

Aus dem Fachbereich Medizin
der Johann Wolfgang Goethe-Universität
Frankfurt am Main

betreut am

Gesundheitsamt Frankfurt am Main

Leitender Medizinaldirektor: Prof. Dr. Dr. René Gottschalk

**Tuberkulose in Frankfurt am Main – Molekularbiologische Aspekte der
Epidemiologie**

Dissertation

zur Erlangung des Doktorgrades der Medizin

des Fachbereichs Medizin

der Johann Wolfgang Goethe-Universität

Frankfurt am Main

vorgelegt von

Sophia Elisabeth Corell

aus Frankfurt am Main

Frankfurt am Main, 2018

Dekan/in:	Prof. Dr. Josef Pfeilschifter
Referent/in:	Prof. Dr. Dr. René Gottschalk
Korreferent/in:	Prof. Dr. Volkhard Kempf
Tag der mündlichen Prüfung:	21.10.2019

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung.....	5
1.1	Epidemiologie der Tuberkulose weltweit.....	5
1.2	Charakteristika und Symptome der Erkrankung.....	6
1.2.1	Erreger	6
1.2.2	Übertragung	6
1.2.3	Klinisches Bild	7
1.3	Diagnostik	8
1.4	Therapie	10
1.5	Gesetzliche Grundlagen in Deutschland.....	12
1.5.1	Umgebungsuntersuchungen durch das Gesundheitsamt.....	13
1.6	Epidemiologie der Tuberkulose in Deutschland.....	15
1.7	Epidemiologie der Tuberkulose in Frankfurt am Main.....	17
1.7.1	Aufgaben des Gesundheitsamts Frankfurt am Main	18
1.8	Molekularbiologische Methoden als Mittel zur Transmissionsanalyse	19
1.9	Ziel der Studie	21
2	Material und Methoden.....	22
2.1	Identifikation des mykobakteriologischen Genotyps.....	22
2.1.1	Mikroskopischer und kultureller Erregernachweis	22
2.1.2	Amplifikation der Erregerstämme	23
2.1.3	Sequenzierung und MIRU-VNTR.....	24
2.1.4	Spoligotypisierung	25
2.1.5	Zuordnung des Genotyps	25
2.2	Erhebung der epidemiologischen Patientendaten.....	27
2.3	Statistische und deskriptive Analyse der Datensätze.....	28

3	Ergebnisse	31
3.1	Epidemiologie und Statistische Analyse	31
3.2	Deskriptive Clusteranalyse.....	45
4	Diskussion.....	49
4.1	Diskussion der Epidemiologie	49
4.2	Clusterdiskussion	55
4.2.1	Zugehörigkeit zu einem Cluster.....	55
4.2.2	Diskussion ausgewählter Cluster.....	61
4.3	Grenzen der Studie	66
5	Zusammenfassung.....	69
6	Summary	71
7	Abkürzungsverzeichnis.....	73
8	Literatur.....	75
9	Schriftliche Erklärung	84

1 Einleitung

1.1 Epidemiologie der Tuberkulose weltweit

Die Tuberkulose (TB) ist eine durch Mykobakterien verursachte Infektionskrankheit, die die Menschheit seit Tausenden von Jahren begleitet (1, 2). Schätzungen der WHO zufolge erkrankten 2017 10,0 Millionen Menschen an Tuberkulose (3). Im gleichen Jahr verstarben 1,6 Millionen Menschen daran, mehr als an AIDS oder Malaria (3). Etwa 95% der Todesfälle treten in Entwicklungsländern, besonders in Asien und Afrika, auf (3). Zu den Besonderheiten der Tuberkulose gehört die große Zahl latent Infizierter, nämlich 23% der Weltbevölkerung, die ein Risiko von 5% bis 10% haben, im Laufe ihres Lebens an Tuberkulose zu erkranken (3).

Die Behandlung der Tuberkulose ist schon bei sensiblen Mykobakterienstämmen mit einer Dauer von mindestens 6 Monaten ungewöhnlich langwierig (4). Sie wird durch Antibiotikaresistenzen zunehmend erschwert. Weltweit litten im Jahr 2017 schätzungsweise 558.000 Menschen an multiresistenter Tuberkulose (3). Sie ist definiert als Resistenz des TB-Stammes gegen Isoniazid und Rifampicin, die beiden Substanzen mit der stärksten Wirkung gegen Tuberkulosebakterien (4). In diesem Fall ist der Einsatz weniger potenter, aber nebenwirkungsreicherer Medikamente erforderlich, die in der Regel über mindestens 20 Monate verabreicht werden, mindestens jedoch über 9 bis 12 Monate (5).

In Deutschland betrifft die Tuberkulose überwiegend Personen aus Risikogruppen: Migranten aus Ländern mit hoher TB-Inzidenz, Patienten mit Immunsuppression, Obdachlose und Menschen mit Abhängigkeitserkrankungen (6). Bis zum Jahr 2012 waren die Neuerkrankungszahlen stetig gefallen (7). Im darauffolgenden Zeitraum bis zum Jahr 2014 bestand eine weitgehend konstante Inzidenz (7). Seitdem zeigte sich bis 2016 jedoch wieder ein Aufwärtstrend, der in erster Linie durch die Zunahme von Asylsuchenden aus Hochinzidenzländern zu erklären ist¹ (6, 7). In diesem

¹ Nach der Fertigstellung dieser Arbeit wurde der Bericht „Zur Epidemiologie der Tuberkulose in Deutschland für das Jahr 2017“ vom Robert Koch-Institut veröffentlicht. Im Jahr 2017 war die Fallzahl der TB in Deutschland erstmals rückläufig (6). In dieser Arbeit wird noch auf den Bericht des Robert Koch-Institut für das Jahr 2016 bezuggenommen, da der Studienzeitraum das Jahr 2017 nicht miteinschließt.

Zusammenhang stellt sich immer wieder die Frage nach den Infektionsketten in Deutschland. Eine bessere Kenntnis der Ausbreitungswege könnte dazu beitragen, die Kontrollstrategien anzupassen (7).

1.2 Charakteristika und Symptome der Erkrankung

1.2.1 Erreger

Die Tuberkulose wird durch Erreger des *Mycobacterium tuberculosis* (MTB) - Komplexes hervorgerufen (8). Dazu gehören unter anderem die humanpathogenen Spezies *M. tuberculosis* und *M. africanum*, aber auch an Tiere angepasste Spezies wie *M. bovis*, *M. caprae*, *M. microti*, *M. canettii* und *M. pinnipedii* (9). Es handelt sich um stäbchenförmige, nicht sporenbildende Bakterien, die kein typisches Gramfärbeverhalten zeigen. Einmal angefärbt, z.B. nach Ziehl-Neelsen oder mit Auramin, lässt sich der Farbstoff nicht mehr mit Säure-Alkoholmischungen entfernen (9). Dieses Färbeverhalten, das auf Eigenschaften der Lipidhülle beruht, hat zur Bezeichnung „säurefeste Stäbchen“ geführt (8). Die Generationszeit von Erregern des MTB-Komplexes, d. h. die Zeit, die bis zu ihrer Teilung und somit Verdopplung vergeht, ist mit 16 bis 20 Stunden extrem lang (z.B. im Vergleich zu *E. coli* mit 20 Minuten), was wiederum eine lange Kultivierung der Patientenisolate erfordert und den kulturellen Nachweis des Erregers erschwert (siehe 1.3 Diagnostik) (9). Die langsame Teilungsrate ist auch der Grund für die lange Therapiedauer (s. 1. 4 Therapie).

1.2.2 Übertragung

Die Tuberkulose wird gewöhnlich von einer an Lungentuberkulose erkrankten Person durch Tröpfchen übertragen, die beim Husten, Niesen, Singen oder Sprechen freigesetzt werden (8). Andere Infektionswege, etwa über die Haut, die Plazenta oder den Darm durch Verzehr nicht pasteurisierter Milch von Kühen, die an Tuberkulose erkrankt sind, spielen keine wesentliche Rolle (8, 9). Das Ansteckungsrisiko hängt unter anderem von der Erregermenge und Virulenz sowie Kontaktdauer und -intensität ab (9). Im Vergleich

zu anderen durch Tröpfchen übertragenen Krankheiten, wie etwa die Influenza, ist die Tuberkulose weitaus weniger ansteckend (10). Das Erkrankungsrisiko nach Infektion wird von endogenen Faktoren der Kontaktperson, insbesondere von der zellulären Immunität, beeinflusst (8).

1.2.3 Klinisches Bild

Man unterscheidet pulmonale und extrapulmonale Manifestationen der Tuberkulose (8). Die Lungentuberkulose wiederum lässt sich in zwei Formen einteilen. Tritt sie unmittelbar nach der Infektion in Erscheinung, so spricht man von primärer Tuberkulose. Sie findet sich in Ländern mit hoher TB-Inzidenz vor allem bei Kindern unter 4 Jahren, in Ländern mit niedriger TB-Inzidenz, zu denen auch Deutschland zählt, vor allem bei älteren Menschen und Immunsupprimierten (9). Die weitaus häufigere postprimäre Lungentuberkulose entwickelt sich mit monate- bis jahrelanger Latenz nach Tuberkuloseinfektion (8).

In der Frühphase der Erkrankung sind die Symptome oft unspezifisch. Nachtschweiß und Gewichtsabnahme werden häufig von Fieber begleitet (8). Schließlich tritt in der Mehrzahl der Fälle Husten auf, der anfangs unproduktiv ist, später purulent und gelegentlich mit blutigen Beimengungen (8). Weitere fakultative Symptome der Lungentuberkulose sind Thoraxschmerzen und Dyspnoe (8, 9).

Die extrapulmonale Tuberkulose ist Folge einer lymphogenen, bronchogenen oder hämatogenen Streuung oder einer Ausbreitung per continuitatem nach pulmonaler Infektion (9). Laut WHO machte sie 2017 etwa 14% aller Tuberkulosen aus (3). Sie manifestiert sich in abnehmender Häufigkeit an folgenden Organen: Lymphknoten, Pleura, Urogenitaltrakt, Skelett, Meningen, Peritoneum und Perikard (3). Grundsätzlich können auch alle anderen Organe befallen werden. Die Symptome hängen von der jeweiligen Organbeteiligung ab (3, 8).

1.3 Diagnostik

Neben Anamnese und Klinik spielen in der Diagnostik der Tuberkulose die bildgebenden Verfahren Röntgen (posterior-anteriore und seitliche Aufnahme des Thorax) und Computertomografie, gegebenenfalls Sonografie und Magnetresonanztomografie bei extrapulmonaler Tuberkulose, sowie bakteriologische Untersuchungen die größte Rolle (11). Bei Verdacht auf pulmonale TB wird an 2 bis 3 aufeinanderfolgenden Tagen Sputum gewonnen (alternativ Bronchialsekret durch Bronchoskopie oder bronchoalveoläre Lavage oder bei Kindern Magensaft), um die Tuberkulosebakterien direkt mikroskopisch oder nach 2 bis 8 Wochen kulturell (Goldstandard) nachzuweisen (5).

Auf Grund der niedrigen Sensitivität der Mikroskopie und der langen Kultivierungszeit haben sich in den letzten Jahren molekulare Methoden zum Erregernachweis durchgesetzt (5). Ein weltweit verbreitetes System ist GeneXpert® (Cepheid), welches MTB-Komplex-DNA in Sputumproben mittels quantitativer Polymerasekettenreaktion (PCR) innerhalb weniger Stunden nachweisen kann (12). Dieser Nachweis in Verbindung mit einer positiven Kultur oder einem positiven mikroskopischen Befund beweist eine aktive TB (5). Negative Befunde durch die genannten Methoden schließen jedoch eine TB-Erkrankung nicht eindeutig aus (5).

Besteht ein Verdacht auf extrapulmonale TB, wird entsprechendes Material untersucht, zum Beispiel Urin bei Verdacht auf Urogenital-TB, Liquor bei Verdacht auf Meningitis tuberculosa oder sonstiges möglicherweise befallenes Gewebe (5).

Resistenzen werden in Flüssigkeitskulturen mit entsprechender Konzentration von antituberkulösen Medikamenten untersucht (5). Auch hier setzen sich molekulare Methoden zunehmend durch, um die Zeit bis zur Resistenzdiagnose weiter zu verkürzen. Für eine wachsende Zahl von Medikamenten sind Mutationen in Resistenzgenen bekannt, die durch verschiedene DNA-Tests nachgewiesen werden können (5). Dazu gehören Streifenhybridisierungstests (sog. Line Probe Assays), die besonders häufig vorkommende Mutationen detektieren, aber auch PCR-basierte DNA-Sequenzanalysen ganzer Gene oder Genabschnitte (5, 11). Diese Methoden, die Ergebnisse innerhalb weniger Tage liefern, sind insbesondere bei Patienten mit Verdacht auf resistente Stämme sehr wertvoll, da sie eine rasche Therapieanpassung erlauben (13, 14).

Da sich aktive Erkrankungen an Tuberkulose oft erst nach Monaten oder Jahren manifestieren, steht bei der Untersuchung von Kontaktpersonen nicht die Frage nach einer aktiven Erkrankung, sondern nach einer Infektion im Vordergrund, wenn man von Kleinkindern absieht. Bei ihnen entwickelt sich eine Erkrankung wesentlich schneller (15). Da die Immunreaktionen nach Tuberkuloseexposition zellulärer und nicht humoraler Natur sind, stehen keine Antikörperuntersuchungen zur Verfügung (15). Es entwickeln sich nach einer Infektion jedoch spezialisierte T-Zellen, die bei neuerlicher Exposition mit Antigenen des MTB-Komplexes reagieren (15). Der Tuberkulin-Hauttest (THT) nach Mantoux sowie der Interferon- γ -Test (Interferon- γ -Release-Assay = IGRA) testen intrakutan beziehungsweise in vitro die Reaktion dieser sensibilisierten T-Zellen (15). Keines der Testverfahren erlaubt eine Aussage über den Zeitpunkt der Infektion. Auch können sie nicht zwischen latenter TB-Infektion (LTBI) und aktiver TB unterscheiden (10). Ziel der Testung auf LTBI ist es, Personen mit hohem TB-Infektions- und Erkrankungsrisiko zu identifizieren, die von einer vorbeugenden Therapie profitieren (15). Es gilt der Grundsatz: „Intention to test is intention to treat.“ Es sollen also nur solche Personen auf eine LTBI getestet werden, bei denen aufgrund einer frischen Exposition ein erhöhtes Risiko für eine Erkrankung besteht (15). Die Sensitivität des THT beträgt etwa 80%, die der IGRAs 80% bis 90% (15). Diese Schätzungen sind abgeleitet von Untersuchungen an Patienten mit aktiver kulturell gesicherter Tuberkulose. Anders als der THT, werden die IGRAs nicht von vorangehenden BCG-Impfungen und bis auf wenige Ausnahmen auch nicht von atypischen Mykobakterien beeinflusst. Die Spezifität der IGRAs ist daher mit > 95% sehr hoch, die des THT in Abhängigkeit von vorangehenden BCG-Impfungen mit 60% bis 97% sehr variabel, zumal die korrekte Durchführung und Beurteilung des THT von der Kompetenz der untersuchenden Person abhängt (15).

Der WHO-Empfehlung entsprechend wird bei allen Patienten mit TB ein HIV-Test angestrebt, um eine für den Therapieerfolg ggf. erforderliche antiretrovirale Behandlung einleiten zu können (16). Dem WHO-Bericht 2018 zufolge wurden im Jahr 2017 unter allen gemeldeten TB-Patienten 60% auf eine HIV-Infektion untersucht (3).

1.4 Therapie

Die Behandlung der Tuberkulose besteht in einer mehrmonatigen Gabe von kombinierten Antibiotika (4). Die antituberkulösen Medikamente unterscheiden sich jeweils in ihrer Wirksamkeit gegen Mykobakterien, und zwar abhängig von deren Stoffwechselaktivität und Wachstum (9). Bei inadäquater Therapie, zum Beispiel der Gabe eines einzelnen Antibiotikums mit schwachem bakterizidem Effekt, kommt es häufig zu einer Selektion und Vermehrung von spontan mutierten resistenten Erregern (9). In der Vergangenheit war dieser Effekt beispielsweise bei dem heutzutage nur noch in Einzelfällen angewendeten Streptomycin zu beobachten: zunächst seit 1945 monotherapeutisch gegen die Tuberkulose eingesetzt, verbreiteten sich zunehmend Resistenzen (17). Die Kombination verschiedener antituberkulöser Medikamente trägt also zur Vermeidung der Entstehung von Resistenzen bei (18).

Die antibiotische Behandlung mit sogenannten Erstrangmedikamenten umfasst standardmäßig mindestens 6 Monate: 2 Monate lang täglich Isoniazid (INH), Rifampicin (RMP), Ethambutol (EMB) und Pyrazinamid (PZA) sowie im Anschluss 4 Monate lang nur Isoniazid und Rifampicin täglich (5). Die Dosierungen sind an das Körpergewicht zu adaptieren. Die Behandlung dauert bei Immundefekten oder Befall von Meningen oder Skelett jedoch eher 9 bis 12 Monate oder länger (5).

