

Reducing malaria transmission in low endemic areas in Tanzania by antimalarial drugs

Epidemiological and intervention studies

Seif Shekalaghe

Summary

Malaria transmission depends on the presence of infectious human beings and malaria vectors, *Anopheles* mosquitoes. The malaria life-cycle takes place partly in the human host and partly in the mosquito vector. In the human host, malaria parasites replicate asexually and these asexual stage parasites are responsible for malaria morbidity and mortality. Some of the asexual parasites develop into gametocytes. These gametocytes do not cause clinical symptoms but are responsible for the transmission of malaria from man to mosquito. There are different parts of the cycle where control measures can be used to interrupt transmission and thereby control malaria.

Two approaches to prevent malaria at an individual and community level are: i) prevention of human-vector contact by for instance vector control and insecticide treated materials, and ii) an approach that targets malaria parasites by using antimalarial drugs that clear infections from the human blood. The second approach aims to interrupt transmission by clearing the human infectious reservoir (the gametocytes carriers) and forms the focus of this thesis. Two main study designs were used in this thesis i) epidemiological studies that aimed to characterise the patterns of malaria transmission by different parasite detection methods (*chapters 2, 3, 4*) and ii) intervention studies to identify a suitable drug combination to prevent malaria transmission (*chapters 5, 6*) and to use this drug combination to interrupt malaria transmission at population level (*chapter 7*).

In chapter 2 of this thesis, we showed that submicroscopic parasitaemia is common in the general population of asymptomatic individuals residing in an area of low and seasonal transmission. Importantly, a proportion of individuals in this population also harboured submicroscopic gametocytaemia and may therefore be infectious to mosquitoes. These submicroscopic parasite densities are likely to play an important role in maintaining malaria transmission in the area where very few people harboured parasites above the threshold density for microscopical detection. Despite their low density, submicroscopic parasites appear to play a role in eliciting or maintaining humoral immune responses. Malaria-specific antibody concentrations were higher in carriers of low-density malaria infections compared to parasite-free individuals (*chapter 3*). The occurrence of submicroscopic parasite carriers did not appear to be influenced by

genetic factors that affect the function of red blood cells and have previously been associated with protection against malaria disease.

Based on our epidemiological findings, we concluded that submicroscopic parasite carriage is important for malaria control measures. To prevent the transmission of malaria parasites, drugs should therefore be able to clear submicroscopic parasite densities. We have shown that treatment with a combination of sulphadoxine-pyrimethamine (SP) plus a three-day treatment with artesunate (AS) followed by a single dose of primaquine (PQ; 0.75mg/kg) is effective in clearing submicroscopic gametocyte densities. SP+AS is commonly used as curative treatment but the addition of PQ resulted in a markedly enhanced clearance of submicroscopic gametocytes (*chapter 5*). We therefore expect that the addition of PQ will have a significant impact on reducing malaria transmission and the combination of SP+AS+PQ may be a promising drug combination for interventions that aim to reduce malaria transmission in the community. A disadvantage of PQ is that it is associated with the destruction of red blood cells (haemolysis) in individuals who have an abnormal activity of glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PD), an enzyme that is important in red blood cell metabolism. This condition is called G6PD deficiency.

We observed that there is indeed substantial haemolysis after PQ administration. This was observed in both symptomatic patients (*chapter 5*) and asymptomatic parasite-free individuals (*chapter 6*). Unexpectedly, we also observed haemolysis in individuals with a normal G6PD function. This suggests that this potentially dangerous side-effect is not restricted to G6PD deficient individuals and warns against wide-scale use of PQ in combination with artemisinins at the current dosage of 0.75mg/kg. The PQ-induced haemolysis was self-limiting and all treated individuals recovered from the observed reduction in haemoglobin concentration. However, the findings have consequences for the use of this drug combination in situations where the individual benefit may not necessarily be greater than the risk of adverse events.

