

Aus dem

Klinikum der Universität München (LMU)

Abteilung für Infektions- und Tropenmedizin

(Direktor: Prof. Dr. med. Michael Hölscher)



# **Epidemiologie, Diagnostik und Präventionsmaßnahmen der Malaria**

Kumulative Habilitationsschrift

vorgelegt von

Dr. med. Michael Pritsch

(2018)

## Inhaltsverzeichnis

1.	Zusammenfassung und Einordnung des Habilitationsprojektes .....	1
2.	Kurze Einführung in wichtige Themenbereiche .....	2
3.	Beschreibung der Teile dieses Habilitationsprojektes .....	5
3.1	Epidemiologische Untersuchungen in der Region Jimma, Äthiopien .....	5
3.2	Malaria bei Schwangeren der Region Cross River State, Nigeria .....	5
3.3	Detektion von Gametozyten mittels QT-NASBA .....	6
3.4	Methylenblau zur Behandlung von Malaria .....	7
3.5	Transmissionsversuche mit Moskitos in Jimma, Äthiopien .....	7
3.6	Analyse von Patientendaten der Ambulanz des Tropeninstitutes in München.....	8
3.7	Impfstoffentwicklung für Malaria und andere Infektionserkrankungen.....	8
3.8	Beobachtungsstudie Gelbfieberimpfung.....	8
4.	Danksagung.....	10
5.	Literaturverzeichnis .....	11
6.	Abkürzungen.....	13

# **1. Zusammenfassung und Einordnung des Habilitationsprojektes**

Für das Jahr 2015 geht die Weltgesundheitsorganisation von 212 Millionen Erkrankungs- und 429 000 Todesfällen durch Malaria aus (WHO 2016). Betroffene Länder – aktuell gelten noch 91 Länder als endemisch für Malaria – werden durch diese hohe Morbidität und Mortalität substanziell mit allen dazugehörigen Folgen in ihrer Entwicklung gehemmt (WHO 2016). Elimination und letztendlich Eradikation von Malaria wurden von der Weltgemeinschaft erneut als Ziele formuliert, allerdings sind diese mit den aktuell verfügbaren Möglichkeiten noch nicht zu erreichen (Hall & Fauci 2009).

Die in dieser Habilitationsschrift zusammengefassten Forschungsarbeiten zu Malaria befassen sich überwiegend mit der Epidemiologie, der Optimierung diagnostischer Verfahren, der Überwachung klinischer und molekularer Medikamentenresistenz, sowie dem großen Bereich der Entwicklung neuer therapeutischer Optionen und präventiver Maßnahmen. Als Voraussetzung - insbesondere für den letztgenannten Punkt - ist unter anderem ein grundlegendes Verständnis der Korrelate einer effektiven Schutzwirkung notwendig. Einige der in dieser Habilitationsschrift beschriebenen Forschungsthemen (z. B. die Entwicklung neuartiger Impfmethode bzw. grundlagenwissenschaftliche und immunologische Untersuchungen) sind auch für andere (Infektions-)Erkrankungen von Bedeutung.

Nach einer kurzen Einführung in wichtige Themenbereiche (Kapitel 2) werden in dieser Habilitationsschrift zusammenfassend die einzelnen Forschungsprojekte, deren Ergebnisse und deren Bedeutung beschrieben (Kapitel 3 mit Unterpunkten). Im Kapitel 5 sind die entsprechenden – bereits in Fachzeitschriften veröffentlichten – Originalarbeiten aufgeführt.

## 2. Kurze Einführung in wichtige Themenbereiche

Infektionserkrankungen generell und Malaria im Speziellen stellen auch heutzutage global sehr relevante Probleme dar (Murray et al. 2012). Malaria ist derzeit hauptsächlich in den (sub-) tropischen Gebieten prävalent und zu Beginn des Jahres 2016 war fast die Hälfte der Weltbevölkerung dem Risiko einer Malariainfektion unterworfen (WHO 2016).

Die Erreger werden durch weibliche Moskitos der *Anopheles spp.* übertragen und aktuell werden bis zu sechs humanpathogene Malariaspezies unterschieden: *Plasmodium falciparum*, *P. vivax*, *P. ovale* (unterteilt in *P. ovale wallikeri* und *P. ovale curtesii*), *P. malariae* sowie *P. knowlesi* (WHO 2016).

