect Dis* 21: 1237-9.
49. Arie F, Witkowski B, Amaratunga C, Beghain J, Langlois AC, Khim N, Kim S, Duru V, Bouchier C, Ma L, Lim P, Leang R, Duong S, Sreng S, Suon S, Chuor CM, Bout DM, Menard S, Rogers WO, Genton B, Fandeur T, Miotto O, Ringwald P, Le Bras J, Berry A, Barale JC, Fairhurst RM, Benoit-Vical F, Mercereau-Puijalon O, Menard D, 2014. A molecular marker of artemisinin-resistant Plasmodium falciparum malaria. *Nature* 505: 50-5.
50. Mbengue A, Bhattacharjee S, Pandharkar T, Liu H, Estiu G, Stahelin RV, Rizk SS, Njimoh DL, Ryan Y, Chotivanich K, Nguon C, Ghorbal M, Lopez-Rubio JJ, Pfrender M, Emrich S, Mohandas N, Dondorp AM, Wiest O, Haldar K, 2015. A molecular mechanism of artemisinin resistance in Plasmodium falciparum malaria. *Nature* 520: 683-7.
51. Witkowski B, Amaratunga C, Khim N, Sreng S, Chim P, Kim S, Lim P, Mao S, Sopha C, Sam B, Anderson JM, Duong S, Chuor CM, Taylor WR, Suon S, Mercereau-Puijalon O, Fairhurst RM, Menard D, 2013. Novel phenotypic assays for the detection of artemisinin-resistant Plasmodium falciparum malaria in Cambodia: in-vitro and ex-vivo drug-response studies. *Lancet Infect Dis* 13: 1043-9.
52. Miotto O, Amato R, Ashley EA, MacInnis B, Almagro-Garcia J, Amaratunga C, Lim P, Mead D, Oyola SO, Dhorda M, Imwong M, Woodrow C, Manske M, Stalker J, Drury E, Campino S, Amenga-Etego L, Thanh TN, Tran HT, Ringwald P, Bethell D, Nosten F, Phyo AP,