Liegen Resistenzen vor, so verlängert sich die Therapiedauer und es kommen Zweitrangmedikamente zum Einsatz, die weniger gut wirken und stärkere unerwünschte Arzneimittelwirkungen aufweisen. Die WHO-Einteilung dieser Medikamente wird derzeit (Stand Oktober 2018) überarbeitet (19). Im Jahr 2012 wurden vier Gruppen beschrieben (4). Die sogenannten injizierbaren Medikamente (Gruppe 2) umfassten Kanamycin, Streptomycin, Capreomycin und Amikacin. Gruppe 3 bildeten die drei Fluorchinolone Levofloxacin, Moxifloxacin und Gatifloxacin. Die sogenannten Zweitrangmedikamente mit gesicherter Wirkung gegen den MTB-Komplex bildeten Gruppe 4 und umfassten Rifabutin, Rifapentin, Protionamid, Ethionamid, Terizidon/Cycloserin und Para-Aminosalicylsäure. Gruppe 5 umfasste die Zweitrangmedikamente mit unklarer Wirkung gegen den MTB-Komplex und bestand aus Amoxicillin/Clavulansäure, Clarithromycin, Clofazimin, Imipenem, Isoniazid (Hochdosis), Linezolid und Thioazetazon (4). Im August 2018 wurde die Kurzfassung

einer neuen Einteilung veröffentlicht, ausführliche Leitlinien zur Therapie der MDR-TB und RMP-resistenten TB sollen Ende 2018 folgen (19). Die Medikamente werden nun in drei anwendungsorientierte Gruppen unterteilt. Nach Möglichkeit wird unter Berücksichtigung des Ergebnisses der Empfindlichkeitsprüfung und der individuellen Verträglichkeit die orale Therapie empfohlen (19). Gruppe A umfasst Levofloxacin/Moxifloxacin, Linezolid und Bedaqualin. Die Therapie kann alle drei Medikamente beinhalten (19). Gruppe B bilden Clofazimin und Cycloserin/Terizidon, welche kombiniert als Ergänzung in Betracht kommen (19). In Gruppe C finden sich die Reservemedikamente Ethambutol, Delamanid, Pyrazinamid, Imipenem-Celastatin/Meropenem, Amikacin/Streptomycin, Ethionamid/Protionamid und Para-Aminosalicylsäure. Die Medikamente in Gruppe C können die Therapie ergänzen, wenn Medikamente von Gruppe A und B nicht in Frage kommen (19). Kanamycin und Capreomycin werden grundsätzlich nicht mehr empfohlen (19).

Die Multiresistenz (engl.: multidrug resistance; MDR) bezeichnet eine Resistenz gegen mindestens Isoniazid und Rifampicin (5). Unter Prä-extensiver Resistenz (engl.: pre-extensive drug resistance; preXDR) versteht man eine MDR mit zusätzlicher Resistenz gegenüber mindestens einem Fluorchinolon oder Amikacin (bzw. einem der nicht mehr empfohlenen injizierbaren Medikamente Capreomycin oder Kanamycin) (5). Bei ausgedehnter oder extensiver Resistenz (engl.: extensively drug-resistant TB; XDR-TB) weist der Erreger zusätzlich zur MDR noch Resistenzen gegen mindestens ein Fluorchinolon und Amikacin (bzw. eines der nicht mehr empfohlenen injizierbaren Medikamente Capreomycin und Kanamycin) auf (5).

Das Deutsche Zentralkomitee zur Bekämpfung der Tuberkulose empfiehlt, Patienten mit offener Lungentuberkulose so lange stationär zu isolieren, bis im Verlauf der Therapie in 3 aufeinanderfolgenden Sputumproben keine säurefesten Stäbchen mehr nachgewiesen werden können (10). Dies ist in der Regel nach 3 Wochen der Fall. Im Anschluss kann die Therapie ambulant fortgeführt werden (10).

1.5 Gesetzliche Grundlagen in Deutschland

Im § 6 Absatz 1 Infektionsschutzgesetz (IfSG) ist die namentliche Meldepflicht von Erkrankung und Tod an einer behandlungsbedürftigen Tuberkulose festgeschrieben, auch ohne bakteriologischen Nachweis (20). Der § 7 Absatz 1 IfSG verpflichtet zusätzlich Labore zur Meldung des direkten Nachweises von Bakterien des MTB-Komplexes (*M. tuberculosis*, *M. africanum* und *M. bovis*) sowie nachfolgend des Ergebnisses der Resistenzbestimmung (20). Vorab ist auch der Nachweis säurefester Stäbchen im Sputum zu melden (20). Das Gesundheitsamt übermittelt gemäß § 11 Absatz 1 IfSG über die zuständige Landesbehörde nur Erkrankungs- oder Todesfälle und Erregernachweise an das Robert Koch-Institut, die der Falldefinition gemäß § 4 Absatz 2 Nummer 2a IfSG entsprechen (21).

§ 6 Absatz 2 IfSG verpflichtet zusätzlich zur Meldung von Therapieabbruch und -verweigerung (20). Beim zuständigen Amtsgericht kann laut § 30 Absatz 2 in Verbindung mit § 16 Absatz 1 IfSG im Falle einer Therapieverweigerung bei offener Lungentuberkulose die Absonderung in einem Fachkrankenhaus beantragt oder bei Gefahr im Verzug auch vom Gesundheitsamt selbst nach § 16 Absatz 7 IfSG angeordnet werden (20). Die damit verbundene Freiheitsentziehung führt in aller Regel zur Medikamenteneinnahme, selbst wenn diese nicht erzwungen werden kann (10).

§ 36 Absatz 4 IfSG regelt den Ausschluss einer aktiven Tuberkulose bei der Aufnahme in eine Gemeinschaftsunterkunft. Dies betrifft „voll- oder teilstationäre Einrichtungen zur Betreuung und Unterbringung älterer, pflegebedürftiger und behinderter Menschen, Obdachlosenunterkünfte, Einrichtungen zur gemeinschaftlichen Unterbringung von Asylbewerbern, vollziehbar Ausreisepflichtigen, Flüchtlingen und Spätaussiedlern sowie Justizvollzugsanstalten“ (20).

Das Personal und Betreute in Gemeinschaftseinrichtungen (Schulen und Kindergärten) dürfen nach § 34 IfSG, sofern sie oder Angehörige eines gemeinsamen Haushaltes an ansteckungsfähiger Lungentuberkulose erkrankt sind, nur mit Zustimmung des Gesundheitsamtes die dem Betrieb der Gemeinschaftseinrichtung dienenden Räume betreten (20).

1.5.1 Umgebungsuntersuchungen durch das Gesundheitsamt

Auf der Grundlage von § 25 IfSG ermittelt das Gesundheitsamt im Rahmen der Umgebungsuntersuchung enge Kontaktpersonen (15, 20). Die Umgebungsuntersuchung dient der Fallfindung in zwei Richtungen - sowohl der Findung der Infektionsquelle als auch möglicher durch den Indexpatienten angesteckter Personen - und damit der Aufdeckung von Infektionsketten sowie dem Verhindern der Weiterverbreitung (15). Die Quellensuche ist dann angezeigt, wenn eine frische zurückliegende Infektion vermutet wird (15). Dies ist klassischerweise bei Kindern der Fall, deren Ansteckungsquelle in den meisten Fällen innerhalb der Familie, gelegentlich auch in einer Gemeinschaftseinrichtung zu finden ist (15). Des Weiteren geben Primärtuberkulose, Meningitis tuberculosa und Pleuritis tuberculosa Anlass für eine Quellensuche, da sich diese Tuberkuloseformen oft unmittelbar nach Infektion entwickeln (7).

Bei Kontaktpersonen über 15 Jahren wird, um ein definitives Ergebnis zu erhalten, 8 Wochen nach dem letzten Kontakt zum Indexpatienten ein IGRA durchgeführt und gegebenenfalls eine Röntgenaufnahme des Thorax zum Ausschluss einer aktiven Tuberkulose (15). Bei positivem IGRA und unauffälligem Röntgenbefund sowie fehlenden klinischen Hinweisen auf eine aktive Tuberkulose liegt definitionsgemäß eine latente TB-Infektion (LTBI) vor (15). Das Deutsche Zentralkomitee zur Bekämpfung der Tuberkulose empfiehlt in diesem Fall eine Chemoprävention mit Isoniazid über 9 Monate (5). Alternativ und wegen der kürzeren Einnahmedauer inzwischen bevorzugt, können Isoniazid und Rifampicin über 3 Monate oder Rifampicin über 4 Monate verabreicht werden (5). Bei TB-verdächtigem Röntgenbefund erfolgt die bakteriologische Untersuchung, ggf. eine vollständige TB-Behandlung (15).

Bei Kontaktpersonen zwischen 5 und 15 Jahren wird unverzüglich ein THT oder IGRA durchgeführt und, falls das Ergebnis positiv ist, wie bei den Erwachsenen verfahren (15). Bei negativem Befund ist der Test 8 Wochen nach dem letzten Kontakt zur Indexperson zu wiederholen (15). Ist der Befund erneut negativ, erfolgen keine weiteren Maßnahmen. Bei positivem THT-Befund wird nach Möglichkeit ein IGRA zur Bestätigung durchgeführt – ist dies nicht möglich, wird eine Chemoprävention empfohlen (15). Fällt der Bestätigungstest positiv aus, erfolgt nach der Röntgenaufnahme des Thorax

entweder eine Chemoprävention (bei negativem Röntgenbefund) oder ggf. eine weitere Abklärung und ggf. eine Therapie (15).

Bei allen Kontaktpersonen über 5 Jahren ist nach Abschluss der Chemoprävention eine Röntgenaufnahme indiziert, um eine TB-Erkrankung auszuschließen, die durch die Chemoprävention nicht verhindert werden konnte (15).

Da die Tuberkulose bei Kleinkindern häufiger generalisiert und fulminant verläuft und daher bereits die LTBI verhindert werden sollte, erhalten Kinder unter 5 Jahren unmittelbar nach infektionsrelevantem Kontakt einen THT sowie eine Röntgenuntersuchung der Thoraxorgane (15). Außerdem werden sie kinderärztlich untersucht. Eine aktive Erkrankung wird nach den Empfehlungen der Deutschen Gesellschaft für pädiatrische Infektiologie behandelt (22). Für die LTBI stehen wie bei den Erwachsenen Isoniazid und Rifampicin als Mono- oder Kombinationstherapie zur Verfügung (22). Selbst bei negativem THT wird die unverzügliche Gabe von Isoniazid als sogenannte Chemoprophylaxe empfohlen, um nach entsprechender Exposition einer Infektion vorzubeugen (15, 22). Bleibt ein THT-Befund auch 8 Wochen nach dem letzten Kontakt zum Indexpatienten negativ, so kann die Chemoprophylaxe beendet werden. Im Falle eines positiven THT-Ergebnisses bei der Kontrolle muss erneut eine aktive Erkrankung durch eine Röntgenaufnahme der Thoraxorgane ausgeschlossen werden (22). Anschließend wird die Chemoprophylaxe als Chemoprävention über insgesamt 9 Monate oder in Kombination mit Rifampicin über weitere 3 Monate fortgeführt (15, 22).

1.6 Epidemiologie der Tuberkulose in Deutschland

In Deutschland ist die Tuberkulose mit einer Inzidenz von < 10 Fällen pro 100.000 Einwohner eine seltene Infektionskrankheit (23). Sie betrifft hierzulande fast ausschließlich Risikogruppen. Dazu zählen Migranten und Asylsuchende aus Ländern mit höherer Inzidenz, Menschen mit HIV-Infektion oder aus anderen Gründen geschwächtem Immunsystem, Aussiedler, JVA-Häftlinge, Drogen- und Alkoholabhängige sowie Wohnsitzlose.

Im Jahr 2016 registrierte das Robert Koch-Institut 5915 Tuberkulose-Fälle, die die Falldefinitionen des RKI erfüllen (23). Das entspricht 7,2 Erkrankungen pro 100.000 Einwohner (23). Die Inzidenz unter den Männern lag mit 9,9 pro 100.000 höher als unter den Frauen (4,6 pro 100.000) (23). Es gab 228 Erkrankungsfälle bei Kindern < 15 Jahren, wobei Kleinkinder unter fünf Jahren mit 2,9 pro 100.000 die höchste Inzidenz im Kindesalter aufwiesen (23). Der Häufigkeitsgipfel der Erkrankung lag im Alter von 20 bis 24 Jahren (23). Die Altersgruppe der > 79-Jährigen mit deutscher Staatsangehörigkeit wies ebenfalls eine erhöhte Inzidenz (> 8 pro 100.000) auf (23). In 75% der Fälle lag eine pulmonale Tuberkulose vor, davon hatten 76,5% die offene Form. Die Letalität betrug 1,7% (23).

Über viele Jahre hinweg waren die Fallzahlen in Deutschland rückläufig. Etwa im Jahr 2009 wurde jedoch ein Ende des Abwärtstrends sichtbar – die Fallzahlen stagnierten und nehmen seit 2014 wieder zu² (24). Infolgedessen erfährt die Tuberkulose auch vermehrt mediale Aufmerksamkeit (24). Wesentliche Ursache für dieses Phänomen ist die Migration. So stieg die Zahl der Neuerkrankungen an Tuberkulose im Jahr 2015 um etwa 28%, und zwar durch eine wachsende Zahl von Erkrankten aus Ländern Ostafrikas, aus Afghanistan sowie aus Syrien, den Ländern also, aus denen zu der Zeit die meisten Flüchtlinge stammten (24). Der Anteil in Deutschland geborener Erkrankter sank in den vergangenen Jahren stetig und betrug 2016 25,7% gegenüber 42,6% im Jahr 2014 (24).

² Nach der Fertigstellung dieser Arbeit wurde der Bericht „Zur Epidemiologie der Tuberkulose in Deutschland für das Jahr 2017“ vom Robert Koch-Institut veröffentlicht. Im Jahr 2017 war die Fallzahl der TB mit 5486 Fällen im Vergleich zu den Vorjahren in Deutschland erstmals rückläufig (6). In dieser Arbeit wird noch auf den Bericht für das Jahr 2016 bezuggenommen, da der Studienzeitraum das Jahr 2017 nicht miteinschließt.

Asylsuchende und Flüchtlinge, deren Erkrankung im Jahr 2016 im Rahmen des TB-Screenings gemäß § 36 Absatz 4 IfSG diagnostiziert wurde, machten 973 von insgesamt 5915 Fällen, also 16,4%, aus (23).

In Großstädten ist die Tuberkuloseinzidenz im deutschlandweiten Vergleich überdurchschnittlich hoch. Die Bundesländer Berlin, Bremen, Hamburg und Hessen wiesen wie auch in vorherigen Jahren 2016 die höchsten Fallzahlen auf, wobei die Inzidenz in Frankfurt am Main (16,7 pro 100.000) deutlich höher lag als in Hessen (9,8 pro 100.000) (23).

1.7 Epidemiologie der Tuberkulose in Frankfurt am Main

Als wichtiger europäischer Wirtschafts- und Bankenstandort stellt Frankfurt am Main mit 744.115 Einwohnern (Stand 30.06.2018) nicht zuletzt auch aufgrund seines großen internationalen Flughafens ein gutes Beispiel für ein urbanes Setting in einem Niedriginzidenzland dar (25).

Da die Tuberkulose hauptsächlich o. g. Risikogruppen betrifft, lohnt sich zunächst ein Blick auf die internationale Bevölkerungsstruktur von Frankfurt am Main. Der Anteil der Einwohner mit ausländischer Staatsangehörigkeit und Hauptwohnsitz in Frankfurt am Main beträgt 29,6% (220.576 Einwohner) (25). Menschen mit türkischer Staatsangehörigkeit stellen mit 25.759 Einwohnern die größte ausländische Bevölkerungsgruppe in Frankfurt am Main dar (26). Die größten Gruppen nicht-europäischer Einwohner bilden Inder (6405 Einwohner), Marokkaner (6029 Einwohner) und Afghanen (4663 Einwohner) (26).

Am Ende des Studienzeitraums dieser Arbeit (31.12.2016) waren 23% der Einwohner Deutsche mit Migrationshintergrund (27). Im Jahr 2016 wurden 2518 Fälle von Staatenlosigkeit oder ungeklärter Herkunft verzeichnet, wobei hauptsächlich von Flüchtlingen und Asylsuchenden ausgegangen wird (28).

Der Anteil der Migranten unter den Tuberkuloseerkrankten liegt in Frankfurt am Main deutlich über dem Bundesdurchschnitt, von 2013 bis 2017 zwischen 83% und 90% (29). Daneben stellen eine frühere TB-Erkrankung sowie das Immunsystem beeinträchtigende Erkrankungen, Obdachlosigkeit und Substanzabhängigkeit weitere Risikofaktoren dar. Männer erkranken insgesamt häufiger als Frauen (29). Entgegen dem Deutschlandtrend ist die Zahl der TB-Neuerkrankungen durch die wachsende Zahl von Asylsuchenden in Frankfurt am Main im Jahr 2015 nicht gestiegen. Nach 148 gemeldeten Fällen von TB-Neuerkrankungen im Jahr 2014 fiel diese Zahl auf 100 im Folgejahr (29).

1.7.1 Aufgaben des Gesundheitsamts Frankfurt am Main

Die Aufgaben des Gesundheitsamts in der Tuberkulosefürsorge im Allgemeinen sind die Erfassung und Untersuchung von Kontaktpersonen sowie die Therapiebegleitung und Sicherstellung des Therapieerfolgs (15). Darunter fällt in Einzelfällen auch die ambulante Behandlung im Gesundheitsamt nach § 19 IfSG sowie die Zwangsabsonderung in das Bezirkskrankenhaus Parsberg oder die Karl-Hansen-Klinik in Bad Lippspringe per Richterbeschluss bei Non-Compliance (30). Gegebenenfalls werden TB-Patienten vom Gesundheitsamt Frankfurt am Main sozialmedizinisch betreut (z. B. Obdachlose oder Nicht-Versicherte).