Sogenannte Gametozyten sind die im menschlichen Körper zirkulierenden Überträgerstadien der Malariarerreger, welche selbst keine Krankheitssymptome hervorrufen. Sie können die als Vektor fungierenden Moskitos infizieren (Bousema & Drakeley 2011). Nach der Aufnahme in die Moskitos zusammen mit dem Blut entwickeln diese sich in den Vektoren weiter und können dann in der Form von infektiösen Sporozoiten erneut Menschen mit Malaria infizieren (Bousema & Drakeley 2011).

Klinisch zeigt sich eine Malariainfektion am häufigsten durch Fieberschübe und unspezifische Allgemeinsymptome. Unterschiedliche Organbeteiligungen können zu Komplikationen führen und hängen unter anderem von der befallenden Malariaspezies ab (White et al. 2014). *Plasmodium falciparum* gilt als die gefährlichste Form der Malaria und verursacht weltweit mit großem Abstand die meisten Todesfälle (WHO 2016).

Finden rezidivierende Infektionen statt, kann eine Semi-Immunität entstehen. Diese ist sowohl durch Antikörper als auch durch die zelluläre Immunantwort vermittelt und kann vor schweren Verläufen schützen bzw. asymptomatische Infektionen ermöglichen. Bei fehlender Exposition vermindert sich diese Semi-Immunität jedoch schnell und geht innerhalb von Monaten bis Jahren wieder verloren (Cowman et al. 2016).

Als Goldstandard der Malariadiagnostik fungiert weiterhin die Blutuntersuchung mittels Mikroskop. Ein „Dicker Tropfen“ und ein Blutaussstrich werden angefertigt. Durch Färbetechniken sind die Parasiten sichtbar und eine Bestimmung der Parasitämie sowie die Unterscheidung der befallenden Spezies ist möglich (Bousema&Drakeley 2011). Auf Antigenen basierende Schnelltests kommen in

der Patientenversorgung immer häufiger zum Einsatz. Molekulare [Polymerase-Ketten-Reaktion (PCR) oder auch Real-Time Quantitative Nucleic Acid Sequence-Based Amplification (QT-NASBA)] sowie serologische Methoden haben in der Patientenversorgung kaum Bedeutung und werden hauptsächlich für epidemiologische Untersuchungen, Gutachten und Forschungsprojekte eingesetzt (WHO 2016).

Die Standardtherapie besteht aktuell in den meisten Fällen aus sogenannten Artemisinin-Kombinations-Präparaten (Artemisinin-based Combination Therapies, ACTs). Das Artemisinin tötet die Parasiten schnell ab und wird zusätzlich mit einer länger wirksamen Komponente kombiniert (White et al. 2014). Eine komplizierte Malariaerkrankung wird initial so lange durch intravenöse Gabe von Artemisinin behandelt, bis eine zuverlässige Umstellung auf eine orale Therapie möglich ist. Die sich entwickelnden Medikamentenresistenzen stellen eine große Gefahr und Herausforderung dar (Cowman et al. 2016).

Als wichtigste Präventionsmaßnahmen gelten aktuell die konsequente Expositionsprophylaxe mittels imprägnierten Moskitonetzen, sowie die Verwendung von Insektenschutzmitteln und Insektiziden (z.B. „in-house spraying“). Weiterhin nimmt die zuverlässige Diagnostik und Therapie von Malariaerkrankungen einen hohen Stellenwert ein. Bevorzugt sollten therapeutisch Präparate eingesetzt werden, welche auch die Überträgerformen/Gametozyten abtöten und so die Transmission von Malaria unterbrechen (WHO 2016).

Zur Zeit ist noch kein Impfstoff mit anhaltender und ausreichender Schutzwirkung gegen Malaria im Einsatz, womit die effektivste präventive Maßnahme gegen (die meisten) Infektionserkrankungen nicht zur Verfügung steht (WHO 2016). Das menschliche Abwehrsystem gegen Infektionen setzt sich aus verschiedensten Mechanismen zusammen und ist sehr komplex. Die Impfstoffforschung wird durch Krankheiten wie Malaria vor große Probleme gestellt, da diese Erkrankungen oft sehr diverse Antigenkompositionen besitzen und mit einfachen Vakzinen gegen singuläre Zielstrukturen (z. B. Toxine) nicht sicher zu verhindern sind (Cowman et al. 2016).