An example of an intervention where the community benefit is likely to be larger than that of individuals is mass drug administration (MDA). In an MDA, the complete population of an area is cleared of parasites to interrupt malaria transmission. The rationale is that in areas of low and very seasonal malaria transmission, the parasites are retained in humans in the period that mosquitoes are absent due to an arid climate. If parasites are cleared before mosquitoes

emerge, mosquito infection and subsequent malaria transmission is prevented. Areas of low endemicity are common in Africa. Although there used to be a tendency to consider (large parts of) countries highly endemic for malaria, it is becoming clear that this simplification is not valid. Malaria transmission occurs locally and malaria may be less of a problem in other areas. We found that an area that used to be of high endemicity in northern Tanzania was now characterized by a low level of transmission intensity. Despite reports of high endemicity in the 1980s, individuals were now exposed to less than 10 infectious mosquito bites/year (*chapter 4*).

We prepared an area of low endemicity for MDA (*chapter 2*) with the efficacious drug combination that we tested previously (*chapter 5*). Transmission intensity in the area was very low and seasonal and the area appeared suitable for malaria control by MDA (*chapter 2*). Despite these preparations and an efficacious drug regimen, the MDA intervention did not have a measurable impact on malaria transmission in the area (*chapter 7*). The main reason was simply that there were very few parasites present in the area. No malaria parasites were detected by microscope and very few parasites were detected by QT-NASBA technique in the survey before intervention and in the surveys following the intervention. This implies that there was no detectable malaria transmission in the area and that malaria parasites seemed to have largely disappeared from the area three years after our first report (*chapter 2*). Some possible reasons that may have resulted in the disappearance of malaria parasites include i) changes in meteorological conditions (i.e. continuous drought); ii) an impact of other control measures like the use of bednets ; iii) a community impact of over-treatment as a consequence of self-medication and over-diagnosis; iv) increased community awareness of malaria prevention measures because of information given by researchers or from the media; or v) a lower than expected role of submicroscopic parasitaemia in successfully maintaining malaria transmission.

Although our MDA was not able to show its impact in reducing transmission, its findings and those from other studies described in this thesis have helped in understanding relevant issues and challenges that have to be considered in future malaria control efforts. It is complicated to determine the impact of MDA in an area where transmission takes place at very low intensity since this makes it impossible to evaluate the impact of the intervention by

malaria incidence data or microscopical parasite prevalence rates. A more relevant approach may be to combine MDA with vector control measures and to compare the efficacy of vector control measures with and without the drug intervention. This may allow the inclusion of areas of higher endemicity in the trial and is more likely to be implemented in malaria control policy.

Samenvatting

Malaria transmissie is afhankelijk van zowel de aanwezigheid van infectieuze mensen als van malaria vectoren, *Anopheles* muggen. De levenscyclus van malaria vindt deels plaats in de mens en deels in de mug. In de menselijke gastheer vermenigvuldigen de parasieten zich asexueel en deze asexuele parasieten zijn verantwoordelijk voor de ziekte en mortaliteit van malaria. Een deel van de asexuele parasieten ontwikkelt zich tot gametocyt. Deze gametocyten geven geen klinische symptomen maar zijn verantwoordelijk voor de transmissie van mens naar mug. Op verschillende momenten van de malariacyclus kan ingegrepen worden om transmissie te onderbreken en daarmee malaria te beperken.

Twee methodes om malaria te voorkomen op een individueel- en populatieniveau zijn: i) preventie van mens-vector contact door bijvoorbeeld vectorcontrole en het gebruik van materialen die behandeld zijn met insecticide en ii) een aanpak die zich richt op de malariaparasieten door het gebruik van malaria medicijnen die infecties in het menselijk bloed opruimen. Deze tweede methode heeft als doel de transmissie te verstoren door het klaren van het menselijke infectieuze reservoir (de dragers van gametocyten). Dit proefschrift richt zich op deze tweede methode. Twee studiemethoden zijn gebruikt in dit proefschrift: i) epidemiologische studies met als doel het karakteriseren van malaria transmissie met verschillende detectiemethodes (hoofdstuk 2, 3 en 4) en ii) interventiestudies waarin werd geprobeerd een geschikte medicijncombinatie te vinden om malariatransmissie te voorkomen (hoofdstuk 5, 6) en deze combinatie vervolgens te gebruiken om transmissie te onderbreken op populatieniveau (hoofdstuk 7).