- Pukrittayakamee S, Chotivanich K, Chuor CM, Nguon C, Suon S, Sreng S, Newton PN, Mayxay M, Khanthavong M, Hongvanthong B, Htut Y, Han KT, Kyaw MP, Faiz MA, Fanello CI, Onyamboko M, Mokuolu OA, Jacob CG, Takala-Harrison S, Plowe CV, Day NP, Dondorp AM, Spencer CC, McVean G, Fairhurst RM, White NJ, Kwiatkowski DP, 2015. Genetic architecture of artemisinin-resistant *Plasmodium falciparum*. *Nat Genet* 47: 226-34.
53. Geneva WHO, 2009. WHO AnthroPlus for personal computers Manual: Software for assessing growth of the world's children and adolescents.
54. Sullivan KM, Mei Z, Grummer-Strawn L, Parvanta I, 2008. Haemoglobin adjustments to define anaemia. *Trop Med Int Health* 13: 1267-71.
55. Rubio JM, Post RJ, van Leeuwen WM, Henry MC, Lindergard G, Hommel M, 2002. Alternative polymerase chain reaction method to identify *Plasmodium* species in human blood samples: the semi-nested multiplex malaria PCR (SnM-PCR). *Trans R Soc Trop Med Hyg* 96 Suppl 1: S199-204.
56. Basuni M, Muhi J, Othman N, Verweij JJ, Ahmad M, Miswan N, Rahumatullah A, Aziz FA, Zainudin NS, Noordin R, 2011. A pentaplex real-time polymerase chain reaction assay for detection of four species of soil-transmitted helminths. *Am J Trop Med Hyg* 84: 338-43.
57. Verweij JJ, Blange RA, Templeton K, Schinkel J, Brienen EA, van Rooyen MA, van Lieshout L, Polderman AM, 2004. Simultaneous detection of *Entamoeba histolytica*, *Giardia lamblia*, and *Cryptosporidium parvum* in fecal samples by using multiplex real-time PCR. *J Clin Microbiol* 42: 1220-3.
58. GSL Biotech, Available at: <https://www.snapgene.com>. Accessed.
59. Hall TA, BioEdit v.7.2.5. Available at: <http://www.mbio.ncsu.edu/BioEdit/bioedit.html>. Accessed.
60. Aurrecochea C, Brestelli J, Brunk BP, Dommer J, Fischer S, Gajria B, Gao X, Gingle A, Grant G, Harb OS, Heiges M, Innamorato F, Iodice J, Kissinger JC, Kraemer E, Li W, Miller JA, Nayak V, Pennington C, Pinney DF, Roos DS, Ross C, Stoeckert CJ, Jr., Treatman C, Wang H, 2009. PlasmoDB: a functional genomic database for malaria parasites. *Nucleic Acids Res* 37: D539-43.
61. Al Serouri AW, Grantham-McGregor SM, Greenwood B, Costello A, 2000. Impact of asymptomatic malaria parasitaemia on cognitive function and school achievement of schoolchildren in the Yemen Republic. *Parasitology* 121 (Pt 4): 337-45.
62. Boivin MJ, Giordani B, Ndanga K, Maky MM, Manzeki KM, Ngunu N, Muamba K, 1993. Effects of treatment for intestinal parasites and malaria on the cognitive abilities of schoolchildren in Zaire, Africa. *Health Psychol* 12: 220-6.
63. Babiker HA, Abdel-Muhsin AM, Ranford-Cartwright LC, Satti G, Walliker D, 1998. Characteristics of *Plasmodium falciparum* parasites that survive the lengthy dry season in eastern Sudan where malaria transmission is markedly seasonal. *Am J Trop Med Hyg* 59: 582-90.
64. Roucher C, Rogier C, Dieye-Ba F, Sokhna C, Tall A, Trape JF, 2012. Changing malaria epidemiology and diagnostic criteria for *Plasmodium falciparum* clinical malaria. *PLoS One* 7: e46188.
65. Greenwood BM, 1987. Asymptomatic malaria infections--do they matter? *Parasitol Today* 3: 206-14.
66. Lin JT, Ubalee R, Lon C, Balasubramanian S, Kuntawunginn W, Rahman R, Saingam P, Heng TK, Vy D, San S, Nuom S, Burkly H, Chanarat N, Ponsa C, Levitz L, Parobek C, Chuor CM, Somethy S, Spring M, Lanteri C, Gosi P, Meshnick SR, Saunders DL, 2016. Microscopic *Plasmodium falciparum* Gametocytemia and Infectivity to Mosquitoes in Cambodia. *J Infect Dis* 213: 1491-4.
67. Osazuwa F, Ayo OM, Imade P, 2011. A significant association between intestinal helminth infection and anaemia burden in children in rural communities of Edo state, Nigeria. *N Am J Med Sci* 3: 30-4.
68. Ngui R, Lim YA, Chong Kin L, Sek Chuen C, Jaffar S, 2012. Association between anaemia, iron deficiency anaemia, neglected parasitic infections and socioeconomic factors in rural children of West Malaysia. *PLoS Negl Trop Dis* 6: e1550.
69. Ferreira MR, Souza W, Perez EP, Lapa T, Carvalho AB, Furtado A, Coutinho HB, Wakelin D, 1998. Intestinal helminthiasis and anaemia in youngsters from Matriz da Luz, district of Sao Lourenco da Mata, state of Pernambuco, Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 93: 289-93.
70. Zhao A, Gao H, Li B, Yu K, Win NN, Zhang Y, Wang P, 2015. Potential Contribution of Iron Deficiency and Multiple Factors to Anemia Among 6- to 72-Month-Old Children in the Kokang Area of Myanmar. *Am J Trop Med Hyg* 93: 836-40.