Des Weiteren ist es Aufgabe des Gesundheitsamts, die Bürger und im Besonderen auch Mitarbeiter von Polizei, Feuerwehr und Hilfsorganisationen in Fragen zur Tuberkulose zu beraten. Auch für Presseanfragen zur Tuberkulose steht das Gesundheitsamt Frankfurt am Main zur Verfügung. Um über epidemiologische Trends zu informieren, veröffentlicht das Gesundheitsamt Frankfurt am Main außerdem jährlich einen Gesundheitsbericht. Im Ausland ansässige Arbeitgeber fordern vor Arbeitsantritt von ausländischen Arbeitnehmern gelegentlich den Ausschluss einer TB-Erkrankung. Für solche Auslandsaufenthalte bietet das Gesundheitsamt Frankfurt am Main die Durchführung eines THTs, eines IGRAs oder ggf. einer Röntgenaufnahme des Thorax an.

1.8 Molekularbiologische Methoden als Mittel zur Transmissionsanalyse

Seit den 1990er-Jahren werden molekularbiologische Untersuchungsmethoden zur genetischen Typisierung TB-erregender Bakterienstämme angewandt (31). Bakterien des MTB-Komplexes (einschließlich der tierpathogenen Spezies) haben eine hohe Sequenzidentität von etwa 99,95% (32, 33). So unterscheiden sich z. B. *M. tuberculosis* und *M. bovis* nur in etwa 2000 Punktmutationen (etwa eine Mutation pro Gen), weshalb hier die Typisierung über einzelne Gensequenzen (sog. Multi Locus Sequence Typisierung) nicht geeignet ist (33, 34). Für Stämme des MTB-Komplexes wurden daher variable Marker im Genom gesucht, die schneller mutieren als Protein-kodierende Sequenzbereiche, aber trotzdem über wenige Jahre und im Verlauf von Infektionsketten unverändert bleiben (35). Bakterien oder Patientenisolat mit einer identischen Markerkombination haben einen gemeinsamen DNA-Fingerabdruck und werden dann einem sogenannten molekularen Cluster zugeordnet. Ein molekulares Cluster ist als Gruppe von mindestens zwei Patientenisolaten mit einem gemeinsamen genetischen Fingerabdruck zu verstehen. Patienten, deren Isolate einem gemeinsamen Cluster zugeordnet wurden, sind oft Teil einer Infektionskette und werden in der Regel in die Umgebungsuntersuchung für weitere Verdachtsfälle miteingeschlossen (36). Um nachvollziehen zu können, ob ein molekulares Cluster eine Infektionskette darstellt, müssen insbesondere die epidemiologischen Daten der clusterzugehörigen Patienten auf gemeinsame Faktoren hin untersucht werden, die eine Übertragung erklären könnten, zum Beispiel ein Aufenthalt in der gleichen Gemeinschaftsunterkunft. Die Identifizierung molekularer Cluster und deren epidemiologische Untersuchung werden im Folgenden als Clusteranalyse bezeichnet. Die molekularbiologische Typisierung ermöglicht somit die Analyse von TB-Ausbrüchen und kann zur Kontrolle und Eindämmung eines Ausbruchs beitragen (36).

Durch den bakteriellen DNA-Fingerabdruck kann der genaue Genotyp (Genotypisierung) des MTB-Komplexes des Isolats bestimmt werden, welcher auch Rückschlüsse auf den geografischen Ursprung einzelner Stämme erlaubt (37). Weiterhin wird die Genotypisierung angewendet, um Kreuzkontaminationen in TB-Laboren auszuschließen und im Einzelfall zwischen einer Reaktivierung und einer Reinfektion bei einem

Patienten zu differenzieren (38). Eine Reinfektion zieht beispielsweise eine neue Resistenztestung nach sich, nicht selten mit der Anpassung des Therapieregimes.

Vier Methoden werden in der molekularen Epidemiologie der Tuberkulose angewandt. Das Restriktionsfragment-Längenpolymorphismus Genotyping (RFLP) beruht auf der Stamm-spezifischen Verteilung der Insertionssequenz IS6110 im Genom des MTB-Komplexes (TB-Genom), benötigt aber hohe DNA-Mengen und somit eine lange Kultivierung (39).

Dieses Verfahren wurde deswegen durch die MIRU-VNTR (Mycobacterial interspersed repeat units - variable number tandem repeats) Genotypisierung ersetzt, welche PCR-basiert funktioniert und deutlich geringere DNA-Mengen benötigt (39). Hierbei wird die Anzahl von repetitiven Elementen (variable number tandem repeats) in bis zu 24 Genabschnitten (24-loci mycobacterial interspersed repeat units) detektiert, sodass jeder Stamm einen Barcode aus 24 Zahlen erhält, der komfortabel zwischen Laboren ausgetauscht werden kann (37).

Als drittes molekularbiologisches Verfahren untersucht die Spoligotypisierung (spacer oligonucleotide typing) in einer definierten Region (Direct Repeat - Locus) im TB-Genom die Anwesenheit und Abwesenheit von 43 sogenannten Spacer-Sequenzen (39). Das resultierende binäre Muster ist jedoch weniger diskriminierend als die oben genannten Methoden und so wird die Spoligotypisierung in der Regel nur noch in Kombination mit der 24-loci MIRU-VNTR Typisierung verwendet, um identifizierte Cluster zu bestätigen und Laborkontaminationen auszuschließen (39).

Die neueste und spezifischste, wegen hoher Kosten und großen Aufwands noch nicht weit verbreitete Typisierungsmethode ist das Whole Genome Sequencing (WGS), wobei nicht einzelne DNA-Regionen entschlüsselt werden, sondern das gesamte Genom der Mykobakterien (40).

Jene molekularbiologischen Untersuchungen wurden immer wieder im Rahmen von Studien zur Analyse der Epidemiologie angewandt, jedoch sind sie bedauerlicherweise noch kein Werkzeug der Routinediagnostik in der Tuberkulosekontrolle. Durch die Analyse von Ausbrüchen in Großstädten wie Hamburg konnten bereits gezielte Interventionen durchgeführt und Infektionsketten unterbrochen werden (40). In einer Studie aus London wurden Risikofaktoren für die Zugehörigkeit zu einem Cluster identifiziert (41).

Insbesondere vor dem Hintergrund zahlreicher Kriegs- und Krisengebiete weltweit und den dadurch zunehmenden Einwandererzahlen aus Hochprävalenzländern stellt sich die Frage nach dem Einfluss auf die Transmission in Niedrigprävalenzländern. Eine Brüsseler Studie erarbeitete 2017 mithilfe molekularbiologischer Typisierungen, dass die Transmission zwischen einheimischen und im Ausland geborenen Patienten nur eine sehr eingeschränkte Rolle bei der Epidemiologie der Tuberkulose in Brüssel spielt (42). Auch andere Studien befassten sich bereits mit diesem Thema (43–45). Zunehmende Relevanz erhält die molekulare Epidemiologie insbesondere aufgrund der Ausbreitung von Multiresistenzen, welche es besser zu verstehen und aufzuhalten gilt.

1.9 Ziel der Studie

Bisher sind molekularbiologische Methoden nicht routinemäßig als diagnostisches Werkzeug in der TB-Kontrolle etabliert. Clusteranalysen geben jedoch Aufschluss über Infektionsketten und die Ansteckungsfähigkeit resistenter Stämme und können so dabei helfen, erhöhte Übertragungsrisiken zu erkennen und Umgebungsuntersuchungen effizienter zu gestalten.

In der Bevölkerung bestehende Befürchtungen, dass mit der in den vergangenen Jahren gestiegenen Zahl von Migranten mit TB auch das Übertragungsrisiko insgesamt zunimmt, könnten durch Clusteranalysen überprüft werden.

Zum jetzigen Zeitpunkt existieren kaum mehrere Jahre umfassende Studienergebnisse zur molekularen Epidemiologie innerhalb deutscher Städte. Diese Arbeit nutzt daher die 24-loci MIRU-VNTR und Spoligotypisierung zur Genotypisierung von TB-Isolaten sowie epidemiologische Patientendaten zur Analyse der Transmission und Charakterisierung der TB-Epidemiologie in Frankfurt am Main über einen Zeitraum von 9 Jahren. Damit gibt sie Aufschluss über Lücken in der TB-Kontrolle, sodass Optimierungsmaßnahmen den lokalen Gegebenheiten angepasst und gegebenenfalls auch auf andere deutsche Großstädte übertragen werden können.

2 Material und Methoden

Arbeiten, welche von der Verfasserin dieser Arbeit durchgeführt wurden, werden explizit als solche angekündigt. Anderenfalls erfolgten sie durch Mitarbeiter der behandelnden Krankenhäuser, der Primärlabore, des Nationalen Referenzzentrums für Mykobakterien in Borstel (NRZ Borstel) oder des Gesundheitsamts Frankfurt am Main.

2.1 Identifikation des mykobakteriologischen Genotyps

2.1.1 Mikroskopischer und kultureller Erregernachweis

Zum Erregernachweis werden bei allen Patienten mit Verdacht auf eine TB-Erkrankung im Rahmen der Primärdiagnostik standardmäßig nach Möglichkeit Mykobakterien kulturell angezüchtet – zumeist aus Sputum, aber auch aus Bronchialsekret, Magensaft, Gewebeproben oder sonstigem Untersuchungsmaterial – jeweils abhängig vom Organbefall (5). Das Untersuchungsmaterial wird in den behandelnden Krankenhäusern gewonnen. Die Erregerdiagnostik erfolgt anschließend in einem der von den Krankenhäusern beauftragten Labore (Primärlabore). Dabei handelt es sich um das Institut für Medizinische Mikrobiologie und Krankenhaushygiene im Klinikum der Goethe-Universität in Frankfurt am Main, das MVZ Labor Dr. Limbach in Heidelberg, SYNLAB MVZ in Gauting, Labor Berlin und das Bioscientia Institut für Medizinische Diagnostik GmbH in Ingelheim.

Im häufigsten Fall einer pulmonalen TB wird der Erregernachweis aus Sputum oder Bronchialsekret, bei Kindern aus Magensaft angestrebt (5). Bei Urogenital-TB ist der Urin, bei meningealem Befall der Liquor das geeignete Untersuchungsmaterial (5). Gewebeproben sind gelegentlich zur Abklärung eines pulmonalen Rundherdes oder bei extrapulmonalem Befall etwa des Skeletts oder der Lymphknoten erforderlich (5).

Um die säurefesten Stäbchen mikroskopisch zu erkennen, wird das Untersuchungsmaterial nach Ziehl-Neelsen oder mit Auramin angefärbt (5). Ab einer Konzentration von 10^3 - 10^4 Bakterien/ml gelingt der mikroskopische Nachweis, wobei eine Unterscheidung zwischen tuberkulösen und anderen Mykobakterien nicht möglich ist (5, 9).

Zusätzlich werden, dem Goldstandard der TB-Diagnostik entsprechend, Kulturen sowohl in Flüssig- als auch Festmedien angelegt, die bei einer Ausgangszahl von 10 - 100 Organismen nach 2 bis 8 Wochen Bebrütung zu einem Nachweis führen (8). Anhand des kulturellen Wachstumsmusters kann sicher zwischen Tuberkuloseerregern und anderen Mykobakterien unterschieden werden (5).

Es folgt die Empfindlichkeitsprüfung für Antibiotika in der Flüssigkultur. Diese umfasst die Prüfung auf Resistenzen gegen die Erstrangmedikamente Isoniazid, Rifampicin, Pyrazinamid und Ethambutol (5). Aufgrund der selten gewordenen Verwendung von Streptomycin wird die Empfindlichkeit gegenüber dieser Substanz nur in Einzelfällen untersucht. Aus Gründen der Wirtschaftlichkeit werden nur bei nachgewiesener Resistenz gegen die Erstrangmedikamente weitere Resistenztestungen durchgeführt. Zu den nachrangig getesteten Substanzen gehören die Zweitrangmedikamente Moxifloxacin, Ofloxacin, Amikacin, Capreomycin und Kanamycin (nicht mehr empfohlen siehe 1.4 Therapie), Terizidon/Cycloserin, Linezolid, Para-Aminosalicylsäure, Protionamid, Rifabutin, Levofloxacin, Bedaqualin und Delamanid.

Dem § 7 Absatz 1 IfSG entsprechend melden die Primärlabore dem Gesundheitsamt Frankfurt am Main jeden mikroskopischen oder kulturellen Nachweis von *M. tuberculosis*, *M. bovis* und *M. africanum* sowie das Ergebnis der Resistenzbestimmung (20).

Die mikrobiologischen Untersuchungen des Untersuchungsmaterials von Frankfurter TB-Patienten erfolgen zu mehr als 90% in fünf Primärlaboren, den Vertragspartnern der Frankfurter Kliniken (s. o.).

2.1.2 Amplifikation der Erregerstämme

Im Rahmen des durch das Bundesministerium für Bildung und Forschung geförderten Verbundprojekts „Suszeptibilität bei Infektionen: Tuberkulose (TB-or-not-TB)“ koordinierte das Nationale Referenzzentrum für Mykobakterien (NRZ Borstel) die von 2008 bis 2014 laufende multizentrische Studie „Resistenz gegenüber Tuberkulose (TB-or-not-TB)“, an welcher auch das Gesundheitsamt Frankfurt am Main mitwirkte. Seit 2016 ist es an einer weiteren Studie des Deutschen Zentrums für Infektionsforschung

(DZIF e. V.) zur Übertragungsdynamik der Tuberkulose beteiligt. Seit Beginn der Studie „TB-or-not-TB“ im Jahre 2008 werden die Primärlabore in Abständen von 3 bis 4 Monaten gebeten, sämtliche zum MTB-Komplex gehörigen angezüchteten Isolate von Frankfurter Patienten an das NRZ Borstel zu senden (46). Die Primärlabore kamen diesem Wunsch nach.

Nach dem Eintreffen der Isolate im NRZ Borstel und enzymatischer Isolation der Erreger-DNA wird diese im NRZ Borstel mittels Polymerase-Kettenreaktion (PCR) amplifiziert (47). Dazu wird die DNA zunächst im Verhältnis 1:20 mit Wasser verdünnt. Anschließend werden auf einer 96-well-Platte 5,5µl Premix (GenoScreen® TB real time PCR kit) mit 2,5µl Wasser und 2µl der verdünnten Erreger-DNA angesetzt. Die für den Premix gewählten DNA-Primer sind spezifisch für jene die Repeatregionen (MIRU) einrahmenden bekannten Sequenzen im Genom von *M. tuberculosis*, sodass gezielt diese Repeatregionen amplifiziert werden können (48). Nach kurzer Anzentrifugation und anschließender 15-minütiger Inkubation bei 95°C im PCR-Block erfolgen 40 Zyklen der folgenden Arbeitsschritte im PCR-Block: 1 Minute bei 94°C zur Trennung der DNA in zwei DNA-Einzelstränge („Denaturierung“), 30 Sekunden bei 59°C zur Hybridisierung von Primern und 3'-Enden der Einzelstränge („Annealing“) und schließlich 90 Sekunden bei 72°C zur Anlagerung komplementärer Basen und damit der Bildung von DNA-Doppelsträngen („Elongation“). Im Anschluss folgt eine 10-minütige Inkubation bei 72°C und die Lagerung des PCR-Mixes bei 4°C. Die biologischen Grundlagen der PCR sind ausführlich an anderer Stelle beschrieben (49).

Zum Schluss wird der sich daraus ergebende PCR-Mix anzentrifugiert und anschließend in einem Verhältnis von 1:3 bis 1:5 mit Wasser verdünnt, danach auf einem Vortexmischer durchmischt sowie zum Schluss erneut anzentrifugiert (verdünnter PCR-Mix).

2.1.3 Sequenzierung und MIRU-VNTR

Zur Vorbereitung der DNA-Sequenzierung werden auf einer 96 well-ABI-Platte 9,75µl Formamid mit 0,25µl des Farbstoffs GeneScan™ 500 LIZ® von ThermoFisher Scientific und 2µl des verdünnten PCR-Mixes angesetzt. Nach Durchmischung durch den

Vortexmischer sowie kurzer Zentrifugation wird der Ansatz zur Denaturierung bei 95°C für 5 Minuten und anschließend bei 4°C für 5 Minuten auf dem PCR-Block inkubiert. Die 96 well-ABI-Platte wird im nächsten Schritt im DNA-Sequenzier 3500xl Genetic Analyzer von ThermoFisher Scientific platziert (50), welcher zunächst die MIRU-Regionen der mykobakteriellen DNA automatisch nach Sanger sequenziert. Diese Methode ist an anderer Stelle ausführlich beschrieben (51). Im zweiten Arbeitsschritt des DNA-Sequenzers erfolgt die automatische kapilläre Elektrophorese. Die Information über die Länge der einzelnen DNA-Fragmente, also der Anzahl der Repeats (VNTR) der insgesamt 24 MIRU-Loci, wird mithilfe eines eingebauten Fluoreszenzdetektors in ein digitales Signal umgewandelt. Je nach Anzahl der Repeats ergeben sich in der Elektrophorese Peaks an unterschiedlichen Stellen (39). Die Spezialsoftware GeneMapper™ (Version 5) von ThermoFisher Scientific wird im NRZ Borstel zur darauffolgenden Analyse der MIRUs genutzt.

2.1.4 Spoligotypisierung

Neben der Genotypisierung mittels 24-loci MIRU-VNTR wird zusätzlich noch über die Spoligotypisierung der mykobakterielle Genotyp bestimmt. Dabei wird die Direct Repeat-(DR-) Region im Genom der Isolate untersucht (39). Dazu werden 43 der individuellen Spacer-Sequenzen, welche die einzelnen hintereinanderliegenden Repeat-Sequenzen flankieren, amplifiziert (39). Das daraus entstehende Typisierungsmuster wird nach Hybridisierung auf einer Membran mithilfe eines Lichtsignals visualisiert und kann so zum Stammesvergleich genutzt werden (39).

2.1.5 Zuordnung des Genotyps

Zum Abschluss erfolgte die individuelle Zuordnung der Patientenisolate zu einem Stamm bzw. Genotyp. Die Zuordnung der klinischen Isolate zu ihrem Genotyp sowie die Visualisierung der phylogenetischen Verwandtschaft erfolgten durch Mitarbeiter des NRZ Borstel in Gegenwart der Verfasserin dieser Arbeit.