Die Weltgemeinschaft hat seit einiger Zeit erneut das Ziel der Eradikation von Malaria ausgerufen. Hierfür ist es notwendig, alle bereits vorhandenen Maßnahmen und Ressourcen zu bündeln. Weiterhin sind ein besseres Verständnis der Epidemiologie, optimierte diagnostische Verfahren, auch die

Transmission unterbindende Medikamentenkombinationen sowie ein grundlegendes Verständnis effektiver Immunantworten und der durch dieses Wissen ermöglichten Weiterentwicklung wirksamer Präventions- und Therapiemaßnahmen unentbehrlich im Kampf gegen diese und andere Infektionserkrankungen (Hall & Fauci 2009).

### **3. Beschreibung der Teile dieses Habilitationsprojektes**

Nachfolgend sind die einzelnen Teile dieses Habilitationsprojektes aufgeführt. Für das Verständnis notwendige Aspekte werden jeweils kurz erläutert. Die wichtigsten Ergebnisse zusammen mit ihrer Relevanz werden knapp diskutiert. Für die ausführliche Diskussion inklusive aller Literaturbelege wird auf die im Kapitel 5 der kumulativen Habilitationsschrift aufgeführten und bereits in Fachzeitschriften veröffentlichten Originalarbeiten verwiesen.

#### **3.1 Epidemiologische Untersuchungen in der Region Jimma, Äthiopien**

Ungefähr 75% der Landesfläche Äthiopiens gelten als endemisch für Malaria. Landesweit sind Infektionen durch *P. falciparum* gefolgt von *P. vivax* am häufigsten. Es bestehen jedoch ausgeprägte regionale und auch saisonale Unterschiede. In Äthiopien traten hohe Resistenzraten bei *P. falciparum* gegenüber Sulfadoxin/Pyrimethamin auf. Aus diesem Grund wurde im Jahr 2004 Artemether/Lumefantrin (AL) als Mittel der Wahl eingeführt. Unsere Forschungsarbeiten konzentrieren sich auf die Region Jimma im Süd-Westen des Landes. Dort besteht eine moderate Transmission mit Krankheitsgipfeln während und vor allem nach Regenzeiten. Die fortwährende Durchführung von epidemiologischen Studien ist für die Planung und Ausführung klinischer Studien sowie die Entwicklung von Leitlinien und Interventionen unabdingbar.

Von uns durchgeführte Studien zeigten einen Anteil von 36-70% aller Malariafälle in dieser Region durch *P. vivax*, wobei eine hohe örtliche Variabilität der prozentualen Infektionsraten bestand. Im Jahr 2009 führten wir an 400 Patienten mit unkomplizierter Malaria tropica eine Studie durch. Es zeigte sich weiterhin ein gutes Ansprechen auf AL. Die Rekrudescenzrate lag jedoch insgesamt bei 5%, bei Kindern unter fünf Jahren sogar bei 10% (Eshetu et al. 2012).

Anfang 2014 untersuchten wir Proben von 300 mit *P. vivax* infizierten Patienten aus der Stadt Jimma. Die Prävalenz von mit Chloroquin- sowie AL-Resistenz assoziierten Markern und Genen wurde getestet. Seit Einführung von AL als Standardmedikation zeigte sich ein Anstieg eines unter AL selektierten Markers von 14% auf 99% (Heuchert et al. 2015).

#### **3.2 Malaria bei Schwangeren der Region Cross River State, Nigeria**

Malaria in der Schwangerschaft stellt ein besonderes Problem in der Gesundheitsversorgung dar. Im Jahr 2017 bekam Ekpereonne Esu vom Center for International Health (CIH) der LMU den PhD für ein klinisches Forschungsprojekt an Schwangeren der Region Cross River State in Nigeria verliehen. In diesem unter anderen von mir betreuten Projekt wurde die Effektivität zwei verschiedener Prophylaxeregime gegen Malaria in der Schwangerschaft untersucht. Als primärer Endpunkt wurde das Geburtsgewicht der Kinder verwendet. Zusätzlich wurde neben der klinischen Effektivität auch

die Prävalenz von Resistenzmarkern bestimmt (Esu et al. 2018; Esu et al., Manuskript derzeit in Begutachtung).

