

Barbara Schaub
Dr. med.

***In vitro* efficacy of lumefantrine and dihydroartemisinin against *Plasmodium falciparum* adapted from patient samples in Kilifi, Kenya**

Promotionsfach: Infektiologie
Doktorvater: Prof. Dr. Michael Lanzer, Ph.D

Efficient treatment remains one of the main tools in malaria control. So far, resistance has emerged to all mainstays of antimalarial drugs. Therefore, systematic drug trials including *in vitro* susceptibility tests are necessary for containment.

As part of such a systematic surveillance in Kilifi, Kenya, the *in vitro* efficacies of dihydroartemisinin (DHA), lumefantrine (LM) and chloroquine (CQ) against 28 *Plasmodium falciparum* parasites adapted from patient samples have been studied. Clinical analyses in the area of the study imply the potential existence of tolerance against DHA [Borrmann et al., 2011]. Therefore, the DHA susceptibilities of parasites from infections with these signs of tolerance have been analysed specifically. Additionally, correlation analyses of the *in vitro* responsiveness have been conducted for the three study drugs. In the final part, an attempt has been made to develop an *in vitro* strategy observing the parasites' early responses to DHA treatment.

Reassuringly, the data obtained in 2009 did not reveal any significant *in vitro* resistance to DHA nor LM. Reduced *in vitro* efficacy for CQ could be detected in 39% of the cases. Furthermore, the clinical characteristics of increased DHA tolerance could not be explained by a reduction of the *in vitro* DHA responsiveness measured in the thesis at hand. In addition, the conducted correlation analyses revealed a subtle positive relation between DHA and LM *in vitro* susceptibilities.

Despite the reduced clinical response rates to ACTs at the Kenyan coast, the presented findings suggest that the parasites' *in vitro* susceptibility to DHA and LM remains stable. They rather suggest a reduced CQ resistance after its withdrawal as first-line treatment. However, the transition from susceptible to resistant parasites can be vague, so that continued surveillance of the drug efficacies in East Africa remains crucial. Moreover, the observed positive correlation of the *in vitro* responsiveness of DHA and LM might indicate a threat to the potency of Coartem®. This observation is particularly interesting regarding prior reports about Coartem® treatment supporting rapid selection of LM- tolerant parasite types [Nzila et al., 2012]. Finally, the introduced method to observe the parasites' early response to DHA exposure could, after further improvement, provide a deeper understanding of the mechanisms of DHA tolerance. Especially the recent findings of DHA resistance in western Cambodia underline the need to track these mechanisms *in vitro* [Codd et al., 2011; Saralamba et al., 2011].

Eine rasche und wirksame Behandlung bleibt bis heute eine der wichtigsten Methoden zur Kontrolle von Malaria. Im Laufe der Zeit haben Malaria-Parasiten Resistenzen gegen alle wichtigen Medikamentengruppen gebildet. Eine systematische Überwachung der Therapieerfolge ist daher unabdingbar für die Eindämmung dieser Krankheit. *In vitro* Wirksamkeitstests der Medikamente sind dabei ein wichtiger Bestandteil.

Als Teil einer solchen systematischen Studie in Kilifi, Kenia, wurde in dieser Arbeit die *in vitro* Wirksamkeit von Dihydroartemisinin (DHA), Lumefantrin (LM) und Chloroquin (CQ) gegen 28 verschiedene *P. falciparum* Parasiten aus Patientenproben getestet. Eine vorausgegangene klinische Studie legt die Existenz von DHA-Toleranzen im Untersuchungsgebiet nahe [Borrmann et al., 2011]. Daher wurde speziell getestet, ob auch *in vitro* ein Verlust der DHA-Wirkung gegen Parasiten mit eben diesen Zeichen klinischer DHA-Toleranz vorliegen. Zudem wurden Korrelationsanalysen der *in vitro* Wirksamkeit der drei untersuchten Medikamente durchgeführt. Abschließend wurde der Versuch gestartet, eine *in vitro* Methode zu entwickeln, welche die frühe parasitäre Antwort auf eine Behandlung mit DHA näher beleuchten soll.

Glücklicherweise zeigten die 2009 gemessenen Daten keine *in vitro* Resistenzen gegen DHA oder LM. Eine verminderte Wirksamkeit von CQ war in 39% der Fälle zu verzeichnen. Des Weiteren konnte die klinisch vermutete DHA-Toleranz mit der gemessenen *in vitro* DHA-Wirksamkeit nicht erklärt werden. Die durchgeführten Korrelationsanalysen zeigen eine leichte positive Beziehung zwischen der Wirksamkeit von DHA und der von LM.

Im Gegensatz zu der verminderten klinischen Wirksamkeit von Artemisinin-Kombinationstherapien an der kenianischen Küste, zeigen die Ergebnisse dieser Arbeit eine gleichbleibende *in vitro* Wirkung von LM und DHA auf die Parasiten. Zudem legen sie nahe, dass die Resistenzen gegen CQ abgenommen haben, seit es nicht mehr als First-Line-Therapie angewendet wird. Allerdings ist der Wandel von empfindlichen zu resistenten Parasiten manchmal so vage, dass eine Überwachung der Therapieerfolge in Ostafrika äußerst wichtig bleibt. Zudem deutet die gemessene positive Korrelation der *in vitro* Wirksamkeiten von DHA und LM auf eine mögliche Gefahr für den Erfolg einer Coartem©-Therapie hin. Gerade im Bezug auf vorangegangene Studien über eine Beziehung zwischen Coartem© und der raschen Selektion von LM-toleranten Parasiten bekommt diese Beobachtung besondere Bedeutung [Nzila et al., 2012]. Abschließend könnte die entwickelte Methode zur Untersuchung der frühen parasitären Antwort auf die Behandlung mit DHA nach weiteren Verbesserungen eine Möglichkeit bieten, den Mechanismus der DHA-Toleranz besser zu verstehen. Die Notwendigkeit diesen Mechanismus *in vitro* nach zu vollziehen, wird besonders im Hinblick auf die Entdeckung von Artemisininresistenzen in Western Cambodia deutlich [Codd et al., 2011; Saralamba et al., 2011].