Für MIRU-VNTR wurde dies durch den Abgleich der MIRU-Ergebnisse mit der Online-Referenzkollektion MIRU-VNTRplus erreicht (52).

Um im Kontext dieser Arbeit ein molekulares Cluster und somit eine mögliche Infektionskette zu bilden, mussten mindestens 2 Patientenisolat einen identischen DNA-Fingerabdruck aufweisen, d. h. gleiche Ergebnisse von 24-loci MIRU-VNTR und Spoligotypisierung. Fehlte mehr als ein MIRU-VNTR Locus (kein PCR Produkt oder keine eindeutige Repeat-Anzahl durch z.B. Mischinfektion oder Laborkontamination), so wurde das Isolat von der Analyse ausgeschlossen.

Die phylogenetische Verwandtschaft aller typisierten Fälle wurde in einem Stammbaum mithilfe der MTB-Komplex-Referenzkollektion MIRU-VNTRplus auf der Internetseite www.miruvntr.plus.org analysiert. Patientenisolat, die einen gemeinsamen Vorfahren mit den Referenzstämmen teilten, wurden dem entsprechenden Genotyp zugeordnet (52). Konnte keine eindeutige Zuordnung (kein gemeinsamer phylogenetischer Vorfahre) getroffen werden, so wurde der Genotyp als „nicht definiert“ bestimmt. Weiterhin wurde zur Visualisierung der Ähnlichkeit der Patientenisolat der Minimum Spanning Tree (MST, minimaler Spannbaum) - Algorithmus der Software BioNumerics 7 (Applied Maths) verwendet. Hierbei werden die MIRU-VNTR-Profilen in einem Netzwerk nach ihrer Ähnlichkeit angeordnet, gleiche MIRU-VNTR-Profilen werden in gemeinsamen Knotenpunkten zusammengefasst.

2.2 Erhebung der epidemiologischen Patientendaten

Im Anschluss an den Eingang der Meldung nach § 6 oder § 7 Absatz 1 IfSG im Gesundheitsamt Frankfurt am Main werden in der Regel innerhalb einer Woche im Patientengespräch durch Mitarbeiter des Gesundheitsamts zusätzliche epidemiologische Patientendaten erfragt und im Verlauf vervollständigt.

Darunter fallen die im Rahmen der TB-Fürsorge vom RKI geforderten Daten zum Anlass der Diagnose, zu einer potenziellen Therapieeinleitung sowie deren Zeitraum und Ergebnis, zu den betroffenen Organen und einer möglichen TB-Vorerkrankung sowie -behandlung in der Vergangenheit (9). Mitarbeiter des Gesundheitsamts Frankfurt am Main erheben im Rahmen der Anamnese standardmäßig neben klinischen Beschwerden Daten zu früheren Krankheiten, Unfällen oder Operationen, zum Legal- und Sozialstatus sowie der aktuellen Wohnsituation. Außerdem werden Aufenthalte in Risikogebieten, der Zeitpunkt der Einreise nach Deutschland sowie potenzieller Kontakt zu Personen mit offener TB erfragt (9). Nach Möglichkeit werden im Patientengespräch oder anhand von Arztbriefen folgende Risikofaktoren erfasst: HIV-Infektion, intravenöser Drogenkonsum, Diabetes mellitus, Silikose, Alkoholabusus, Untergewicht, Dialyse, maligne Erkrankung, chronische Einnahme von systemischen Glucocorticoiden, Einnahme von TNF- α -Antagonisten oder anderen Immunsuppressiva.

In Frage kommende Anlässe zur Diagnose sind die Abklärung tuberkulosebedingter Symptome, Zufallsbefund, Röntgenaufnahme oder IGRA bei der Aufnahme in eine Gemeinschaftsunterkunft nach § 36 Absatz 4 IfSG sowie folgende als „Sonstige“ zusammengefasste Anlässe: die Überwachung gesunder Befundträger nach früherer TB-Erkrankung, Röntgenaufnahme bei Aufnahme in eine Justizvollzugsanstalt, Umgebungsuntersuchungen und Obduktionen.

2.3 Statistische und deskriptive Analyse der Datensätze

Alle in diesem Kapitel 2.3 beschriebenen Arbeitsschritte wurden von der Verfasserin dieser Arbeit durchgeführt. Zunächst wurden die epidemiologischen Daten aller zwischen dem 01.01.2008 und dem 31.12.2016 erkrankten und in Frankfurt am Main wohnhaften Patienten aus der amtseigenen Software Gumax[®] sowie der jeweils dazugehörige Genotyp aus einer durch das NRZ Borstel generierten Microsoft[®] Excel-Tabelle in einer gemeinsamen Microsoft[®] Excel-Tabelle dokumentiert. Dazu war in zahlreichen Fällen aufgrund lückenhaft erscheinender elektronischer Dokumentation eine ergänzende Papierakteneinsicht nötig. Innerhalb des Studienzeitraums mehrfach erkrankte Patienten wurden nur als ein Fall in die Tabelle aufgenommen, und zwar mit ihrer Ersterkrankung.

Um die Gesamtheit der genotypisierten Fälle näher zu beschreiben, wurden Altersstruktur, Inzidenz nach Altersgruppe, Resistenzvorkommen, Herkunft, Anlass der Diagnose, Art der TB und Latenz zwischen Einreise nach Deutschland und Diagnose entsprechend ihrer Häufigkeitsverteilung grafisch dargestellt. Hinsichtlich des Geschlechts und der Altersstruktur wurde die Gruppe der genotypisierten Fälle/Studienteilnehmer mittels Mann-Whitney-Test mit der Gruppe der Nichtstudienteilnehmer verglichen. Patienten, die eine pulmonale und extrapulmonale TB-Form aufwiesen, wurden als an pulmonaler TB erkrankt kategorisiert. Der Ansteckungsgrad der Fälle pulmonaler TB, das heißt der mikroskopische oder kulturelle Erregernachweis in Sputum, Bronchialsekret oder Magensaft, wurde ebenfalls grafisch dargestellt.

Um die Übertragung zwischen in Deutschland geborenen und aus dem Ausland stammenden Patienten näher zu beschreiben, wurde mittels Mann-Whitney-Test untersucht, inwiefern sich die im Ausland geborenen Patienten in gemischten Clustern (deutsche und ausländische Herkunft der clusterzugehörigen Patienten) von jenen solcher Cluster, die ausschließlich aus im Ausland geborenen Patienten bestehen, hinsichtlich ihrer medianen Latenz zwischen Einreise und Diagnose unterscheiden. Es wurde außerdem untersucht, in wie vielen Fällen der erste gemeldete Patient eines Clusters deutscher beziehungsweise ausländischer Herkunft war.

Zur statistischen Analyse wurden die Patientendaten in die Software IBM SPSS Statistics®, Version 22 übertragen.

Geht man von der vereinfachten Annahme aus, dass die in einem Cluster als erste erkrankte Person die anderen clusterzugehörigen Patienten angesteckt hat, so errechnet sich der Anteil rezenter Übertragungen mit der (n-1)-Methode ((Anzahl der geclusterten Isolate - Anzahl der Cluster) / (Anzahl der Isolate mit einer Typisierung)). Um Risikofaktoren für Clusterzugehörigkeit zu untersuchen, wurden eine univariate logistische Regression mit Clusterzugehörigkeit als Outcome-Variable durchgeführt und die Chancenverhältnisse (Odds Ratios) berechnet.

Die untersuchten Variablen umfassten Altersgruppe (Altersquartile 1, 2 und 3 bezogen auf das Quartil 4 der Ältesten), Geschlecht (Frauen/Männer), Herkunft (in Deutschland geboren/im Ausland geboren), TB-Vorerkrankung (keine Vorerkrankung/Vorerkrankung), Ansteckungsfähigkeit (nicht ansteckend/ansteckend), prekäre Wohnverhältnisse (fester Wohnsitz/ohne festen Wohnsitz oder JVA), jegliche Resistenz (keine Resistenz/jegliche Resistenz), Multiresistenz (keine Multiresistenz/Multiresistenz), INH-Resistenz (keine INH-Resistenz, INH-Resistenz), Beijing-Genotyp (kein Beijing/Beijing), HIV (HIV negativ/HIV positiv), iv-Drogen (kein iv-Drogenkonsum/iv-Drogenkonsum) und Alkohol (kein Alkoholmissbrauch/Alkoholmissbrauch).

Variablen, die in der univariaten Analyse einen Zusammenhang zur Clusterzugehörigkeit mit einem p-Wert von $\leq 0,2$ erkennen ließen, wurden in eine multivariate logistische Regression mit Clusterzugehörigkeit als Outcome-Variable aufgenommen - einschließlich Altersgruppe und Geschlecht als mögliche Confounder. Wegen eines nicht linearen Zusammenhangs zwischen Alter und Clusterzugehörigkeit wurde die Altersvariable in Quartile unterteilt (0 - 27,8 Jahre; 27,8 - 38,0 Jahre; 38,0 - 52,5 Jahre und 52,5 – 99,0 Jahre) und die Altersgruppe der über 52,5-Jährigen mit dem geringsten Risiko für eine Clusterzugehörigkeit als Referenz definiert.

Mithilfe der logistischen Regression wurden durch einen sukzessiven Eliminationsprozess nach und nach alle Variablen aus dem Modell entfernt, die keine signifikante Assoziation zur Clusterzugehörigkeit aufwiesen, bis nur noch Variablen mit einem p-Wert von $< 0,05$ verblieben.

Um komplementäre Informationen über die Transmissionswege der TB in Frankfurt am Main zu erhalten, erfolgte neben den beschriebenen statistischen Analysen eine rein deskriptive Betrachtung einzelner Cluster, um epidemiologisch nachvollziehbare Zusammenhänge innerhalb eines Clusters festzustellen. Dabei wurde das Augenmerk insbesondere auf anamnestische Angaben zum sozialen Umfeld der Patienten gelegt. Ein epidemiologischer Zusammenhang ist immer dann nachvollziehbar, wenn sich ein Fall als Kontaktperson einer erkrankten Person identifizieren lässt. Aus Datenschutzgründen ist es jedoch nicht möglich, auf der Grundlage der Zugehörigkeit zu einem gemeinsamen Cluster die einzelnen Patienten nach einer möglichen Beziehung zu anderen Patienten dieses Clusters zu befragen. Insofern lassen sich zahlreiche molekularbiologische Zusammenhänge epidemiologisch häufig nur approximativ nachvollziehen, etwa bei Zugehörigkeit von Patienten zu einer gemeinsamen Risikogruppe, wie im Fall von Flüchtlingen mit Aufenthalt in libyschen Gefängnissen oder Drogenabhängigen.

3 Ergebnisse

3.1 Epidemiologie und Statistische Analyse

Zwischen dem 01.01.2008 und 31.12.2016 wurden dem Gesundheitsamt Frankfurt am Main 988 Fälle von Tuberkulose gemeldet. In 11 Fällen handelte es sich um Zweiterkrankungen derselben Personen, die wie deren erste Erkrankung in Frankfurt am Main gemeldet wurden. In 750 (75,9%) von 988 Fällen gelang der kulturelle Nachweis von Erregern des MTB-Komplexes. In dieser Arbeit wurden während des Studienzeitraums mehrfach erkrankte Patienten nur mit ihrer Ersterkrankung als Einzelfall gewertet, um deren individuelle in die Analyse eingehenden Eigenschaften nicht doppelt zu gewichten.

Von den verbleibenden 977 Fällen waren 186 (19,0%) Patienten in Deutschland geboren, 791 (81,0%) im Ausland. In 742 (76,0%) von 977 Fällen gelang der kulturelle Nachweis von Erregern des MTB-Komplexes. Dabei konnte in 616 (83,0%) dieser 742 Fälle anschließend ein mykobakteriologischer Genotyp bestimmt werden. Nach der Genotypisierung durch 24-loci MIRU-VNTR und Spoligotypisierung wiesen 440 (71,4%) dieser 616 Fälle einzigartige Stämme auf, 176 (28,6%) Fälle hingegen einen mit je mindestens einem weiteren Fall übereinstimmenden DNA-Fingerabdruck, sodass diese Patienten gemeinsame Cluster bildeten (**Abbildung 1**). Diese clusterzugehörige Patientengruppe stand im Fokus der Arbeit. Es fanden sich insgesamt 61 Cluster, woraus sich eine durchschnittliche Clustergröße von 2,9 Patienten ergab (**Abbildung 2**).

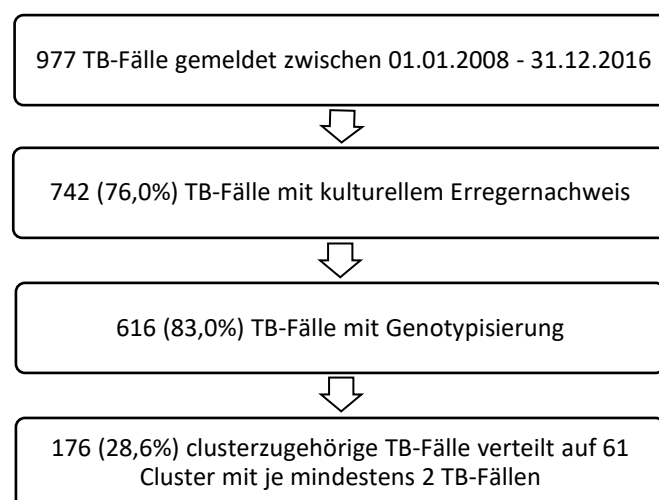


Abbildung 1: Anzahl gemeldeter TB-Fälle (erste Erkrankung im Studienzeitraum) in Frankfurt, einschließlich kultur-positiver Fälle sowie typisierter Stämme und Cluster, 2008 - 2016

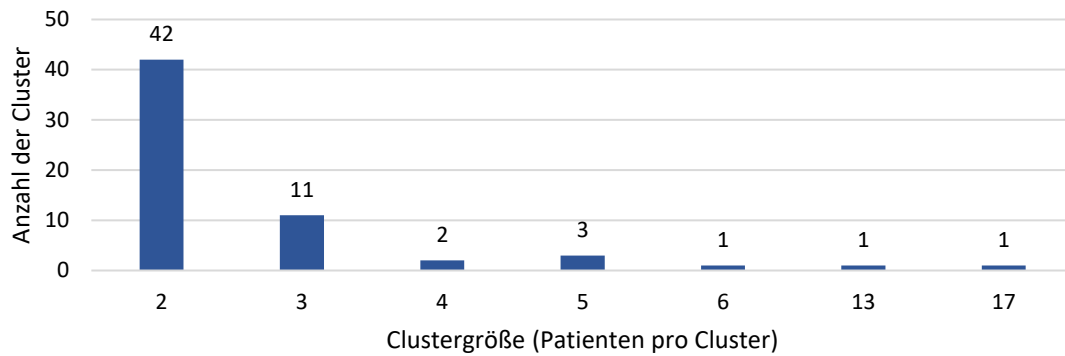


Abbildung 2: Anzahl der Cluster und Clustergröße, 2008 - 2016

Unter den 616 typisierten Fällen waren 235 (38%) Patienten weiblichen und 381 (62%) männlichen Geschlechts. Die Studienteilnehmer/typisierten Fälle (n = 616) unterschieden sich hinsichtlich ihres Geschlechts nicht signifikant von den Nichtteilnehmern (n = 361; p = 0,78). Deutscher Herkunft waren 119 (19,3%) Patienten, 497 (80,7%) Patienten waren im Ausland geboren, wobei Indien mit 49 (9,9%), Äthiopien mit 39 (7,9%) und Eritrea mit 36 (7,2%) Fällen die häufigsten nichtdeutschen Herkunftsländer darstellten (**Abbildungen 3 und 4.1**).