### **3.3 Detektion von Gametozyten mittels QT-NASBA**

Epidemiologische und klinische Studien über Gametozyten und Methoden zur Detektion ebendieser bilden einen Schwerpunkt unserer Arbeitsgruppe. Gametozyten sind als sogenannte sexuelle Stadien der Malariaerreger für die Übertragung der Malaria vom Menschen auf Moskitos zuständig. Bei Eradikationsbemühungen muss hierauf ein Fokus gelegt werden. Mittels Mikroskop können Konzentration ab ungefähr 5 Gametozyten pro  $\mu\text{l}$  festgestellt werden, jedoch können bereits Konzentrationen deutlich unter  $0,1/\mu\text{l}$  für Mücken infektiös sein (Bousema/Drakeley 2011). In unseren Laboren etablierten wir die extrem sensitive QT-NASBA-Methode, welche Konzentrationen bis hin zu  $0,02/\mu\text{l}$  detektiert. Weiterhin können mittels QT-NASBA verschiedene Entwicklungsstadien sowie weibliche und männliche Gametozyten unterschieden werden. Diese molekularbiologische Methode ist für Forschungsprojekte ein bedeutendes Hilfsmittel.

Insbesondere in Gegenden/Ländern mit schlechter Infrastruktur stellt die Lagerung und der Transport von Blutproben für molekularbiologische Untersuchungen ein Problem dar. Auf Filterpapier getrocknete Blutproben erwiesen sich in Studien als hilfreich. Für epidemiologische und klinische Studien untersuchten wir die Sensitivität von Filterpapierproben für die Detektion von Gametozyten-RNS unter verschiedenen Lagerungs- und Transportbedingungen mittels QT-NASBA (Pritsch et al. 2012).

Weiterhin verglichen wir die Detektion von Gametozyten mittels QT-NASBA aus Urin-, Speichel- und Blutproben. Reife Gametozyten ließen sich im Blut der Kapillaren der Fingerbeere in höheren Konzentrationen nachweisen als im venösen Blut der Ellenbeuge. Urin und Speichel erwiesen sich zur Detektion von Gametozyten als ungeeignet. Die RNS von asexuellen Stadien konnte detektiert werden (Kast et al. 2013).

In einem Projekt unter der Leitung der Universität Tübingen wurde ein humanes Modell für die kontrollierte Infektion mittels der intravenösen Gabe von Sporozoiten entwickelt. Dieses Modell wird aktuell bereits zur Testung von Impfstoffen und Medikamenten verwendet. Gesunden Erwachsenen wird hierzu intravenös die minimale Dosis an Sporozoiten verabreicht, welche zu 100% eine Malariainfektion hervorruft. In unserer Arbeitsgruppe untersuchten wir die Bildung von Gametozyten bei diesen Infektionsversuchen um die Möglichkeit einer Übertragung durch Moskitos zu beurteilen. Bei keinem der Studienpatienten konnten mittels QT-NASBA Gametozyten nachgewiesen werden, was gegen eine mögliche Übertragung spricht (Manuskript in Vorbereitung).

Bei dem bereits unter 3.2 erwähnten PhD-Projekt wurden ebenfalls Blutproben auf Filterpapier der schwangeren Studienteilnehmerinnen gesammelt und in unseren Laboren in München mittels QT-

NASBA auf Gametozyten-Prävalenz und –Dichte untersucht (Esu et al., Manuskript derzeit in Begutachtung).

### **3.4 Methylenblau zur Behandlung von Malaria**

Der Wirkstoff Methylenblau (MB) hat sich in der Behandlung von Malaria tropica als sicher und effektiv gezeigt. Aufgrund der ausgeprägten Wirkung gegen Gametozyten ist MB erneut in den Fokus gerückt. Unter der Leitung von Prof. Dr. med. Olaf Müller aus Heidelberg wurde bei 221 Kindern in Burkina Faso eine klinische Studie (Phase IIb) durchgeführt, in der ein ACT mit MB kombiniert im Vergleich mit einem ACT alleine eingesetzt wurde. Das Hauptaugenmerk lag auf der Gametozytenprävalenz nach Therapie mittels QT-NASBA. Die ACT-MB-Kombination zeigte sich als sicher und effektiv gegen Gametozyten von *P. falciparum* (Coulibaly & Pritsch et al. 2015). Diese oder eine ähnliche Triple-Therapie könnte einen wichtigen Beitrag zur Eindämmung von Resistenzen und bei Eradikationskampagnen spielen.