In hoofdstuk 2 lieten we zien dat submicroscopische parasitemie veelvuldig voorkomt in de algemene populatie van asymptomatische personen, wonende in gebied met lage transmissie intensiteit en seizoensgebonden transmissie. Belangrijk hierbij is het gegeven dat ongeveer de helft van deze populatie ook gametocyten bij zich draagt en daarmee infectieus kan zijn voor muggen. De submicroscopische parasietenconcentraties lijken een belangrijke rol te spelen bij het in stand houden van malariatransmissie in een gebied waar maar weinig mensen een parasietenconcentratie in hun bloed hebben die gedetecteerd kan worden met microscopie. Ondanks hun lage (submicroscopische) concentraties

lijken de submicroscopische parasieten een rol te spelen in het opwekken of in stand houden van een humorale immuun reactie. De concentratie van malariaspecifieke antilichamen was hoger in dragers met een lage concentratie malaria parasieten dan in malariavrije personen (hoofdstuk 3). Het voorkomen van malariaparasietendragers met lage concentraties parasieten leek niet beïnvloed te worden door genetische factoren die de functionaliteit van rode bloedcellen beïnvloeden. Deze genetische factoren zijn wel geassocieerd met bescherming tegen malaria.

Gebaseerd op onze epidemiologische resultaten concludeerden wij dat het dragerschap van submicroscopische gametocyten belangrijk is voor de behandeling van malaria. Om malariatransmissie te voorkomen moeten medicijnen in staat zijn om de submicroscopische concentraties van gametocyten te klaren. We lieten zien dat een combinatie van sulphadoxine-pyrimethamine (SP) plus een driedaagse behandeling met artesunate (AS) gevolgd door een enkele dosis primaquine (PQ; 0.75mg/kg) effectief is in het klaren van submicroscopische gametocyten concentraties. SP+AS is een gebruikelijke, curatieve behandeling voor malaria; de toevoeging van PQ resulteerde in een opmerkelijk hogere klaring van submicroscopische gametocyten (hoofdstuk 5). Dit resultaat beschouwende, verwachten wij dat de toevoeging van PQ een significant effect heeft op het reduceren van malariatransmissie, en dat de combinatie van SP+AS+PQ wellicht een rol kan spelen bij behandelingen die als doel hebben de malariatransmissie op populatieniveau terug te dringen. Een nadeel van PQ echter is dat het geassocieerd is met het uiteenvallen van rode bloedcellen (hemolyse) bij personen met een abnormale werking van glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PD), een enzym dat belangrijk is voor het metabolisme van rode bloedcellen. Deze aandoening is bekend als G6PD deficiëntie.

We zagen inderdaad dat er aanmerkelijke hemolyse optrad na toediening van PQ. Wij namen dit waar bij zowel patiënten met symptomen (hoofdstuk 5) als bij asymptomatische, parasietvrije personen (hoofdstuk 6). Echter, tegen de verwachting in, zagen wij ook hemolyse bij personen met een normale G6PD-werking. Dit suggereert dat deze (potentieel gevaarlijke) bijwerking niet beperkt is tot G6PD deficiënte personen. Voorzichtigheid is dus geboden bij het op grote schaal gebruiken van PQ in combinatie met artemisines in de nu gebruikelijke dosis van 0.75 mg/kg. De door PQ geïnduceerde hemolyse was in alle gevallen

zelflimiterend. Alle behandelde personen herstelden van de waargenomen afname van hemoglobine concentratie zonder dat hiervoor additionele therapie nodig was. Toch hebben onze bevindingen consequenties voor het gebruik van deze medicijncombinatie. Zeker in situaties waarbij het therapeutische voordeel voor het individu gering is, is het zaak de kans op ernstige bijwerkingen tot het absolute minimum te beperken.