71. Hesham MS, Edariah AB, Norhayati M, 2004. Intestinal parasitic infections and micronutrient deficiency: a review. *Med J Malaysia* 59: 284-93.
72. Tanumihardjo SA, Permaesih D, Muhilal, 2004. Vitamin A status and hemoglobin concentrations are improved in Indonesian children with vitamin A and deworming interventions. *Eur J Clin Nutr* 58: 1223-30.
73. Pullan R, Brooker S, 2008. The health impact of polyparasitism in humans: are we under-estimating the burden of parasitic diseases? *Parasitology* 135: 783-94.
74. Yimam Y, Degarege A, Erko B, 2016. Effect of anthelmintic treatment on helminth infection and related anaemia among school-age children in northwestern Ethiopia. *BMC Infect Dis* 16: 613.
75. Melo GC, Reyes-Lecca RC, Vitor-Silva S, Monteiro WM, Martins M, Benzecry SG, Alecrim M, Lacerda MV, 2010. Concurrent helminthic infection protects schoolchildren with *Plasmodium vivax* from anemia. *PLoS One* 5: e11206.
76. Zeukeng F, Tchinda VH, Bigoga JD, Seumen CH, Ndzi ES, Abonweh G, Makoge V, Motsebo A, Moyou RS, 2014. Co-infections of malaria and geohelminthiasis in two rural communities of Nkassomo and Vian in the Mfou health district, Cameroon. *PLoS Negl Trop Dis* 8: e3236.
77. Al-Mekhlafi MS, Azlin M, Nor Aini U, Shaik A, Sa'iah A, Fatmah MS, Ismail MG, Ahmad Firdaus MS, Aisah MY, Rozlida AR, Norhayati M, 2005. Giardiasis as a predictor of childhood malnutrition in Orang Asli children in Malaysia. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 99: 686-91.
78. Hussein EM, Zaki WM, Ahmed SA, Almatary AM, Nemr NI, Hussein AM, 2016. Predominance of *Giardia lamblia* assemblage A among iron deficiency anaemic pre-school Egyptian children. *Parasitol Res* 115: 1537-45.
79. Jerez Puebla LE, Nunez FA, Martinez Silva I, Rojas Rivero L, Martinez Gonzalez M, Mendez Sutil Y, Ayllon Valdes L, Atencio Millan I, Muller N, 2015. Molecular Characterization and Risk Factors of *Giardia duodenalis* among School Children from La Habana, Cuba. *J Parasitol Res* 2015: 378643.
80. Hussein EM, Ismail OA, Mokhtar AB, Mohamed SE, Saad RM, 2017. Nested PCR targeting intergenic spacer (IGS) in genotyping of *Giardia duodenalis* isolated from symptomatic and asymptomatic infected Egyptian school children. *Parasitol Res* 116: 763-771.
81. Cook DM, Swanson RC, Eggett DL, Booth GM, 2009. A retrospective analysis of prevalence of gastrointestinal parasites among school children in the Palajunoy Valley of Guatemala. *J Health Popul Nutr* 27: 31-40.
82. Northrop-Clewes CA, Rousham EK, Mascie-Taylor CN, Lunn PG, 2001. Anthelmintic treatment of rural Bangladeshi children: effect on host physiology, growth, and biochemical status. *Am J Clin Nutr* 73: 53-60.
83. Verhagen LM, Incani RN, Franco CR, Ugarte A, Cadenas Y, Sierra Ruiz CI, Hermans PW, Hoek D, Campos Ponce M, de Waard JH, Pinelli E, 2013. High malnutrition rate in Venezuelan Yanomami compared to Warao Amerindians and Creoles: significant associations with intestinal parasites and anemia. *PLoS One* 8: e77581.
84. Rajoo Y, Ambu S, Lim YA, Rajoo K, Tey SC, Lu CW, Ngui R, 2017. Neglected Intestinal Parasites, Malnutrition and Associated Key Factors: A Population Based Cross-Sectional Study among Indigenous Communities in Sarawak, Malaysia. *PLoS One* 12: e0170174.
85. Esu EB, Oringanje C, Meremikwu MM, 2019. Intermittent preventive treatment for malaria in infants. *Cochrane Database Syst Rev* 12: CD011525.
86. World Health Organization, 2017. Malaria Prevention Works. Available at: <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/254991/WHO-HTM-GMP-2017.6-eng.pdf?sequence=1>. Accessed.
87. Taylor SM, Parobek CM, DeConti DK, Kayentao K, Coulibaly SO, Greenwood BM, Tagbor H, Williams J, Bojang K, Njie F, Desai M, Kariuki S, Gutman J, Mathanga DP, Martensson A, Ngasala B, Conrad MD, Rosenthal PJ, Tshefu AK, Moormann AM, Vulule JM, Doumbo OK, Ter Kuile FO, Meshnick SR, Bailey JA, Juliano JJ, 2015. Absence of putative artemisinin resistance mutations among *Plasmodium falciparum* in Sub-Saharan Africa: a molecular epidemiologic study. *J Infect Dis* 211: 680-8.
88. Kamau E CS, Amenga-Etego L, Drury E, Ishengoma D, Johnson K, Mumba D, Kekre M, Yavo W, Mead D, Bouyou-Akotet M, Apinjoh T, Golassa L, Randrianariveolosia M, Andagalu B, Maiga-Ascofare O, Amambua-Ngwa A, Tindana P, Ghansah A, MacInnis B, Kwiatkowski D, Djimde AA, 2015. K13-propeller polymorphisms in *Plasmodium falciparum* parasites from sub-Saharan Africa. *J Infect Dis* Apr 15;211(8):1352-5.