### **3.5 Transmissionsversuche mit Moskitos in Jimma, Äthiopien**

Wenn man die Infektiosität von Malariaerregern in Moskitos testen möchte, kann Blut gemischt mit Malariaerregern mittels sogenannten „Membrane Feeding Assays (MFAs)“ durch Membranen an unter kontrollierten Bedingungen gezüchtete Moskitos verfüttert werden. Dies ist ein sehr komplizierter Versuchsaufbau und störungsanfällig. Weiterhin müssen die Moskitos für 7 Tage (um im Darm Oozysten zu finden) oder 21 Tage (um in den Speicheldrüsen Sporozoiten zu finden) inkubiert und dann seziiert/untersucht werden. In diesem Zeitraum dürfen diese potentiell infektiösen Moskitos nicht entkommen und müssen unter speziellen Vorsichts- sowie Pflegemaßnahmen gehalten werden. Zusammen mit deutschen und äthiopischen Kollegen bauten wir in Jimma das erste voll funktionsfähige MFA-Labor auf und setzten es bereits bei mehreren Studien ein. In Sub-Sahara Afrika gibt es bisher nur wenige Labore, welche MFA-Versuche durchführen können.

In einer bereits publizierten Studie haben wir an insgesamt 8139 weibliche *Anopheles*-Moskitos infektiöses Blut von *P. vivax* – Patienten verfüttert und diese Moskitos nachfolgend seziiert. Wir konnten zeigen, dass *Anopheles arabiensis* und *Anopheles pharoensis* in Jimma ähnlich gute Vektoren für *P. vivax* darstellen, während *Anopheles coustani* sich in dieser Studie nicht infizieren ließen (Abduselam et al. 2016).

Aktuell werden in internationalen Konsortien mit unserer Beteiligung mehrere klinische Studien geplant, in denen neuartige, potentiell die Malaria-Transmission unterbrechende Malariamedikamente getestet werden. Mittels MFAs soll die Wirkung untersucht und mit den aktuellen Standardmedikamenten verglichen werden. Die Zulassung neuer Therapieformen (z.B. MB-ACT,

siehe auch 3.4) wird angestrebt, um die Elimination und ultimativ die Eradikation von Malaria voranzutreiben.

### **3.6 Analyse von Patientendaten der Ambulanz des Tropeninstitutes in München**

Bei der Patientenversorgung in der Ambulanz der Abteilung für Infektions- und Tropenmedizin des Klinikums der Universität München (LMU) werden multiple Daten gesammelt und in einer Datenbank gespeichert. Dadurch wird die Untersuchung verschiedener Fragestellungen in Bezug auf Infektions- und Tropenerkrankungen ermöglicht. Unter anderem wurde der diagnostische Wert von Leukozytose im Blutbild bei Reiserückkehrern bestimmt (Pritsch et al. 2011). Bei der Analyse aller Ambulanzpatienten mit Malaria zeigte sich eine signifikante Assoziation unterschiedlicher Laborparameter mit der Parasitendichte sowie der Wirtsimmunität mit dem Differentialblutbild (Berens-Riha et al. 2014).