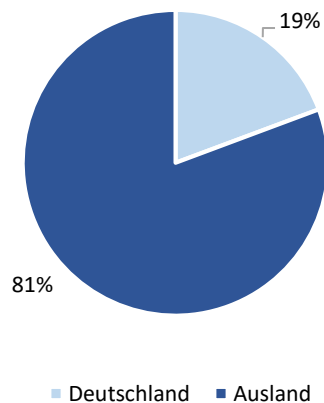


Abbildung 3: Herkunft der Patienten (n = 616), 2008 - 2016

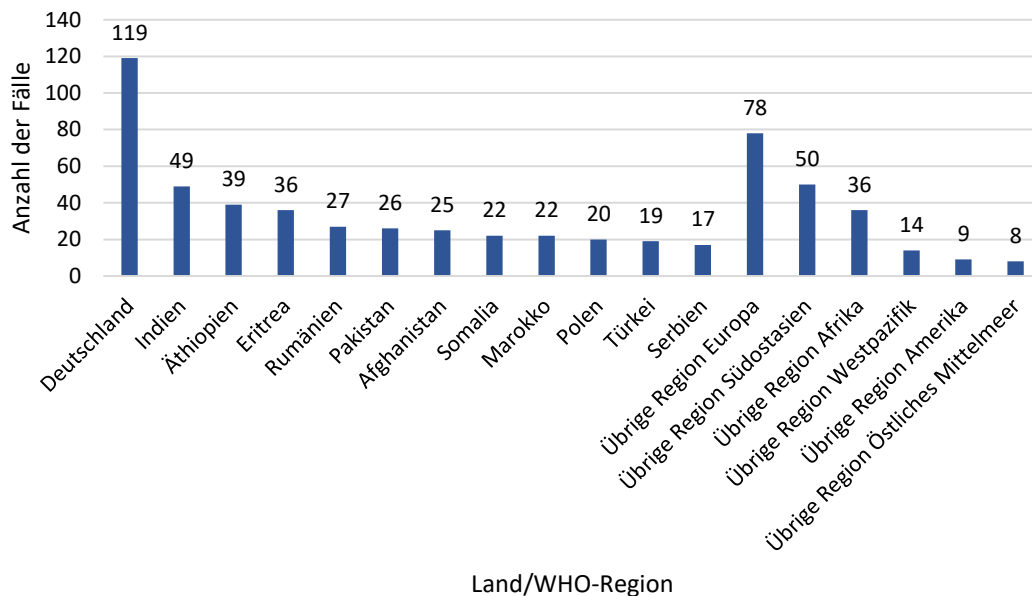


Abbildung 4.1: Häufigkeitsverteilung der Herkunftsländer (n = 616). Sonstige Herkunftsländer nach WHO-Regionen zusammengefasst, 2008 - 2016

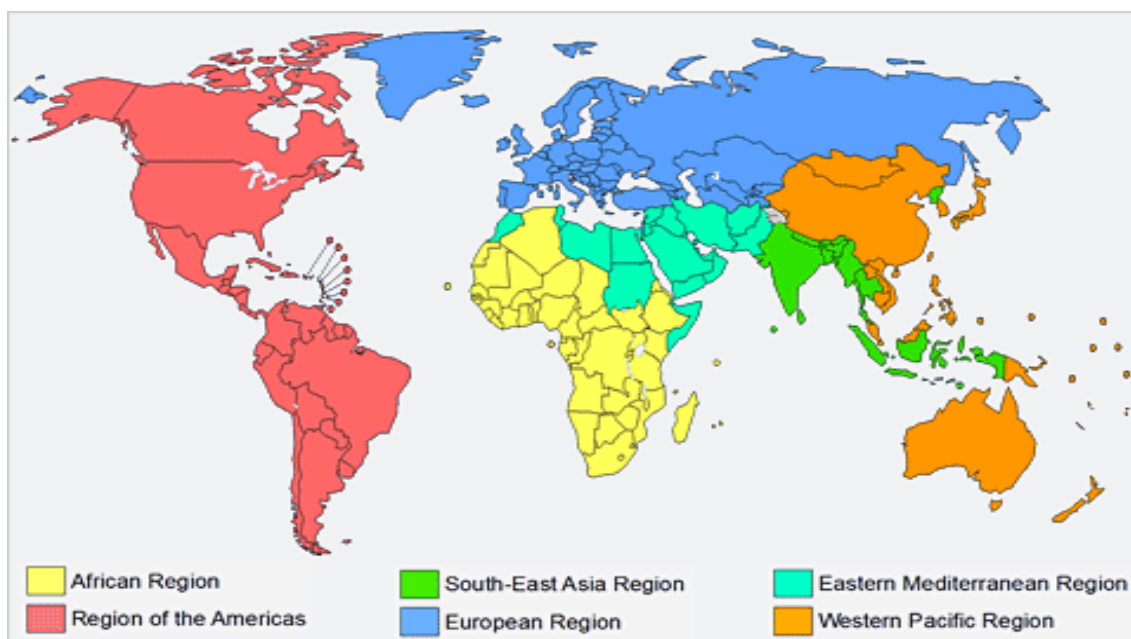


Abbildung 4.2: WHO-Regionen; Quelle: www.who.int

In 457 (74,2%) Fällen wurde eine pulmonale TB diagnostiziert, in 159 (25,8%) Fällen eine extrapulmonale, darunter am häufigsten Lymphknoten-TB (56%), Knochen-TB (15,1%) und Pleura-TB (9,4%) (**Abbildung 5**). Unter den Fällen pulmonaler TB erlaubten 265 (58,0%) Fälle den mikroskopischen Nachweis von Mykobakterien, in 189 (41,4%) Fällen konnte der Erreger nur kulturell nachgewiesen werden (**Abbildung 6**). In drei Fällen

(0,7%) führte eine Lungenbiopsie aufgrund eines unklaren Rundherdes zum Erregernachweis im Gewebe. Sputum wurde in diesen Fällen nicht untersucht. Der Ansteckungsgrad bleibt somit unbekannt.

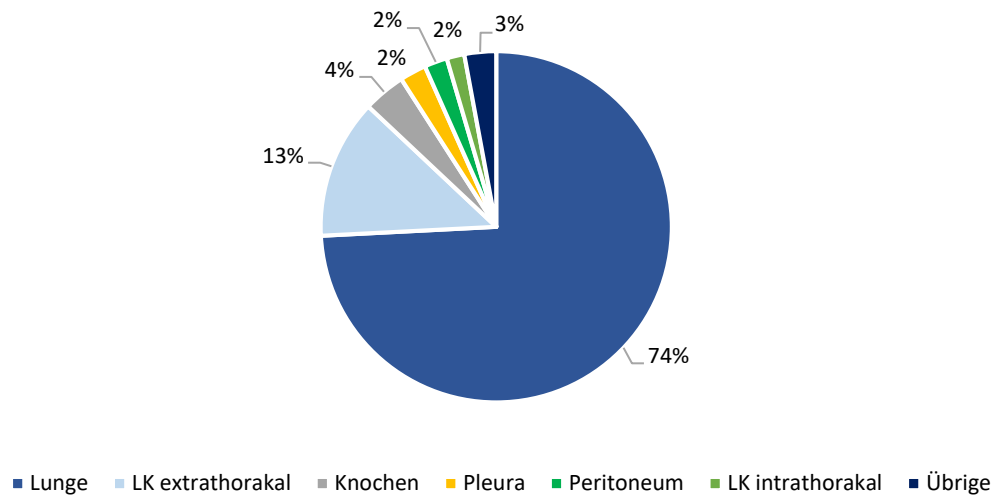


Abbildung 5: Organbefall der TB (n = 616), 2008 - 2016

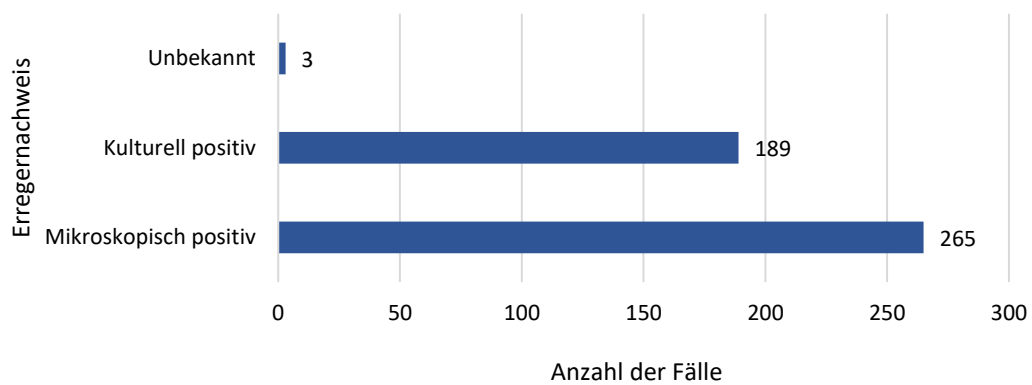


Abbildung 6: Ansteckungsgrad der pulmonalen TB-Fälle nach Nachweismethode in Sputum/Bronchialsekret (n = 457), 2008 - 2016

Die absolut betrachtet im Studienzeitraum am häufigsten betroffene Altersgruppe waren die 30- bis 39-Jährigen (**Abbildung 7**). Hinsichtlich ihrer Altersstruktur unterschieden sich die genotypisierten Fälle/Studienteilnehmer (n = 616; Median 38,5 J.) nicht signifikant von den Nichtstudienteilnehmern (n = 361; Median 40,5 J.; p = 0,49) (**Abbildung 8**). Die höchste über den Studienzeitraum gemittelte Inzidenz fand sich in der Altersgruppe der 20- bis 29-Jährigen mit 15,5 pro 100.000 Einwohner (**Abbildung 9**). Mit steigendem Alter nahm diese bis zur Altersgruppe der 70- bis 79-Jährigen bis 6 Neuerkrankungen pro 100.000 stetig ab, um bei den 80- bis 89-Jährigen noch einmal leicht auf 7,2 Neuerkrankungen pro 100.000 anzusteigen. Die Inzidenz unter den 10- bis 19-Jährigen lag bei 8,5 pro 100.000 Einwohner.

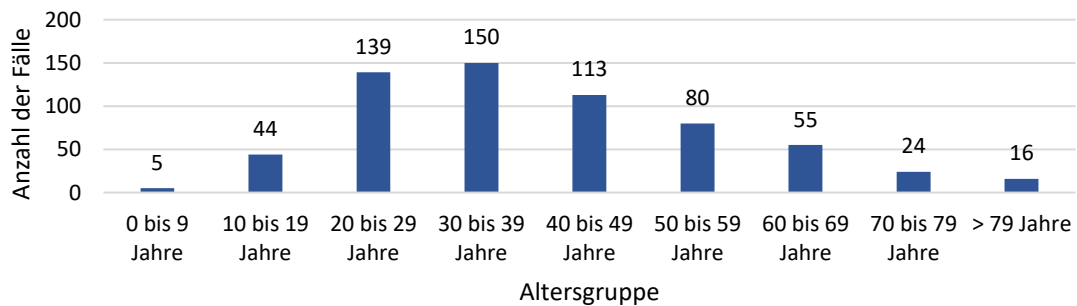


Abbildung 7: Altersverteilung der Patienten zum Zeitpunkt der Diagnose (n = 616), 2008 - 2016

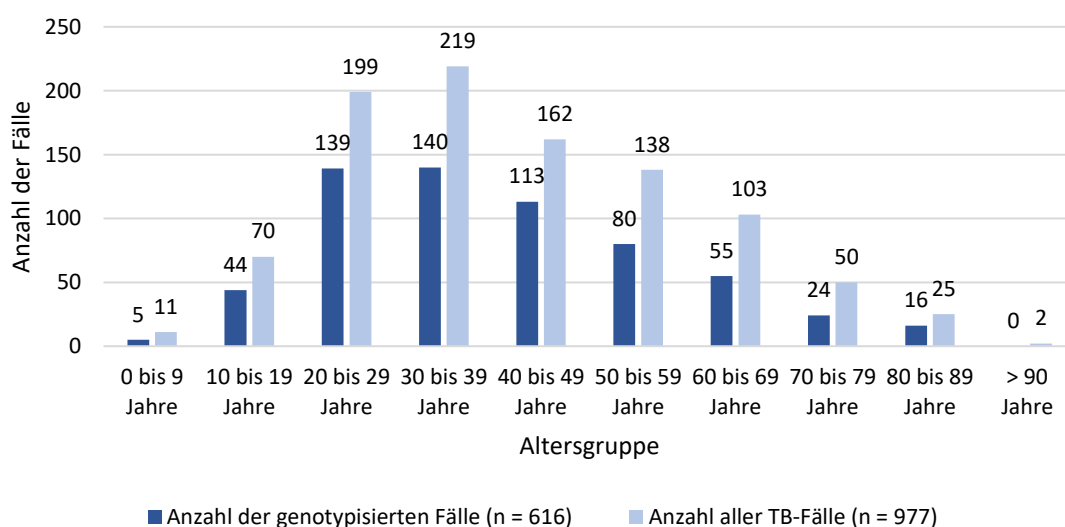


Abbildung 8: Verteilung der TB-Fälle nach Altersgruppen, 2008 - 2016

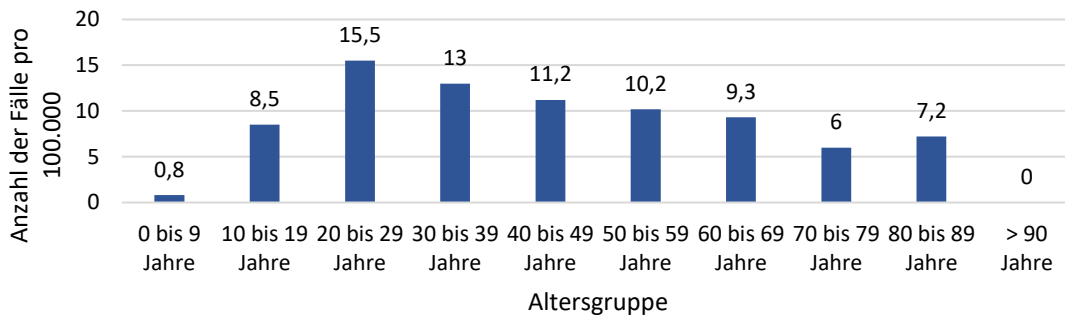


Abbildung 9: Durchschnittliche TB-Inzidenz pro 100.000 Einwohner nach Altersgruppen (n = 616), 2008 - 2016

Anlass der Diagnose war meist die Abklärung tuberkulosebedingter Symptome (85%), aber auch Zufallsbefunde (7%) oder Röntgenaufnahmen beziehungsweise IGRA bei der Aufnahme in Gemeinschaftsunterkünfte (4%). Sonstige Anlässe wie die Überwachung gesunder Befundträger nach früherer TB-Erkrankung, Röntgenaufnahme bei Aufnahme in eine Justizvollzugsanstalt, Umgebungsuntersuchungen und Obduktionen spielten als Einzelfaktoren eine untergeordnete Rolle und machten in der Summe 4% aus (**Abbildung 10**). Am häufigsten unter den 616 typisierten Fällen waren die Genotypen Haarlem (20,6%), Delhi/CAS (17,5%) und Beijing (7,9%). Die **Abbildung 11** zeigt die Häufigkeitsverteilung der Genotypen, der minimale Spannbaum auf **Abbildung 12** die Gesamtheit der typisierten Fälle entsprechend ihres Genotyps und ihrer phylogenetischen Ähnlichkeit.