89. Amato R MO, Woodrow CJ, Almagro-Garcia J, Sinha I, Campino S, Mead D, Drury E, Kekre M, Sanders M, Amambua-Ngwa A, Amaratunga C, Amenga-Etego L, Andrianarajaka V, Apinjoh T, Ashley E, Auburn S, Awandare GA, Baraka V, Barry A, Boni MF, Borrmann S, Bousema T, Branch O, Bull PC, Chotivanich K, Conway DJ, Craig A, Day NP, Djimdé A, Dolecek C, Dondorp AM, Drakeley C, Duffy P, Echeverry DF, Egwang TG, Fairhurst RM, Faiz MA, Fanello CI, Hien TT, Hodgson A, Imwong M, Ishengoma D, Lim P, Lon C, Marfurt J, Marsh K, Mayxay M, Michon P, Mobegi V, Mokuolu OA, Montgomery J, Mueller I, Kyaw MP, Newton PN, Nosten F, Noviyanti R, Nzila A, Ocholla H, Oduro A, Onyamboko M, Ouedraogo JB, Phyo AP, Plowe C, Price RN, Pukrittayakamee S, Randrianarivelojosa M, Ringwald P, Ruiz L, Saunders D, Shayo A, Siba P, Takala-Harrison S, Thanh TN, Thathy V, Verra F, Wendler J, White NJ, Ye H, Cornelius VJ, Giacomantonio R, Muddyman D, Henrichs C, Malangone C, Jyothi D, Pearson RD, Rayner JC, McVean G, Rockett KA, Miles A, Vauterin P, Jeffery B, Manske M, Stalker J, MacInnis B, Kwiatkowski DP, MalariaGEN Consortium 2016. Genomic epidemiology of artemisinin resistant malaria. *Elife* pii: e08714.
90. President's Malaria Initiative, 2019. Rwanda Malaria Operational Plan. Available at: <https://www.pmi.gov/docs/default-source/default-document-library/malaria-operational-plans/fy19/fy-2019-rwanda-malaria-operational-plan.pdf?sfvrsn=3>. Accessed.
91. Zeile I, Gahutu JB, Shyirambere C, Steininger C, Musemakweri A, Sebahungu F, Karema C, Harms G, Eggelte TA, Mockenhaupt FP, 2012. Molecular markers of Plasmodium falciparum drug resistance in southern highland Rwanda. *Acta Trop* 121: 50-4.

Eidesstattliche Versicherung

„Ich, Dominik Theodor Wilhelm Geus, versichere an Eides statt durch meine eigenhändige Unterschrift, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema: „Prävalenz, Risikofaktoren und Manifestation von Polyparasitismus bei Schulkindern in Ruanda mit besonderer Betrachtung von Artemisininresistenz bei *Plasmodium falciparum*“ selbstständig und ohne nicht offengelegte Hilfe Dritter verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel genutzt habe.

Alle Stellen, die wörtlich oder dem Sinne nach auf Publikationen oder Vorträgen anderer Autoren/innen beruhen, sind als solche in korrekter Zitierung kenntlich gemacht. Die Abschnitte zu Methodik (insbesondere praktische Arbeiten, Laborbestimmungen, statistische Aufarbeitung) und Resultaten (insbesondere Abbildungen, Graphiken und Tabellen) werden von mir verantwortet.