### **3.7 Impfstoffentwicklung für Malaria und andere Infektionserkrankungen**

Gram-negative Bakterien sondern ca. 50-150 nm große Membranvesikel (Outer Membrane Vesicles, OMV) ab, welche für die Impfstoffentwicklung verwendet werden können. Allerdings sind OMV bisher für die biotechnologische Nutzung nicht ausreichend erforscht. Es ist bekannt, dass unter anderem unterschiedliche Bakterienstämme und die Wachstumsbedingungen Einfluss auf die Produktionsrate der OMV nehmen. Als Qualitätskontrolle und zur möglichen Dosierung von OMV entwickelten wir eine neuartige Methode, welche die Analyse von OMV in Lösung ermöglicht. Mittels Durchflusszytometrie kann die Konzentration und die Homogenität der OMV bestimmt werden. Eine OMV-Subgruppenbestimmung ist mittels dieser Methode ebenfalls möglich (Wieser et al. 2014). Eine subkutane, intramuskuläre und intranasale Verabreichung der OMV erzeugt rasch signifikante systemische und lokale Immunantworten. OMV können als immunstimulatorische Komponente – sogenannte Adjuvantien - mit anderen Impfantigenen vermischt intranasal verabreicht werden. Hierbei kommt es zu einer potenten Verstärkung der Immunreaktion vor allem gegen membrangebundene Antigene (Pritsch et al. 2016).

### **3.8 Beobachtungsstudie Gelbfieberimpfung**

Die inter-individuell unterschiedliche Reaktion von Menschen auf Virusinfektionen, Impfstoffe und antivirale Medikamente ist bisher noch wenig verstanden. Der attenuierte Gelbfieber-Lebendimpfstoff (YF17D) ist eine Erfolgsgeschichte der Vakzinologie. Mit Hilfe des Studiums dieses einzigartigen Modells einer akuten selbst-limitierenden Virusinfektion beim Menschen versuchen wir zu verstehen,

wie eine effektive Immunantwort gebildet wird und welche genetischen Faktoren zur inter-individuellen Variabilität der anti-viralen Reaktion beitragen.

In Zusammenarbeit mit Prof. Anne Krug und Prof. Simon Rothenfusser war ich als Studienarzt bereits an einer Gelbfieberimpfstudie mit 13 gesunden Teilnehmern beteiligt. PBMC und Serum wurde unmittelbar vor, sowie 1, 3, 7, und 14 Tage nach der Vakzinierung abgenommen. Diese Studie zeigte die Induktion der RIG-I-like Rezeptor (RLR)- Proteinexpression parallel zur Typ I IFN-Antwort und Expression IFN-stimulierter Gene. Zudem wurden zum gleichen Zeitpunkt (Tag 7 nach der Impfung) eine Expansion CD14<sup>+</sup> CD16<sup>+</sup> aktivierter Monozyten sowie Änderungen in der Frequenz und im Aktivierungszustand der DC Subpopulationen beobachtet (Krug, Rothenfusser, Pritsch et al., Manuskript in Vorbereitung). Seit 2015 bauen wir, mit mir als Studienarzt, eine größere Studienkohorte mit 250 Teilnehmern auf, um eine umfangreiche Biobank mit PBMCs, Blut, Serum, Urin, Speichel und Stuhl zum Zeitpunkt unmittelbar vor der YF17D-Impfung, sowie am Tag 3, 7, 14 und 28 nach der Impfung zu erstellen (iMed Konsortium, gefördert durch die Helmholtz-Gesellschaft). Stand Januar 2018 wurden bereits 199 Teilnehmer eingeschlossen, geimpft und deren Bioproben verarbeitet sowie eingelagert. Die Rekrutierung der vollen Kohorte von 250 Teilnehmern werden wir voraussichtlich bis Mitte 2018 abgeschlossen haben. Wir konzentrieren uns auf die *in vivo* – Immunantworten der Subpopulationen dendritischer Zellen (DCs) und Monozyten. Wir werden die Kinetik der Typ I IFN Antwort und der Virus-induzierten Genexpression in den DC- und Monozyten-Subpopulationen und in Einzelzellen untersuchen. Die Daten werden mit der Virusreplikation, der systemischen Zytokinantwort und der adaptiven Immunantwort korreliert. Weiterhin werden wir Genexpressionsdaten der relevantesten Subpopulationen mit Genom-weiter Analyse von SNPs in 250 Impfungen vergleichen. Hiermit untersuchen wir die genetische Grundlage der inter-individuellen Variabilität der angeborenen Immunantwort auf die Impfung und wollen entscheidende Akteure hierfür identifizieren. Die Aufklärung der zugrundeliegenden Mechanismen am Beispiel der Gelbfieberimpfung (als Prototyp einer äußerst erfolgreichen Impfung) wird auch für die Impfstoffentwicklung gegen andere Infektionserkrankungen, wie z. B. Malaria, wichtig sein.