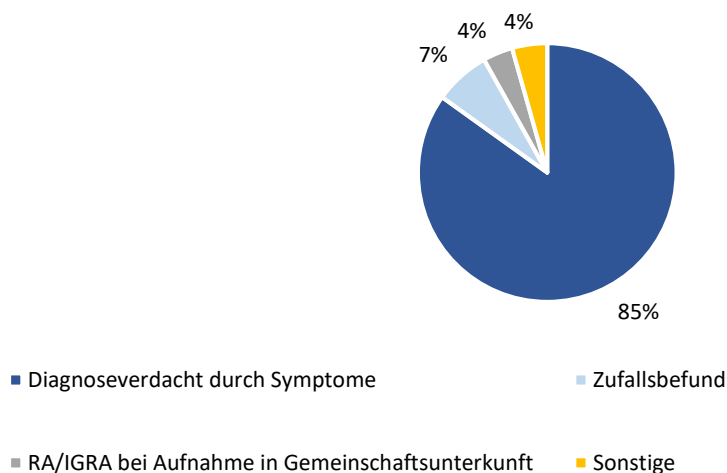


Abbildung 10: Anlass zur Diagnose (n = 616), 2008 - 2016

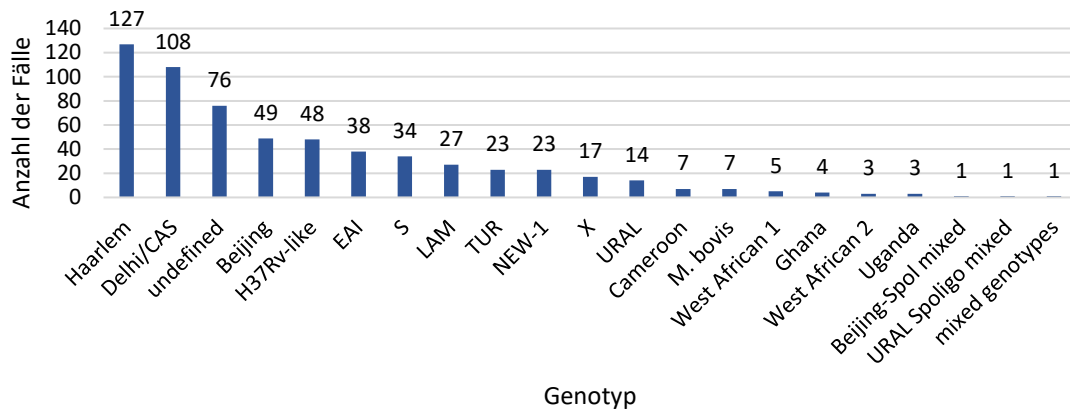


Abbildung 11: Häufigkeitsverteilung der Genotypen (n = 616), 2008 - 2016

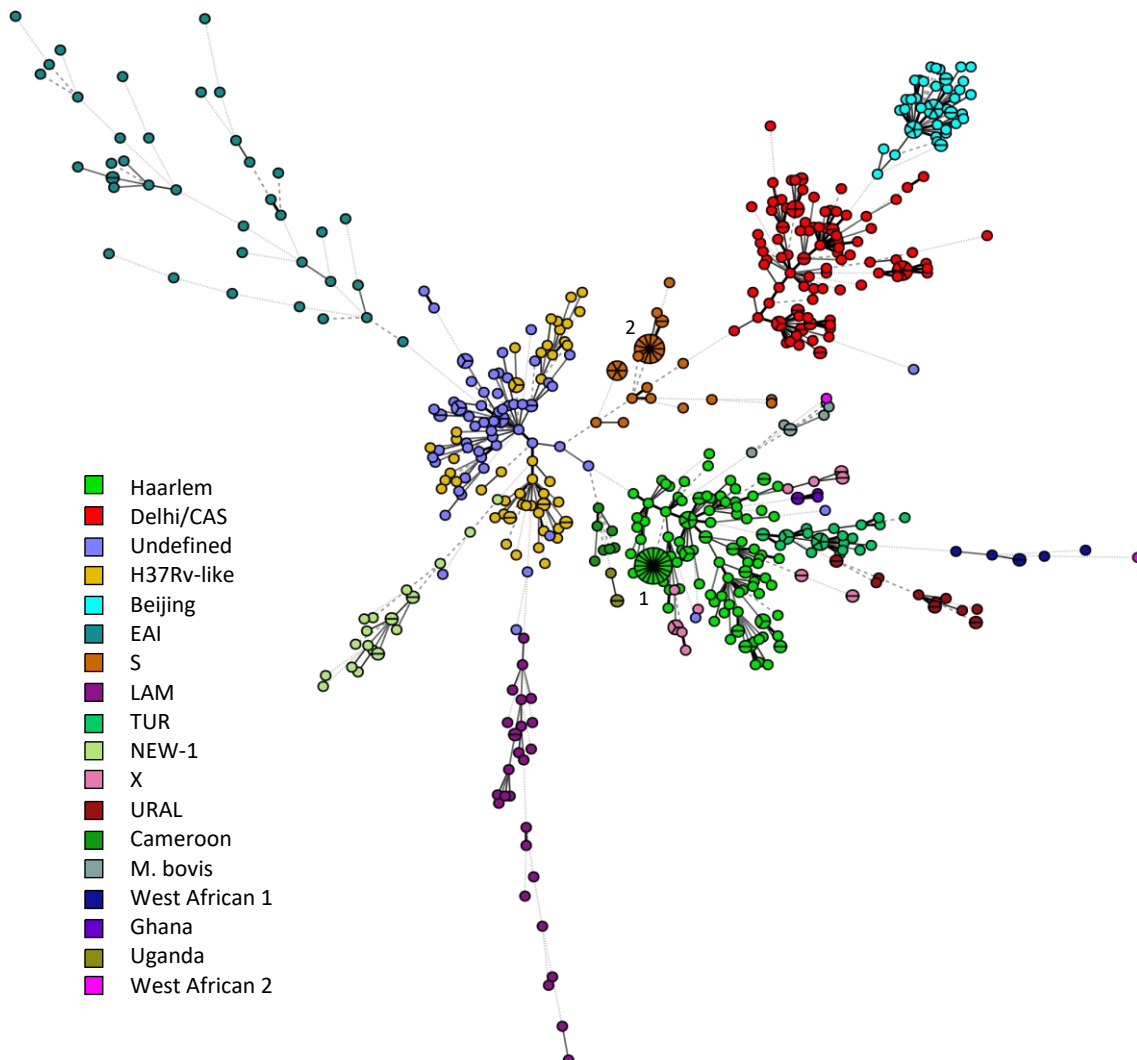


Abbildung 12: Minimum Spanning Tree zur phylogenetischen Ähnlichkeit der typisierten TB-Fälle (Farbe nach Genotyp). Identische Stämme werden in gemeinsamen Knotenpunkten als Cluster zusammengefasst, z. B. Haarlem-Cluster Nr. 19 (grüner Knotenpunkt bei 1) mit 17 Clustermitgliedern oder S-Cluster Nr. 50 (brauner Knotenpunkt bei 2) mit 13 Clustermitgliedern, 2008 - 2016.

Mindestens eine Resistenz fand sich in 106 (17,4%) Fällen (**Abbildung 13**). In 16 Fällen (2,6%) lag eine MDR-TB, in 4 Fällen (0,66%) eine XDR-TB vor. Von allen typisierten Fällen, die einer Resistenzprüfung unterzogen wurden (n = 610), wiesen 71 Patienten (11,7%) eine isolierte INH-Resistenz auf.

Die meisten Patienten mit einer MDR-TB oder XDR-TB stammten aus Osteuropa und angrenzenden Ländern, insbesondere aus Bulgarien, Russland und der Ukraine (**Abbildung 14**).

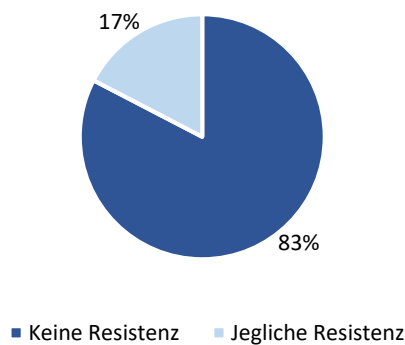


Abbildung 13: Resistenzauftreten unter allen typisierten Fällen (n = 610), 2008 - 2016

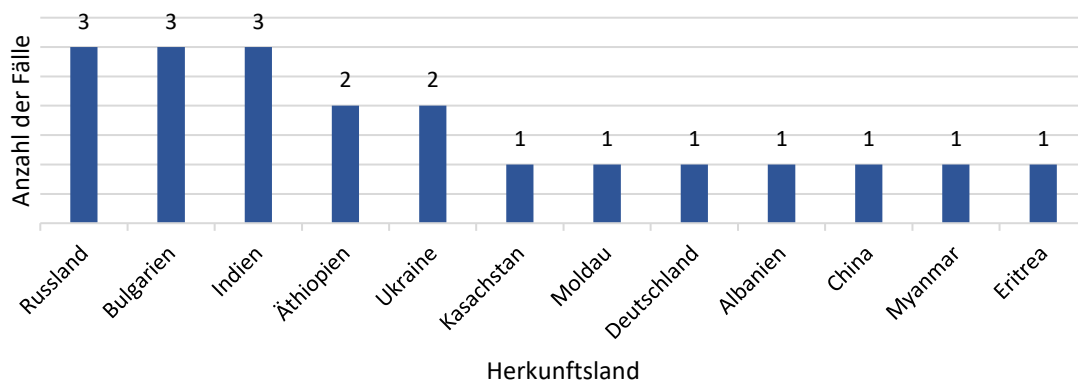


Abbildung 14: Fälle mit MDR/XDR nach Herkunft (n = 20), 2008 - 2016

Unter den Fällen mit Haarlem als Genotyp (125) bestanden in 10 (8,0%) Fällen Resistenzen. Unter den Delhi/CAS-Fällen (108) wiesen 12 (11,1%) Fälle Resistenzen auf. Die Beijing-Fälle (49) wiesen mit 25 (51,0%) Fällen deutlich häufiger Resistenzen auf.

Betrachtet man unter allen Patienten ausländischer Herkunft die Latenz zwischen der Einreise nach Deutschland und dem Zeitpunkt der Diagnose, so ergaben sich zwei Häufigkeitsgipfel: innerhalb des ersten Jahres wurde bei 83 (17,1%) von 485 Fällen die Diagnose gestellt. Nach 10 oder mehr Jahren wurden deutlich mehr, nämlich 192 (39,6%) Erkrankungen diagnostiziert. Die genaue Verteilung zeigt die **Abbildung 15**. Im Median verstreichen 6 Jahre (312 Wochen) zwischen Einreise nach Deutschland und Diagnose einer Tuberkulose.

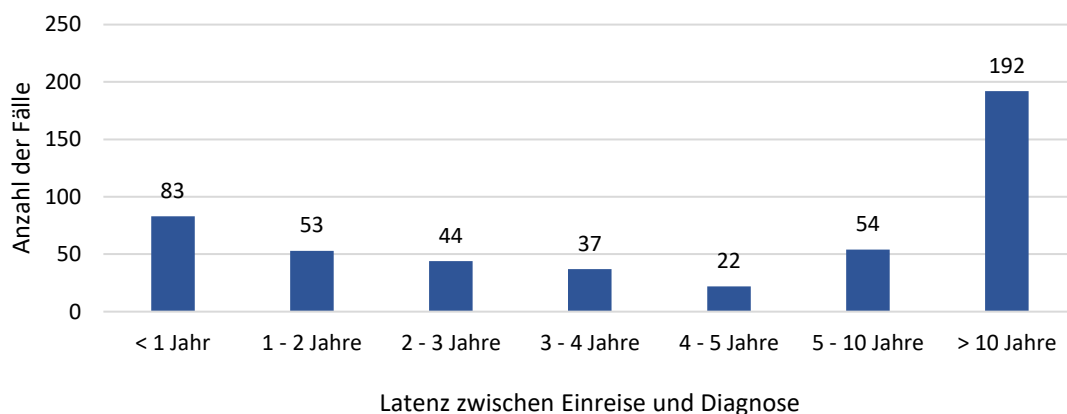


Abbildung 15: Latenz zwischen Einreise nach Deutschland und Diagnose, n=485, 2008-2016

Unter allen typisierten Fällen fanden sich 176 (28,6%) clusterzugehörige Patienten, verteilt auf 61 Cluster (**Abbildung 2**). Die zwei größten Cluster bestanden aus 17 beziehungsweise 13 Fällen. Ein Cluster wies 6 Patienten auf. Drei Cluster bestanden aus je 5 Patienten und zwei Cluster aus je 4 Patienten. Des Weiteren fanden sich 11 Cluster, die aus 3 Patienten bestanden, und 42 Cluster mit nur 2 Patienten. Aus der Anzahl der Cluster (n = 61), der clusterzugehörigen Patienten (n = 176) und der Anzahl typisierter Stämme (n = 616) ergab sich mithilfe der (n-1)-Methode, wie unter 2.3 erläutert, ein Anteil rezenter Übertragungen von 18,7%.

Aus Patienten ausschließlich deutscher Herkunft bestanden lediglich 4 (6,6%) Cluster. Ausschließlich nichtdeutscher Herkunft waren die Patienten in insgesamt 31 (50,8%) Clustern. Des Weiteren ergaben sich 26 (42,6%) gemischte Cluster, also mit Patienten sowohl deutscher als auch nichtdeutscher Herkunft. Die 43 im Ausland geborenen Patienten in gemischten Clustern waren im Median zum Zeitpunkt der Diagnosestellung bereits 520 Wochen (10 J.) in Deutschland gewesen, wohingegen die 76 Patienten in

rein ausländischen Clustern zum Diagnosezeitpunkt 256 Wochen (4,9 J.) in Deutschland gewesen waren.

Unter den 26 gemischten Clustern war in 11 Fällen (42,3%) der jeweils zuerst diagnostizierte Fall bei Patienten deutscher Herkunft zu verzeichnen. Bei 15 Clustern (57,7%) war der zuerst diagnostizierte Patient nichtdeutscher Herkunft. Einen Großteil der im Ausland geborenen Patienten in gemischten Clustern machten gebürtige Europäer (55,8%; n = 43), insbesondere Osteuropäer, aus (**Abbildung 16**).

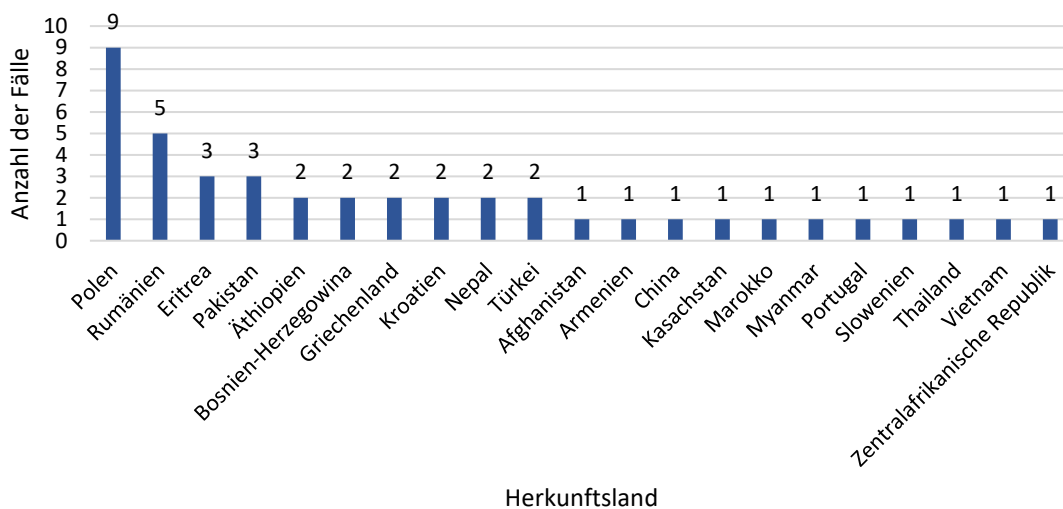


Abbildung 16: Herkunftsländer der im Ausland geborenen Patienten in gemischten Clustern (n = 43), 2008 - 2016

Unter den clusterzugehörigen im Ausland geborenen Patienten waren 65 (52,8%; n = 123) mit einem Stamm der Euro-American-Linie infiziert. Davon stammten 31 Patienten aus europäischen Ländern. Unter den im Ausland geborenen clusterzugehörigen Patienten waren 35,8% mit Stämmen infiziert, deren definierter Genotyp nicht zur Euro-American-Linie gehört. Zur Euro-American-Linie werden die Genotypen Ghana, Haarlem, X, URAL, TUR, S, LAM, NEW-1, H37Rv-like, Cameroon und Uganda gezählt (53). Unter allen Studienteilnehmern mit Resistenzbestimmung (n = 610) wiesen 106 Fälle (17,4%) mindestens eine Resistenz auf. Unter den Clustermitgliedern (n = 175) waren Resistenzen etwas häufiger (44 Fälle; 25,1%). Davon wiesen 7 (4%) eine MDR-TB auf. Bei 9 Patienten (5,1%) lag entweder eine MDR-TB oder eine XDR-TB vor.

Bei der univariaten logistischen Regression (**Tabelle 1**) war eine Clusterzugehörigkeit mit folgenden Faktoren assoziiert: männliches Geschlecht, Geburtsland Deutschland, ansteckende Form der TB, kein fester Wohnsitz oder Aufenthalt in Justizvollzugsanstalt, Vorliegen jeglicher Resistenz, Vorliegen einer INH-Monoresistenz, positiver HIV-Status, iv-Drogenkonsum oder Alkoholmissbrauch. TB-Vorerkrankung(en), Vorliegen einer Multiresistenz oder Zuordnung zum Beijing-Genotyp zeigten keinen Zusammenhang mit einer etwaigen Clusterzugehörigkeit.

Ein möglicher Zusammenhang zwischen Clusterzugehörigkeit und Dauer des Aufenthaltes in Deutschland bis zur Diagnose unter den nicht in Deutschland Geborenen wurde mittels Mann-Whitney-Test untersucht. Dabei fand sich kein signifikanter Unterschied in der medianen Dauer des Aufenthaltes in Deutschland zwischen im Ausland Geborenen mit und ohne Clusterzugehörigkeit ($p = 0,307$).

Tabelle 1: Risikofaktoren für Clusterzugehörigkeit, univariate logistische Regression, 2008 - 2016

Variable	Anzahl der Fälle insgesamt	Anzahl (%) der clusterzugehörigen Patienten	OR (95% KI)	p-Wert
Geschlecht	616	176		
Weiblich	235	48 (27,3)	Referenz	
Männlich	381	128 (72,7)	2,0 (1,3 - 2,9)	<0,01
Herkunft	616	176		
In Deutschland geboren	119	53 (30,1)	Referenz	
Im Ausland geboren	497	123 (69,9)	0,4 (0,3 - 0,6)	<0,01
Vorerkrankung	609	175		
Keine Vorerkrankung	552	158 (90,3)	Referenz	
Vorerkrankung	57	17 (9,7)	1,1 (0,6 - 1,9)	0,85
Ansteckungsfähigkeit	616	176		
Nicht ansteckend	159	30 (17,0)	Referenz	
Ansteckend	457	146 (83,0)	2,0 (1,3 - 3,1)	<0,01
Wohnverhältnisse	610	175		
Fester Wohnsitz	551	148 (84,6)	Referenz	

OfW oder JVA	59	27 (15,4)	2,3 (1,3 - 4,0)	<0,01
Resistenz	610	175		
Keine Resistenz	504	131 (74,9)	Referenz	
Jegliche Resistenz	106	44 (25,1)	2,0 (1,3 - 3,1)	<0,01
Multiresistenz	610	175		
Keine Multiresistenz	590	168 (96,0)	Referenz	
Multiresistenz	20	7 (4,0)	1,4 (0,5 - 3,4)	0,53
INH-Monoresistenz	609	174		
Keine INH-Monoresistenz	538	140 (80,5)	Referenz	
INH-Monoresistenz	71	34 (19,5)	2,6 (1,6 - 4,3)	< 0,01
Beijing	616	176		
Kein Beijing	567	160 (90,9)	Referenz	
Beijing	49	16 (9,1)	1,2 (0,7 - 2,3)	0,51
HIV	597	165		
HIV-negativ	548	145 (87,9)	Referenz	
HIV-positiv	49	20 (12,1)	1,9 (1,1 - 3,5)	0,03
iv-Drogen	602	171		
Kein iv-Drogenkonsum	561	145 (84,8)	Referenz	
iv-Drogenkonsum	41	26 (15,2)	5,0 (2,6 - 9,7)	< 0,01
Alkohol	599	169		
Kein Alkoholmissbrauch	512	133 (78,7)	Referenz	
Alkoholmissbrauch	87	36 (21,3)	2,0 (1,3 - 3,2)	< 0,01
Altersgruppe	616	176		
0 - 27,79 Jahre (1)	154	46 (26,1)	1,6 (1,0 - 2,7)	0,07
27,8 - 37,99 Jahre (2)	154	38 (21,6)	1,2 (0,7 - 2,1)	0,42
38 - 52,49 Jahre (3)	154	60 (34,1)	2,4 (1,5 - 4,0)	< 0,01
52,5 - 99 Jahre	154	32 (18,2)	Referenz	

Bei der anschließenden multivariaten logistischen Regression wurde durch eine Rückwärts-Selektion ein Modell erarbeitet, das Alter und Geschlecht als mögliche Confounder einschloss (**Tabelle 2**). Es zeigte sich hier, dass die Faktoren Obdachlosigkeit oder JVA-Aufenthalt, HIV-Infektion, Ansteckungsfähigkeit der Tuberkulose und Alkoholmissbrauch ihre signifikante Assoziation mit der Clusterzugehörigkeit verloren.