Ich versichere ferner, dass ich die in Zusammenarbeit mit anderen Personen generierten Daten, Datenauswertungen und Schlussfolgerungen korrekt gekennzeichnet und meinen eigenen Beitrag sowie die Beiträge anderer Personen korrekt kenntlich gemacht habe (siehe Anteilserklärung). Texte oder Textteile, die gemeinsam mit anderen erstellt oder verwendet wurden, habe ich korrekt kenntlich gemacht.

Meine Anteile an etwaigen Publikationen zu dieser Dissertation entsprechen denen, die in der untenstehenden gemeinsamen Erklärung mit dem Erstbetreuer, angegeben sind. Für sämtliche im Rahmen der Dissertation entstandenen Publikationen wurden die Richtlinien des ICMJE (International Committee of Medical Journal Editors; www.icmje.org) zur Autorenschaft eingehalten. Ich erkläre ferner, dass ich mich zur Einhaltung der Satzung der Charité – Universitätsmedizin Berlin zur Sicherung Guter Wissenschaftlicher Praxis verpflichte.

Weiterhin versichere ich, dass ich diese Dissertation weder in gleicher noch in ähnlicher Form bereits an einer anderen Fakultät eingereicht habe.

Die Bedeutung dieser eidesstattlichen Versicherung und die strafrechtlichen Folgen einer unwahren eidesstattlichen Versicherung (§§156, 161 des Strafgesetzbuches) sind mir bekannt und bewusst.“

Datum

Unterschrift

Anteilserklärung an den erfolgten Publikationen

Dominik Theodor Wilhelm Geus hatte folgenden Anteil an den folgenden Publikationen:

Publikation 1: **Geus D**, Sifft KC, Habarugira F, Mugisha JC, Mukampunga C, Ndoli J, Bayingana C, Sendegeya A, Martus P, Fraundorfer K, von Samson-Himmelstjerna G, Gahutu JB, Klotz C, Aebischer A, Mockenhaupt FP, 2019. Co-infections with Plasmodium, Ascaris and Giardia among Rwandan schoolchildren. Trop Med Int Health 24: 409-420.

Beitrag im Einzelnen: Mitwirken bei der Entwicklung der Studienunterlagen; Mithilfe bei der Rekrutierung der Probanden; Organisation und Koordination der Proben- und Datensammlung vor Ort; Mitwirken bei der klinischen Datensammlung am Untersuchungstag sowie Durchführung der Malaria-Schnelltests; Tätig bei der Aufbereitung (Blutausstrich; Asservierung) der Blut- und Stuhlproben am Untersuchungstag; Mithilfe bei der manuellen Eingabe der Daten (Fragebögen, Laborbefunde); Eigenständige DNS-Extraktion der 878 Stuhlproben; Durchführung der Real-Time PCR; Erstellung der statistischen Auswertung sowie Mitwirken bei der finalen Auswertung; Anhand der statistischen Auswertungen entstanden die Abbildungen (1 – 4) sowie Tabellen (1 – 4) und Ergänzenden Tabellen (1 und 2). Selbstständige Literaturrecherche sowie Erstellen der Diagramme (Abbildung 1 – 4; Tabelle 1 – 4; Ergänzende Tabellen 1 und 2); Federführend beim Schreiben sowie Mithilfe bei Korrektur und Revision des Manuskripts.

Publikation 2: Sifft KC, **Geus D**, Mukampunga C, Mugisha JC, Habarugira F, Fraundorfer K, Bayingana C, Ndoli J, Umulisa I, Karema C, von Samson-Himmelstjerna G, Aebischer T, Martus P, Sendegeya A, Gahutu JB, Mockenhaupt FP, 2016. Asymptomatic only at first sight: malaria infection among schoolchildren in highland Rwanda. Malar J 15: 553.