## 4. Danksagung

Als erstes bedanke ich mich herzlich bei allen StudienteilnehmerInnen für ihre Beteiligung. Ohne sie wären viele dieser Forschungsarbeiten nicht möglich. Hoffentlich tragen die Ergebnisse in Zukunft zu einer Verbesserung der Lebensumstände bei.

Hinter allen Forschungsprojekten steht die Arbeit eines meist großen und multidisziplinären Teams. Hiermit bedanke ich mich bei allen meinen KollegInnen im In- und Ausland. Ihre Hilfe, Unterstützung und Freundschaft schätze ich zutiefst. Insbesondere möchte ich hier namentlich meine langjährigen Forschungspartner PD Dr. med. Nicole Berens-Riha und PD Dr. med. Andreas Wieser hervorheben. Weiterhin bedanke ich mich bei meinem ehemaligen Doktorvater und dem aktuellen Direktor der Abteilung für Infektions- und Tropenmedizin, Prof. Dr. med. Michael Hölscher, für seine Unterstützung und weil er meinen wissenschaftlichen Werdegang entscheidend geformt hat und prägt. Auch möchte ich hier den ehemaligen Abteilungsdirektor Prof. Dr. med. Thomas Löscher als wichtigen Mentor erwähnen.

Folgende Forschungseinrichtungen haben finanziell die hier dargelegten Arbeiten unterstützt:

Europäische Union

Bundesministerium für Bildung und Forschung

Deutsches Zentrum für Infektionsforschung

Ludwig-Maximilians-Universität München

Else Kröner-Fresenius Stiftung

Deutsche Forschungsgemeinschaft

Friedrich-Baur-Stiftung

Persönlich danke ich meinen Freunden und meiner Familie. Ihre Freundschaft und Liebe ist die Grundlage von allem.

## 5. Literaturverzeichnis

Abduselam N, Zeynudin A, Berens-Riha N, Seyoum D, Pritsch M, Tibebu H, Eba K, Hoelscher M, Wieser A, Yewhalaw D: Similar trends of susceptibility in *Anopheles arabiensis* and *Anopheles pharoensis* to *Plasmodium vivax* infection in Ethiopia. *Parasit Vectors*. 2016 Oct 18;9(1):552.

Berens-Riha N, Kroidl I, Schunk M, Alberer M, Beissner M, Pritsch M, Kroidl A, Fröschl G, Hanus I, Bretzel G, von Sonnenburg F, Nothdurft HD, Löscher T, Herbinger KH: Evidence for significant influence of host immunity on changes in differential blood count during malaria. *Malar J*. 2014 Apr 23;13:155. doi: 10.1186/1475-2875-13-155.

Bousema T, Drakeley C. Epidemiology and infectivity of *Plasmodium falciparum* and *Plasmodium vivax* gametocytes in relation to malaria control and elimination. *Clin Microbiol Rev* 2011, 24:377-410.

Coulibaly B\*, Pritsch M\*, Bountogo M, Meissner PE, Nebié E, Klose C, Kieser M, Berens-Riha N, Wieser A, Sirima SB, Breitzkreutz J, Schirmer RH, Sié A, Mockenhaupt FP, Drakeley C, Bousema T, Müller O: Efficacy and safety of triple combination therapy with artesunate-amodiaquine-methylene blue for falciparum malaria in children: a randomized controlled trial in Burkina Faso. *J Infect Dis*. 2015 Mar 1;211(5):689-97. doi: 10.1093/infdis/jiu540.

\* authors contributed equally

Cowman AF, Healer J, Marapana D, Marsh K: Malaria: Biology and Disease. *Cell*. 2016 Oct 20;167(3):610-624. doi: 10.1016/j.cell.2016.07.055.

Eshetu T, Adbo N, Bedru KH, Fekadu S, Wieser A, Pritsch M, Löscher T, Berens-Riha N: Open-label trial with artemether-lumefantrine against uncomplicated *Plasmodium falciparum* malaria three years after its broad introduction in Jimma Zone, Ethiopia. *Malar J*. 2012 Jul 23;11:240. doi: 10.1186/1475-2875-11-240.