In dem adjustierten Modell hatten Patienten, die intravenöse Drogen konsumierten, gegenüber jenen ohne iv-Drogenkonsum ein 3,5-fach höheres Risiko, einem Cluster anzugehören. In Deutschland geborene Patienten wiesen gegenüber im Ausland Geborenen ein 2,6-fach höheres Clusterzugehörigkeitsrisiko auf. Männliche Patienten hatten ein mehr als doppelt so hohes Risiko, einem Cluster anzugehören, wie weibliche. Die Patienten im Altersquartil der über 52,5-jährigen hatten das geringste Risiko, einem Cluster anzugehören. Sie dienten bei der multivariaten Analyse als Vergleichsgruppe. Das Risiko für Clusterzugehörigkeit war um den Faktor 2,4 im ersten (0 - 27,8 Jahre) und dritten Altersquartil (38 - 52,5 Jahre) signifikant erhöht, nicht ganz signifikant ($p = 0,07$) um den Faktor 1,7 im zweiten Altersquartil (27,8 - 38,0 Jahre).

Auch eine INH-Monoresistenz zeigte ein 2,7-fach erhöhtes Risiko, einem Cluster anzugehören, wobei die Aussagekraft dieses Ergebnisses aufgrund der Eigenschaften einzelner Cluster später noch ausführlich diskutiert wird.

Tabelle 2: Risikofaktoren für Clusterzugehörigkeit im finalen Modell, multivariate logistische Regression, 2008 - 2016 (nicht signifikante Variablen: Wohnverhältnisse, HIV, Ansteckungsfähigkeit und Alkohol)

Variable	Angepasste OR (KI 95%)	p-Wert
Geschlecht		
Weiblich	Referenz	
Männlich	2,2 (1,4 - 3,3)	< 0,01
Alter		
0 - 27,79 Jahre (1)	2,4 (1,3 - 4,2)	< 0,01
27,8 - 37,99 Jahre (2)	1,7 (1,0 - 3,1)	0,07
38 - 52,49 Jahre (3)	2,4 (1,4 - 3,3)	< 0,01
52,5 - 99 Jahre	Referenz	
Herkunft		
In Deutschland geboren	Referenz	

Im Ausland geboren	0,39 (0,2 - 0,6)	< 0,01
INH-Monoresistenz		
Keine INH-Monoresistenz	Referenz	
INH-Monoresistenz	2,7 (1,6 - 4,7)	< 0,01
iv-Drogen		
Kein iv-Drogenkonsum	Referenz	
iv-Drogenkonsum	3,5 (1,7 - 7,1)	< 0,01

3.2 Deskriptive Clusteranalyse

Bei Betrachtung der Patientenstruktur und -anamnese der einzelnen Cluster konnte in 6 (9,8%) von 61 Clustern ein eindeutiger epidemiologischer Zusammenhang ermittelt werden. In Einzelfällen konnte ein solcher nur vermutet werden.

Das größte Cluster (Nr. 19) bestand aus 17 Mitgliedern und sein vollständig Antibiotika-sensibler Stamm gehörte zum Haarlem-Genotyp (in **Abbildung 12** gekennzeichnet). Der Großteil (76%) seiner Patienten war deutscher Herkunft (zusätzlich jeweils ein Patient aus der Türkei, Kasachstan, Marokko und Rumänien). Ein epidemiologischer Zusammenhang kann vermutet werden, da 2 Patienten angaben, sich flüchtig zu kennen und 3 in der Vergangenheit bereits einmal als Kontaktperson (KP) zu anderen Fällen registriert wurden.

Im zweitgrößten Cluster (Nr. 50) mit 13 Mitgliedern, S-Genotyp und INH-Monoresistenz konnten hingegen eindeutige epidemiologische Zusammenhänge festgestellt werden. Fünf (45,5%) seiner Mitglieder waren deutscher Herkunft, 4 (36,4%) polnischer und die übrigen beiden Patienten stammten aus Rumänien und Äthiopien. Eine Patientin steckte Lebenspartner und Kind sowie ein weiteres Kind in der Kindertagesstätte an. Diese drei Personen waren zuvor als KP ermittelt worden. Ein weiterer anamnestisch bestätigter Zusammenhang bestand zwischen 2 Patienten, welche sich ein Zimmer in einer Gemeinschaftsunterkunft für Obdachlose teilten. Auch hier wurde die zweite Person zuvor als KP ermittelt.

Innerhalb dieses Clusters (Nr. 50) bestand laut Anamnese bei den meisten Mitgliedern Kontakt zum Drogenmilieu: von 4 Mitgliedern (einschließlich dem zuerst erwähnten Fall s. o.) wurde die gleiche Drogeneinrichtung/-unterkunft besucht. Auch die besagte Gemeinschaftsunterkunft für Obdachlose wurde in den Anamnesen von 4 Mitgliedern genannt. Daher kann hier eine Infektionskette vermutet werden.

Ein anderes Cluster (Nr. 10), welches dem Delhi/CAS-Genotyp angehörte, ergab zwar keinen eindeutigen epidemiologischen Zusammenhang, aber seine 6 Mitglieder, davon 4 Minderjährige, stammten alle entweder aus Somalia, Äthiopien oder Eritrea und waren eigenen Angaben zufolge durch den Sudan und Libyen über Italien nach Deutschland gekommen, was einen Zusammenhang nahelegt.

Cluster Nr. 13, dem Beijing-Genotyp zugehörig, bestand aus 5 Mitgliedern und ergab keinen epidemiologischen Zusammenhang. Seine Mitglieder stammten aus Russland, Usbekistan, Indien, Serbien und Kasachstan und es zeigten sich verschiedenste Resistenzmuster: XDR, SM und INH, SM-Monoresistenz, keine Resistenz und eine Multiresistenz.

Ähnlich heterogen und ohne erkennbaren epidemiologischen Zusammenhang stellte sich Cluster Nr. 12 mit seinen ebenfalls dem Beijing-Genotyp angehörigen 5 Mitgliedern aus Nepal, Deutschland, Kroatien und Vietnam dar, von denen ein Mitglied eine INH- und ein weiteres eine SM-Monoresistenz aufwies.

Obwohl die Mitglieder von Cluster Nr. 34 (TUR-Stamm, 4 Mitglieder aus Äthiopien und eines aus Eritrea, darunter ein Fall von INH-Monoresistenz) und Cluster Nr. 8 (Delhi/CAS, jeweils 2 Mitglieder aus Pakistan und Indien, darunter ein Fall von MDR) jeweils aus ähnlichen Regionen und Kulturkreisen stammten, konnte kein epidemiologischer Zusammenhang festgestellt werden.

Cluster Nr. 40 (Genotyp undefiniert, ein Fall von SM-Monoresistenz) ergab keinen Zusammenhang – seine 4 Mitglieder kamen aus Pakistan, Algerien, USA und der Türkei. Einen besseren Überblick über die Cluster mit 3 bzw. 2 Mitgliedern bieten die **Tabellen 3 und 4**.

Innerhalb von zwei der 11 Cluster mit 3 Mitgliedern bestand ein epidemiologischer Zusammenhang, welcher durch die vorherige Ermittlung der Kontaktpersonen gefestigt wurde. Hierbei entstand ein Kontakt innerhalb der Familie und einer aufgrund einer gemeinsam genutzten Wohnung. Innerhalb eines weiteren 3er-Clusters gaben zwei Mitglieder den gleichen Arbeitgeber an, weshalb hier eine Ansteckung im beruflichen Umfeld vermutet werden konnte.

Drei der 42 Cluster mit nur 2 Mitgliedern ergaben eine eindeutig nachvollziehbare Ansteckung im familiären Umfeld, wobei sich in 2 Fällen auch Kontaktpersonen zu Folgefällen entwickelt haben.

Tabelle 3: Cluster mit 3 Clustermitgliedern, 2008 - 2016

Cluster-name	Genotyp	Geburtsland	Epidemiologischer Zusammenhang?	Anmerkung
6	Delhi/CAS	Italien, Eritrea, Eritrea		
18	Haarlem	D, Polen, Polen		
22	Haarlem	D, D, Eritrea	vermutlich	Alkoholmissbrauch und OfW
26	X	D, D, Polen	Ja	Eine KP (gemeinsame Wohnung)
32	TUR	Äthiopien, Äthiopien, Marokko		1x SM- und INH-Resistenz
39	H37Rv-like	D, Afghanistan, Kroatien		
43	Undefined	D, Rumänien, Griechenland	vermutlich	2x gleicher Arbeitgeber
51	S	D, Myanmar, Eritrea	Ja	Eine KP (Familie)
63	Undefined	D, Polen, Äthiopien		
66	S	D, Türkei, China		
20b	Haarlem	D, D, Slowenien		

Tabelle 4: Cluster mit 2 Clustermitgliedern, 2008 - 2016

Cluster-name	Genotyp	Herkunft	Epidemiologischer Zusammenhang?	Resistenz	Anmerkung
1	Haarlem	D	vermutlich	INH	gleiche Drogeneinrichtung
2	EAI	D, Thailand		PZA	
3	Delhi/CAS	Eritrea, Somalia			
4	Delhi/CAS	Indien			
5	Delhi/CAS	D, Pakistan			
7	Delhi/CAS	Eritrea			
9	Delhi/CAS	D, Pakistan			
14	Beijing	Afghanistan		1x SM	
15	Beijing	Myanmar			
16	Haarlem	D, Bosnien-Herzegowina		1x INH	
17	Haarlem	D			
21	Haarlem	D, Rumänien			
23	Haarlem	D, Portugal			
24	Haarlem	D			
25	X	D	Ja		KP (Familie)
27	X	Eritrea, Rumänien			

28	X	D, Bosnien- Herzegowina			
29	Haarlem	D, Zentralafrik. Republik			
30	Haarlem	Somalia			
31	Ghana	Ghana		SM, INH	
33	Undefined	Türkei, Äthiopien		1x MDR	
35	URAL	Indien, Polen			
36	URAL	Kroatien, Bosnien- Herzegowina			
37	URAL	D, Armenien			
41	Undefined	Griechenland, Pakistan		1x MDR	
44	Undefined	Griechenland, Marokko			
45	H37Rv- like	D, Polen			
46	H37Rv- like	Marokko			
47	H37Rv- like	Rumänien, Eritrea			
48	NEW-1	Afghanistan, Indien			
49	NEW-1	D, Pakistan	Ja		KP (Familie)
52	LAM	Portugal		1x SM	
53	S	D, Griechenland		INH	
54	Beijing	Russland, Ukraine		1x XDR; 1x MDR	
55	Uganda	Bulgarien	Ja	MDR	Familie
56	Delhi/CAS	Eritrea		1x SM	
57	West African1	Ghana		1x SM	
58	Delhi/CAS	D, Eritrea		1x RMP; 1x SM, INH	
59	Delhi/CAS	Eritrea			
62	X	D, Rumänien			
65	NEW-1	Afghanistan, Iran			
68	Undefined	Türkei, Algerien			

4 Diskussion

In dieser Arbeit wird die Epidemiologie der Tuberkulose in Frankfurt am Main im Zeitraum vom 01.01.2008 bis 31.12.2016 beschrieben und anhand ihrer molekularbiologischen Aspekte untersucht. Die Genotypen und Cluster wurden dabei durch Mitarbeiter des NRZ Borstel bestimmt. Die dafür benötigten Kulturen wurden in den Primärlaboren angezüchtet und an das NRZ Borstel gesandt. Durch die Verfasserin dieser Arbeit wurden Risikofaktoren für Clusterzugehörigkeit identifiziert und einzelne molekulare Cluster beschrieben. Aus Städten anderer Niedriginzidenzländer lagen hierzu bereits Studien vor (41, 42, 54), aus deutschen Großstädten jedoch nicht.

Der Anteil clusterzugehöriger Patienten befand sich mit 28,6% in der Größenordnung anderer Niedriginzidenzländer, es dominierten kleine Infektionsketten von zwei bis drei Patienten. Risikofaktoren für Clusterzugehörigkeit waren männliches Geschlecht, Geburt in Deutschland und intravenöser Drogenkonsum. Migranten hatten ein deutlich geringeres Risiko, Teil einer Infektionskette zu sein, und lebten zum Zeitpunkt ihrer Diagnose bereits viele Jahre in Deutschland, wenn sie einem gemischten Cluster angehörten. Eine Übertragung von im Ausland geborenen TB-Patienten auf die einheimische Bevölkerung in Frankfurt am Main findet nicht in erhöhtem Ausmaß statt.

4.1 Diskussion der Epidemiologie

In 76% aller 977 im Studienzeitraum als Ersterkrankung erfassten TB-Fälle lag ein kultureller Erregernachweis vor. Verglichen mit Arbeiten der vergangenen Jahre aus London (57% von n = 10147), British Columbia (79,5% von n = 2915) und Baden-Württemberg (57,8% von n = 1291), wurde hier ein hoher Anteil erreicht (41, 43, 54). Fälle von extrapulmonaler TB (25,7%) machten den Großteil der fehlenden Kulturen aus, da die Fixierung von Gewebeproben, beispielsweise Knochen, Lymphknoten oder Pleura, häufig keine Kulturanzüchtung zulässt (z. B. aufgrund der Einbettung in Formalin). Gründe für eine fehlende Kultur sind jedoch auch das Ausbleiben des Wachstums, insbesondere bei Kindern aufgrund ihrer üblicherweise niedrigen Bakterienlast, sowie das vorzeitige Entsorgen im Labor.

Unter den kulturell positiven Fällen konnte für 83% mittels MIRU-VNTR und Spoligotypisierung ein Genotyp bestimmt werden. Der Anteil clusterzugehöriger Fälle, im Folgenden als Clusteranteil bezeichnet, von 28,6% befindet sich in der Größenordnung anderer Ergebnisse aus Niedriginzidenzländern. In einer Schweizer Studie ergab sich so über einen ebenfalls neunjährigen Zeitraum ein Clusteranteil von 17%, während man in London und Brüssel auf 46% beziehungsweise 35,3% kam (41, 42, 55).

Besonders die Inzidenz im Heimatland beeinflusst das individuelle Risiko, im Verlauf des Lebens an Tuberkulose zu erkranken (56). In Deutschland geborene TB-Patienten machten in Frankfurt am Main zwischen 2008 und 2016 nur 19% aller TB-Fälle aus, wobei der Trend hin zu einem zunehmenden Anteil von im Ausland geborenen Patienten geht. 2017 lag dieser in Frankfurt am Main bereits bei 89% und befindet sich über dem Bundesdurchschnitt (29).

Die höchste über den Studienzeitraum gemittelte Inzidenz von 15,5 pro 100.000 wies die Altersgruppe der 20- bis 29-Jährigen auf. An zweiter Stelle (13 pro 100.000) befanden sich die 30- bis 39-Jährigen. Es ist davon auszugehen, dass die zunehmende Migration der vergangenen Jahre, insbesondere die Einwanderung durch junge Männer aus Hochinzidenzländern wie Eritrea, Äthiopien und Afghanistan, dafür ursächlich ist (23). Speziell unter afrikanischen Flüchtlingen spielen mangelhafte medizinische Versorgung und enge Kontakte unter widrigen Bedingungen und engsten Wohnverhältnissen während der Flucht vermutlich eine große Rolle bei der Übertragung von TB (57, 58).

Den mit Abstand häufigsten (85%) Anlass zur Diagnose stellten tuberkuloseverdächtige Symptome dar. Ein kleinerer Anteil (7%) der Erkrankungen kam als Zufallsbefund bei medizinischen Untersuchungen wegen anderweitiger Beschwerden ans Licht. IGRAs oder Röntgenaufnahmen bei Aufnahme in eine Gemeinschaftsunterkunft spielten eine eher untergeordnete Rolle (4%). Dies weist auf die große Bedeutung hin, die medizinischem Personal, insbesondere Haus- und Krankenhausärzten, in der TB-Fürsorge zukommt. Hierbei ist die Kenntnis TB-verdächtiger Symptome und epidemiologischer Risikofaktoren unabdingbar, um eine Erkrankung und das

potenzielle, von Patienten ausgehende Infektionsrisiko für das enge soziale Umfeld nicht zu übersehen.

Euro-American Lineage, die in Westeuropa dominierende Stammesfamilie, der auch die Genotypen Haarlem, S, LAM, X und H37Rv-like zugeordnet werden können, machte in Frankfurt am Main erwartungsgemäß den größten Anteil (52,4%, n = 616) der Fälle aus (59). Jeder fünfte Stamm wies allein den Haarlem-Genotyp (20,6%, n = 616) auf.

Der ebenfalls nicht zu vernachlässigende Anteil an Delhi/CAS (17,5%) und Beijing (7,9%) weist auf die Bedeutung von Migration, insbesondere aus Osteuropa und Asien, für das Vorkommen von TB in Frankfurt am Main hin. In diesen Regionen treten Delhi/CAS und Beijing nämlich endemisch auf (59).

Bei der Verbreitung von Resistenzen spielen Patienten aus Russland und angrenzenden europäischen und asiatischen Ländern eine Rolle, da Resistenzen dort gehäuft auftreten, zunehmend in Form von Multiresistenzen (3). Mindestens eine Resistenz fand sich bei 51% aller Beijing-Fälle (n = 49). Im Vergleich dazu waren Resistenzen bei den Genotypen Delhi/CAS mit 11,1% (n = 108) und Haarlem mit 8,0% (n = 125) deutlich seltener. Der Beijing-Genotyp war in einer Studie mit Patienten aus Usbekistan und Turkmenistan mit Resistenzen assoziiert (60), wohingegen in einer chinesischen Arbeit aus der Provinz Xinjiang TB-Stämme der Beijing-Linie keine vermehrten Resistenzen aufwiesen (61).