Beitrag im Einzelnen: Mitwirken bei der Entwicklung der Studienunterlagen; Mithilfe bei der Rekrutierung der Probanden; Organisation und Koordination der Proben- und Datensammlung vor Ort; Mitwirken bei der klinischen Datensammlung am Untersuchungstag sowie Durchführung der Malaria-Schnelltests; Tätig bei der Aufbereitung (Blutausstrich; Asservierung) der Blutproben am Untersuchungstag; Mithilfe bei der manuellen Eingabe der

Daten (Fragebögen, Laborbefunde); Mitarbeit bei der Korrektur und Revision des Manuskripts.

Publikation 3: Tacoli C, Gai PP, Bayingana C, Siff K, **Geus D**, Ndoli J, Sendegeya A, Gahutu JB, Mockenhaupt FP, 2016. Artemisinin Resistance-Associated K13 Polymorphisms of Plasmodium falciparum in Southern Rwanda, 2010-2015. Am J Trop Med Hyg 95: 1090-1093.

Beitrag im Einzelnen: Mithilfe bei der Rekrutierung der Probanden; Mitwirken bei der Organisation und Koordination der Proben- und Datensammlung vor Ort; Mitwirken bei der klinischen Datensammlung am Untersuchungstag sowie Durchführung der Malaria-Schnelltests; Tätig bei der Aufbereitung (Blutausstrich; Asservierung) der Blutproben am Untersuchungstag; Mitarbeit bei der Korrektur und Revision des Manuskripts.

Unterschrift, Datum und Stempel des erstbetreuenden Hochschullehrers

Dominik Theodor Wilhelm Geus

Druckexemplare der ausgewählten Publikationen

Auf folgenden Seiten finden sich die ausgewählten Publikationen als Druckexemplar in der entsprechender Reihenfolge mit Angabe der Seitenzahlen:

1. **Geus D**, Sifft KC, Habarugira F, Mugisha JC, Mukampunga C, Ndoli J, Bayingana C, Sendegeya A, Martus P, Fraundorfer K, von Samson-Himmelstjerna G, Gahutu JB, Klotz C, Aebischer A, Mockenhaupt FP, 2019. Co-infections with Plasmodium, Ascaris and Giardia among Rwandan schoolchildren. Trop Med Int Health 24: 409-420.
<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/tmi.13206>
Impact-Faktor 2019: 2,308
Seite 35 – 46
(Das Kapitel „Supporting Information“ der Publikation findet sich auf Seite 47 – 52; <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/tmi.13206>)
2. Sifft KC, **Geus D**, Mukampunga C, Mugisha JC, Habarugira F, Fraundorfer K, Bayingana C, Ndoli J, Umulisa I, Karema C, von Samson-Himmelstjerna G, Aebischer T, Martus P, Sendegeya A, Gahutu JB, Mockenhaupt FP, 2016. Asymptomatic only at first sight: malaria infection among schoolchildren in highland Rwanda. Malar J 15: 553.
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5109732/pdf/12936_2016_Article_1606.pdf
Impact-Faktor 2016: 2,715
Seite 53 - 62
3. Tacoli C, Gai PP, Bayingana C, Sifft K, **Geus D**, Ndoli J, Sendegeya A, Gahutu JB, Mockenhaupt FP, 2016. Artemisinin Resistance-Associated K13 Polymorphisms of Plasmodium falciparum in Southern Rwanda, 2010-2015. Am J Trop Med Hyg 95: 1090-1093.
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5094222/pdf/tropmed-95-1090.pdf>
Impact-Faktor 2016: 2,549
Seite 63 – 66

Geus D, Sifft KC, Habarugira F, Mugisha JC, Mukampunga C, Ndoli J, Bayingana C, Sendegeya A, Martus P, Fraundorfer K, von Samson-Himmelstjerna G, Gahutu JB, Klotz C, Aebischer A, Mockenhaupt FP, 2019. Co-infections with Plasmodium, Ascaris and Giardia among Rwandan schoolchildren. *Trop Med Int Health* 24: 409-420.
<https://doi.org/10.1111/tmi.13206>