Esu E, Tacoli C, Gai P, Berens-Riha N, Pritsch M, Loescher T, Meremikwu M: Prevalence of the PFDHR and PFDHPS mutations among asymptomatic pregnant women in Southeast Nigeria. *Parasitol Res*. 2018 Jan 13. doi: 10.1007/s00436-018-5754-5.

Hall BF, Fauci AS: Malaria control, elimination, and eradication: the role of the evolving biomedical research agenda. *J Infect Dis*. 2009 Dec 1;200(11):1639-43. doi: 10.1086/646611.

Heuchert A, Abduselam N, Zeynudin A, Eshetu T, Löscher T, Wieser A, Pritsch M, Berens-Riha N: Molecular markers of anti-malarial drug resistance in southwest Ethiopia over time: regional surveillance from 2006 to 2013. *Malar J*. 2015 May 19;14:208. doi: 10.1186/s12936-015-0723-2.

Kast K, Berens-Riha N, Zeynudin A, Abduselam N, Eshetu T, Löscher T, Wieser A, Shock J, Pritsch M: Evaluation of gametocyte-specific Pfs25-mRNA in dried blood spots on filter paper subjected to different storage conditions. *Malar J*. 2013 Dec 4;12:438. doi: 10.1186/1475-2875-12-438.

Murray C.J., Vos T., Lozano R., Naghavi M., Flaxman A.D., Michaud C., Ezzati M., Shibuya K., Salomon J.A., Abdalla S., et al. (2012) Disability-adjusted life years (DALYs) for 291 diseases and injuries in 21 regions, 1990-2010: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2010. *Lancet* 380: 2197-2223.

Pritsch M, Berens-Riha N, Wieser A, Schunk M, Hanus I, Nothdurft HD, von Sonnenburg F, Löscher T, Herbinger KH: The diagnostic value of leucocytosis in imported diseases among returned travellers. *European Journal Tropical Medicine & International Health*, Volume 16, Supplement I, October 2011, Wiley-Blackwell.

Pritsch M\*, Wieser A\*, Soederstroem V, Poluda D, Eshetu T, Hoelscher M, Schubert S, Shock J, Loescher T, Berens-Riha N: Stability of gametocyte-specific Pfs25-mRNA in dried blood spots on filter paper subjected to different storage conditions. *Malar J.* 2012 Apr 30;11:138. doi: 10.1186/1475-2875-11-138.

\* contributed equally

Pritsch M, Ben-Khaled N, Chaloupka M, Kobold S, Berens-Riha N, Peter A, Liegl G, Schubert S, Hoelscher M, Löscher T, Wieser A: Comparison of Intranasal Outer Membrane Vesicles with Cholera Toxin and Injected MF59C.1 as Adjuvants for Malaria Transmission Blocking Antigens AnAPN1 and Pfs48/45. *J Immunol Res.* 2016;2016:3576028. doi: 10.1155/2016/3576028.

White NJ, Pukrittayakamee S, Hien TT, Faiz MA, Mokuolo OA, Dondorp AM: Malaria. *Lancet.* 2014 Feb 22;383(9918):723-35. doi: 10.1016/S0140-6736(13)60024-0.

WHO — World Health Organization, *World Malaria Report, 2016*,  
<http://www.who.int/malaria/publications/world-malaria-report-2016/en/>

Wieser A, Storz E, Liegl G, Peter A, Pritsch M, Shock J, Wai SN, Schubert S: Efficient quantification and characterization of bacterial outer membrane derived nano-particles with flow cytometric analysis. *Int J Med Microbiol.* 2014 Nov;304(8):1032-7. doi: 10.1016/j.ijmm.2014.07.012.

## 6. Abkürzungen

ACT	Artemisinin-based Combination Therapy
AL	Artemether/Lumefantrin
DC	Dendritic Cells
IFN	Interferon
MB	Methylenblau
MFA	Membrane Feeding Assay
OMV	Outer Membrane Vesicles
<i>P.</i>	Plasmodium
PBMC	Peripheral Blood Mononuclear Cell
PCR	Polymerase Chain Reaction
PhD	Doctor of Philosophy
QT-NASBA	Quantitative Nuclear Acid Sequence-Based Amplification
RLR	RIG-I-like Receptor
RNS	Ribonukleinsäure
SNP	Single Nucleotide Polymorphism
spp.	species
WHO	World Health Organisation