Een voorbeeld van een interventie waarbij het belang voor de gemeenschap waarschijnlijk groter is dan het belang voor het individu is bij zogenaamde *Mass Drug Administratie* (MDA). Bij een MDA wordt de hele populatie in een gebied geklaard van parasieten met als doel de transmissie te verstoren. De idee is dat in gebieden met erg lage en seizoensafhankelijke transmissie de parasieten zich handhaven in de mens als de muggen afwezig zijn door de droogte. Wanneer de parasieten dan geklaard worden voordat de muggen verschijnen, is daarmee het infecteren van de mug voorkomen en de transmissiecyclus onderbroken. In theorie kan malaria met een dergelijke aanpak uitgeroeid worden. In Afrika komen veel lage endemische gebieden voor. Hoewel de algehele trend was om grote gebieden van landen als hoog endemisch te beschouwen, wordt nu meer en meer duidelijk dat deze indeling soms een onjuiste versimpeling van de werkelijkheid is. Malariatransmissie komt lokaal voor, in andere gebieden kan het veel minder een probleem zijn. Een gebied in Noord Tanzania dat bekend stond als hoogendemisch, bleek tijdens ons onderzoek juist gekarakteriseerd te worden door een laag transmissie-intensiteits niveau. Ondanks bevindingen van hoge intensiteit in de jaren '80, vonden wij dat personen blootgesteld waren aan minder dan 10 infectieuze muggenbeten per jaar (hoofdstuk 4). Wij maakten een laag endemisch gebied gereed voor MDA (hoofdstuk 2) met de effectieve medicijncombinatie die we eerder getest hadden (hoofdstuk 5). Transmissie-intensiteit bleek laag en seizoensafhankelijk in dit gebied, en MDA leek een geschikte interventie voor vergaande malaria controle. Ondanks de schijnbaar ideale omstandigheden en een effectieve medicijncombinatie, had MDA geen meetbaar effect op de malariatransmissie in dat gebied (hoofdstuk 7). De hoofdreden hiervoor was dat er simpelweg erg weinig parasieten aanwezig waren in het gebied. Vrijwel geen enkele parasiet was te detecteren met alle methoden die wij gebruikten (microscopie, snelle diagnostische tests, moleculair met QT-NASBA) zowel voor de interventie als tijdens de evaluatie nadien. Dit duidt erop dat er nauwelijks

detecteerbare malariatransmissie was in dit gebied en dat malariaparasieten verdwenen lijken te zijn, drie jaar na onze initiële rapportage (hoofdstuk 2).

Er zijn enkele redenen te bedenken die geleid kunnen hebben tot het verdwijnen van malariaparasieten: i) veranderingen in meteorologische omstandigheden (zoals continue droogte) ii) andere antimalaria maatregelen zoals het gebruik van klamboes iii) door over-diagnose en zelfmedicatie kan er een overbehandeling geweest zijn in het gebied iv) een verhoogde bewustwording van malariapreventie door de voorlichting van onderzoekers of verschillende andere media, of v) een kleinere rol dan verwacht van submicroscopische parasietenconcentraties bij het succesvol in stand houden van malariatransmissie.

Hoewel we met onze MDA niet het reducerende effect op transmissie konden laten zien waarop we hoopten, hebben de resultaten ervan, samen met de resultaten van andere onderzoeken in dit proefschrift geholpen bij het inzichtelijk maken van relevante problemen en discussiepunten voor toekomstig malariaonderzoek dat zich richt op malaria eliminatie. Het is lastig om het effect van MDA vast te stellen in een gebied waar transmissie plaatsvindt met een zeer lage intensiteit, omdat dit het onmogelijk maakt de interventie te evalueren met malaria incidentie data of met microscopisch parasietdragerschap. Een meer relevante benadering is wellicht het gebruik van MDA in combinatie met vectorcontrole, waarbij de effectiviteit van de vectorcontrole vergeleken wordt met en zonder medicatie-interventie. Hierdoor zou het mogelijk zijn om ook gebieden van hogere transmissie intensiteit te betrekken bij dergelijke interventies. Dit zou de kans ook kunnen vergroten dat de aanpak ingevoerd wordt in malaria controle strategieën.