Sifft KC, Geus D, Mukampunga C, Mugisha JC, Habarugira F, Fraundorfer K, Bayingana C, Ndoli J, Umulisa I, Karema C, von Samson-Himmelstjerna G, Aebischer T, Martus P, Sendegeya A, Gahutu JB, Mockenhaupt FP, 2016. Asymptomatic only at first sight: malaria infection among schoolchildren in highland Rwanda. *Malar J* 15: 553.
<https://doi.org/10.1186/s12936-016-1606-x>

Tacoli C, Gai PP, Bayingana C, Sifft K, Geus D, Ndoli J, Sendegeya A, Gahutu JB, Mockenhaupt FP, 2016. Artemisinin Resistance-Associated K13 Polymorphisms of *Plasmodium falciparum* in Southern Rwanda, 2010-2015. *Am J Trop Med Hyg* 95: 1090-1093.
<https://doi.org/10.4269/ajtmh.16-0483>

Mein Lebenslauf wird aus datenschutzrechtlichen Gründen in der elektronischen Version meiner Arbeit nicht veröffentlicht

Komplette Publikationsliste

1. **Geus D**, Suttorp N. Kapitel 214, Oberflächliche Mykosen und seltenere systemische Mykosen. In: Suttorp N, Möckel M, Siegmund B, Dietel M, Hrsg. *Harrisons Innere Medizin*, 20. Auflage. Berlin: ABW Wissenschaftsverlag; 2020. S. 1922–1928.
2. **Geus D**, Sifft KC, Habarugira F, Mugisha JC, Mukampunga C, Ndoli J, Bayingana C, Sendegeya A, Martus P, Fraundorfer K, von Samson-Himmelstjerna G, Gahutu JB, Klotz C, Aebischer A, Mockenhaupt FP, 2019. Co-infections with *Plasmodium*, *Ascaris* and *Giardia* among Rwandan schoolchildren. *Trop Med Int Health* 24: 409-420.
3. Sifft KC, **Geus D**, Mukampunga C, Mugisha JC, Habarugira F, Fraundorfer K, Bayingana C, Ndoli J, Umulisa I, Karema C, von Samson-Himmelstjerna G, Aebischer T, Martus P, Sendegeya A, Gahutu JB, Mockenhaupt FP, 2016. Asymptomatic only at first sight: malaria infection among schoolchildren in highland Rwanda. *Malar J* 15: 553.
4. Tacoli C, Gai PP, Bayingana C, Sifft K, **Geus D**, Ndoli J, Sendegeya A, Gahutu JB, Mockenhaupt FP, 2016. Artemisinin Resistance-Associated K13 Polymorphisms of *Plasmodium falciparum* in Southern Rwanda, 2010-2015. *Am J Trop Med Hyg* 95: 1090-1093.
5. Krucken J, Fraundorfer K, Mugisha JC, Ramunke S, Sifft KC, **Geus D**, Habarugira F, Ndoli J, Sendegeya A, Mukampunga C, Bayingana C, Aebischer T, Demeler J, Gahutu JB, Mockenhaupt FP, von Samson-Himmelstjerna G, 2017. Reduced efficacy of albendazole against *Ascaris lumbricoides* in Rwandan schoolchildren. *Int J Parasitol Drugs Drug Resist* 7: 262-271.

Danksagung

An dieser Stelle möchte ich mich bei allen bedanken, die mich während der Arbeit an dieser Dissertation begleitet und unterstützt haben.

Insbesondere möchte ich Professor Dr. med. Frank Mockenhaupt danken für die hervorragende Betreuung, das gesetzte Vertrauen, die vielen Ideen und Anregungen, das Heranführen an das wissenschaftliche Arbeiten und die Unterstützung in der Fertigstellung der Promotion.

Weiterhin gilt mein besonderer Dank den vielen Mitarbeitern im Projekt für deren Durchhaltevermögen, Flexibilität und Lebensfreude. Ebenso danke ich den teilnehmenden Kindern und Familien für ihr Vertrauen.

Mein herzlicher Dank geht ebenso an meine Mitdoktoranden Kevin Sifft, Kira Frauendorf und Matthias Kurz für deren tatkräftige Unterstützung und den motivierenden Gedankenaustausch.

Von ganzem Herzen danke ich meiner gesamten Familie für die kompromisslose Unterstützung während des gesamten Studiums und darüber hinaus.