Unter den im Ausland geborenen Patienten zeigte sich über den gesamten Studienzeitraum, dass etwa die Hälfte aller Fälle (49,3%, n = 485) innerhalb der ersten 5 Jahre nach der Einreise nach Deutschland gemeldet wurde. Im ersten Aufenthaltsjahr gingen verglichen mit den darauffolgenden 4 Jahren besonders viele Meldungen ein. Diese im ersten Aufenthaltsjahr diagnostizierten Fälle machten jedoch nur 17,1% aller im Ausland geborenen Patienten (n = 485) aus. Es ist davon auszugehen, dass Migranten, bei denen Tuberkulose innerhalb ihres ersten Aufenthaltsjahres in Deutschland diagnostiziert wird, zum Zeitpunkt der Einreise bereits latent infiziert oder aktiv erkrankt waren.

Innerhalb der ersten Jahre nach ihrer Einreise in ein Niedriginzidenzland weisen Migranten aus Hochinzidenzländern allgemein ein erhöhtes Erkrankungsrisiko auf (56).

Möglicherweise spielt hierbei der oft jahrelang bestehende psychologische und physiologische Stress eine Rolle, dem Menschen im Zusammenhang mit Flucht und Migration ausgesetzt sein können (56). Unter Stress ist von einer veränderten Immunabwehr auszugehen (62), sodass bei bestehender latenter TB-Infektion (LTBI) möglicherweise eine Reaktivierung begünstigt wird.

Arbeiten aus Dänemark und Norwegen beschrieben für Migranten, insbesondere jene aus Hochinzidenzländern wie Somalia, ein noch viele Jahre nach der Einreise erhöhtes Erkrankungsrisiko (56, 63). Auch in Frankfurt am Main hatte eine sehr große Gruppe von im Ausland geborenen Patienten (39,6% von n = 485) zum Zeitpunkt der Diagnose bereits seit über 10 Jahren in Deutschland gelebt. Hier spielen neben importierten latenten TB-Infektionen auch spätere, schwer erfassbare unregelmäßige Risikokontakte eine Rolle: Urlaube im Heimatland, Feierlichkeiten auf engem Raum mit und der Empfang von im Heimatland lebenden Personen sind hier als Beispiele zu nennen.

Um die TB-Inzidenz bei Migranten langfristig zu senken, müssen Fälle von aktiver TB früh erkannt sowie die Progression von latenter TB-Infektion zu aktiver TB verhindert werden. Ein Werkzeug ist dabei das Screening bei der Einreise von Asylsuchenden, welches aktive Erkrankungen erfassen soll.

In Deutschland erfolgt im Rahmen des TB-Screenings bei Asylsuchenden nach § 36 IfSG eine Röntgenaufnahme des Thorax. Bei Kindern wird ein IGRA bzw. THT empfohlen, da sie ein erhöhtes Erkrankungsrisiko aufweisen und bei latenter Infektion eine Chemoprävention indiziert ist (22). Die weitere Ausgestaltung des TB-Screenings von Asylsuchenden ist bundeslandabhängig. Durch das Screening werden lediglich zum Einreisezeitpunkt bestehende aktive Erkrankungen erfasst. Da es jedoch, wie auch diese Arbeit zeigte, häufig erst in den Folgejahren zu einer Erkrankung kommt, stellt sich die Frage nach einer Erweiterung des bestehenden Screenings. In den Niederlanden werden Migranten aus Hochinzidenzländern beispielsweise zusätzlich zu einem bei der Einreise verpflichtenden TB-Screening innerhalb der ersten 2 Aufenthaltsjahre freiwillige halbjährliche Follow-Up-Untersuchungen angeboten (64). Diese Follow-Up-Untersuchungen erweisen sich jedoch zunehmend als kostenineffizient (64).

Neben der Erfassung von aktiven Erkrankungen kann in Niedriginzidenzländern insbesondere die Vermeidung einer Progression der LTBI hin zur aktiven Erkrankung zur

Senkung der Inzidenz beitragen. Die Inzidenz der LTBI in Deutschland ist jedoch unbekannt, da keine Meldepflicht besteht (23). Bei latent infizierten Personen kann eine Chemoprävention eine Reaktivierung verhindern, wobei hier die Chancen und Risiken durch potenzielle Nebenwirkungen der präventiven Therapie gegeneinander abgewogen werden müssen (5, 56, 63, 65). Bei positivem IGRA- oder THT-Ergebnis wird für immunsupprimierte Personen (z. B. bei HIV oder Lymphomen), solche mit geplanter immunsuppressiver Therapie (z. B. TNF- α -Blockade), iv-Drogenabhängige und Personen, insbesondere Kinder, deren Infektion vermutlich wenige Monate zuvor stattfand, eine Chemoprävention empfohlen (5). Bei diesen Personengruppen sollte in Deutschland daher eine Untersuchung auf LTBI mittels IGRA oder THT erfolgen (5). Auch bei latent infizierten Migranten aus Hochinzidenzländern soll eine Chemoprävention erwogen werden (5). Dennoch existieren in Deutschland bisher keine Leitlinien für ein Screening dieser Personengruppe.

Von der WHO im Rahmen der „End TB Strategy“ empfohlen (3), stellt die flächendeckende Umsetzung und Evaluation von LTBI-Screenings und Chemoprävention bei latent Infizierten das Gesundheitssystem vor Herausforderungen, die eine niederländische Arbeit 2017 zusammenfasste: darunter fallen eingeschränkte finanzielle Ressourcen, die Verfügbarkeit von Tests (IGRAs oder THT) und Medikamenten zur Chemoprävention, die Datenerhebung und Evaluation der Ergebnisse, die grundlegende Kenntnis des Konzepts der LTBI bei Betroffenen und die Compliance während der mehrmonatigen Chemoprävention (65).

Die Evidenz eines LTBI-Screenings bei Migranten aus Hochinzidenzländern wurde bereits in mehreren europäischen Ländern untersucht (66, 67). Entscheidende Kriterien der Personengruppen, für die ein solches Screening in Frage kommt, sind die Inzidenz im Heimatland und das Alter (66). Im Rahmen des Forschungsprojekts „E-DETECT TB“ werden in Großbritannien, Italien, Schweden und der Niederlande derzeit weitere Studien zum LTBI-Screening, unter anderem zur Kosteneffizienz, durchgeführt, um eine Grundlage für europäische Leitlinien zu schaffen (65, 68).

Nur 5% bis 10% der weltweit geschätzt 1,7 Milliarden latent infizierten Personen erkranken im Laufe ihres Lebens an Tuberkulose (3). Auftreten und Zeitpunkt einer Reaktivierung können sehr schwer vorhergesagt werden. Die Möglichkeit, das Auftreten einer Reaktivierung bei latent Infizierten zuverlässig vorherzusagen, würde einen

Durchbruch in der TB-Forschung darstellen und die Indikationsstellung für Screening und Chemoprävention deutlich erleichtern. Eine im Jahr 2016 publizierte Arbeit legte hierfür womöglich den Grundstein: sie identifizierte einen RNA-Marker, der mit einer Sensitivität von 66,1% und einer Spezifität von 80,6% innerhalb der 12 Monate vor der Diagnose einer TB die Erkrankung bei latent infizierten Jugendlichen und Erwachsenen aus Gambia und Südafrika vorhersagen konnte (69).

4.2 Clusterdiskussion

4.2.1 Zugehörigkeit zu einem Cluster

Etwa die Hälfte (50,8%) der in Frankfurt am Main identifizierten möglichen Infektionsketten (n = 61 Cluster) umfasste ausschließlich im Ausland geborene Patienten. Ein weiterer Großteil (42,6%) der möglichen Infektionsketten bestand sowohl aus im Ausland geborenen als auch in Deutschland geborenen Patienten (gemischte Cluster). Nur in wenigen Fällen (6,6%) stammten alle Patienten eines Clusters bzw. einer möglichen Infektionskette aus Deutschland. Eine nahezu identische Verteilung von in- oder ausländischer Herkunft und Clusterzugehörigkeit wurde 2017 in einer ähnlichen Studie aus Belgien nachgewiesen (42).

Ob ein Patient einem Cluster angehörte oder ob er einen einzigartigen DNA-Fingerabdruck aufwies, hing in Frankfurt am Main nicht mit der Latenz zwischen Einreise und Diagnose zusammen. Andere Studien beschrieben bereits den Trend, dass eine längere Latenz zwischen Einreise und Diagnose zu einer erhöhten Wahrscheinlichkeit führe, einem gemischten Cluster anzugehören (41). Diese Arbeit kam ebenfalls zu dem Ergebnis, dass eingewanderte Patienten in gemischten Clustern zum Diagnosezeitpunkt im Median bereits 10 Jahre in Deutschland gelebt hatten, und damit deutlich länger als Patienten in Clustern, die ausschließlich aus im Ausland geborenen Patienten bestanden (im Median 4,9 Jahre; $p = 0,034$). Einfluss auf diesen Zusammenhang hat das Maß an Integration (43). Es ist plausibel, dass beispielsweise ein seit 20 Jahren in Deutschland lebender TB-Patient, dessen soziales Umfeld sowohl aus eingewanderten als auch aus in Deutschland geborenen Personen besteht, mit höherer Wahrscheinlichkeit einem gemischten Cluster angehört, als ein vor 2 Jahren eingewanderter TB-Patient, der ausschließlich Kontakt zu Landsleuten pflegt. Dass gebürtige Europäer unter den im Ausland geborenen Mitgliedern gemischter Cluster in Frankfurt am Main den größten Anteil (55,8%; n = 43) ausmachten, spiegelt diesen Zusammenhang wider: insbesondere Migranten aus Polen sind in Deutschland tendenziell gut in die Gesellschaft integriert und bildeten dementsprechend die größte Gruppe (20,9%; n = 43) unter den im Ausland geborenen Mitgliedern gemischter Cluster.

Nimmt man stark vereinfacht an, dass es durch den zuerst diagnostizierten Patienten eines Clusters zu einer Übertragung und somit Infektionskette kam, so lässt sich die

Übertragung von erkrankten Migranten auf Einheimische und umgekehrt untersuchen. Arbeiten aus anderen europäischen Ländern kamen zu dem Ergebnis, dass von Migranten aus Hochinzidenzländern keine signifikante Übertragung auf Einheimische in Niedriginzidenzländern stattfindet und somit Ängste in der einheimischen Bevölkerung vor einem erhöhten Ansteckungsrisiko nicht gerechtfertigt sind (42–45). In Frankfurt am Main war der jeweils zuerst diagnostizierte Fall von TB innerhalb der gemischten Cluster (n = 26) in 42,3% bei Patienten deutscher und in 57,7% bei Patienten ausländischer Herkunft zu verzeichnen. Eine Übertragung zwischen im Ausland geborenen Patienten und Einheimischen findet also in beide Richtungen statt. Es ist jedoch zu betonen, dass im Ausland geborene Patienten im Verhältnis zu deutschen TB-Patienten seltener Clustern bzw. möglichen lokalen Infektionsketten zugeordnet werden konnten und der Faktor Migration hier protektiv wirkt. Die in Deutschland geborenen Clustermitglieder gehörten außerdem tendenziell Milieus an, die von Obdachlosigkeit und Substanzabhängigkeit geprägt sind, was nur einen kleinen Teil der Bevölkerung direkt betrifft. Darunter waren 85% männlichen Geschlechts. Genaue Zahlen zu Obdachlosigkeit und Drogenabhängigkeit in Frankfurt am Main sind zwar nicht bekannt, allerdings wurden im Jahr 2017 von 4649 Personen, davon 85% männlichen Geschlechts, Drogenkonsumräume genutzt (70). Waren in Frankfurt am Main im Ausland geborene Patienten Mitglieder gemischter Cluster, so stammten sie häufiger aus Osteuropa als aus den Krisenländern Afrikas und Asiens. Ängste vor einem erhöhten Übertragungsmaß von Migranten aus diesen Ländern auf die in Deutschland geborene Bevölkerung in Frankfurt am Main sind insofern nicht angebracht.

Die univariate Regressionsanalyse ermittelte Risikofaktoren für die Zugehörigkeit zu einem Cluster. In Deutschland geboren zu sein und ein höheres Risiko aufzuweisen, einem Frankfurter Cluster anzugehören, sich also vermutlich auf lokaler Ebene infiziert und womöglich noch weitere Personen angesteckt zu haben, als im Ausland geboren zu sein und damit tendenziell im Heimatland, insbesondere bei Herkunft aus einem Hochinzidenzland, infiziert worden zu sein, erscheint nachvollziehbar. In Deutschland geborene Patienten, die einem Cluster angehörten, wiesen häufiger Risikofaktoren auf, die zu einer längeren Periode der Ansteckungsfähigkeit führen können, ein Aspekt, der weiter unten erläutert wird. Die Geburt in Deutschland und auch das männliche

Geschlecht als Risikofaktoren für Clusterzugehörigkeit decken sich mit den Ergebnissen anderer Arbeiten aus Niedriginzidenzländern (42, 71).

Einfluss auf die weltweit offenbar erhöhte Empfänglichkeit für TB bei Männern haben vermutlich soziale Faktoren und eine häufiger vorliegende Substanzabhängigkeit, aber auch geschlechtsspezifische immunologische Eigenschaften (72). Der Ursache ihres erhöhten Risikos für Clusterzugehörigkeit in dieser Arbeit kann man sich über ihre Ansteckungsfähigkeit nähern: zum einen wiesen sie ein nahezu doppelt so hohes Risiko auf, ansteckend zu sein, wie Frauen (OR = 1,9; 95% KI [1,3; 2,7]). Die logistische Regression mit potenziell verfälschenden Einflussfaktoren wie Alkoholabusus, iv-Drogenkonsum und Geburt im Ausland zeigte, dass männliches Geschlecht der entscheidendste Risikofaktor ($p = 0,006$) für eine ansteckende TB-Form war. Möglicherweise warteten Männer bei gesundheitlichen Beschwerden länger, bis sie medizinische Hilfe aufsuchten und steckten in diesem Zeitraum mehr Personen an. Wissenschaftlich konnte diese Vermutung jedoch weder bestätigt noch widerlegt werden, da zu Patienten, welche typische Symptome aufwiesen, keine Information über den Zeitpunkt des primären Aufsuchens medizinischer Hilfe vorlag.

Die Übertragung der Tuberkulose geht im Normalfall von an ansteckender Lungen-TB erkrankten Patienten aus. Dass eine ansteckende Form der TB also mit Clusterzugehörigkeit in Frankfurt am Main assoziiert ist, ist logisch nachvollziehbar und traf anderenorts ebenfalls zu (71).

Intravenöser Drogenkonsum, Alkoholabhängigkeit, prekäre Wohnverhältnisse und eine HIV-Erkrankung liegen selten vollkommen isoliert voneinander vor. Gerade Frankfurt am Main ist für entsprechende Milieus bekannt. Insbesondere in sozialen Kreisen, die durch Obdachlosigkeit und Substanzabhängigkeit geprägt sind, bestehen häufig enge Kontakte zwischen gefährdeten Personen. Gemeinschaftsunterkünfte, ein unterdurchschnittliches medizinisches Hilfesuchverhalten der Betroffenen und ein entsprechender Gesundheitszustand erklären die Gefahr einer Übertragung von TB. In dieser Arbeit wurden Obdachlosigkeit und JVA-Aufenthalt als „prekäre Wohnverhältnisse“ zusammengefasst. Der zumeist in beiden Wohnverhältnissen bestehende enge räumliche Kontakt begründete diese Entscheidung. Es konnte folglich nicht zwischen dem eigenständigen Einfluss beider Faktoren unterschieden werden.

Sowohl das Vorliegen jeglicher Resistenzen als auch das Vorliegen einer INH-Monoresistenz waren in der univariaten Analyse mit Clusterzugehörigkeit assoziiert. Hierbei gilt zu beachten, dass es ein großes Cluster (Nr. 50 mit 13 Mitgliedern) mit einer INH-Monoresistenz gab. Dieses prägt die Bedeutung der Variable INH-Monoresistenz für Clusterzugehörigkeit in dieser Arbeit. Dass TB-Patienten aufgrund einer vorliegenden Resistenz jeglicher Natur ein erhöhtes Risiko für Clusterzugehörigkeit aufweisen als jene ohne Resistenz, kann daher ebenfalls nicht bestätigt werden. Jegliche Resistenz als unabhängiger Risikofaktor wurde jedoch spätestens durch die multivariate Analyse ausgeschlossen.

Eine TB-Vorerkrankung oder die Zugehörigkeit zum Beijing-Genotyp zeigten keine Assoziation mit Clusterzugehörigkeit. In einer groß angelegten Studie aus Großbritannien erwies sich eine TB-Vorerkrankung jedoch sogar als unabhängiger Risikofaktor für Clusterzugehörigkeit. Möglicherweise gab die Größe der Studienpopulation dabei den Ausschlag für die Signifikanz einer TB-Vorerkrankung für die Clusterzugehörigkeit. Die Zugehörigkeit zum Beijing- oder Delhi/CAS-Genotyp waren dort ebenfalls mit Clusterzugehörigkeit assoziiert, ihre eigenständige Bedeutung ging jedoch in der multivariaten Analyse verloren (71).

Erwartungsgemäß hingen multiresistente TB-Erkrankungen ebenfalls nicht mit einem erhöhten Clusterrisiko zusammen. Ein solcher Zusammenhang ist eher in Ländern mit unzureichenden diagnostischen und therapeutischen Möglichkeiten zu erwarten. Die Qualität der TB-Fürsorge auf lokaler Ebene spielt unumstritten die wichtigste Rolle. Bisher fanden sich nur wenige Hinweise auf eine gegenüber vollsensiblen Stämmen erhöhte Übertragungsrate von MDR-TB (73). In Großbritannien bestand zuletzt ebenfalls kein Zusammenhang zwischen MDR-TB und Clusterzugehörigkeit (71).

Trotz der spärlichen Hinweise auf ein erhöhtes Übertragungsrisiko von Multiresistenzen sei an dieser Stelle jedoch weiterhin auf die Bedeutung einer frühzeitigen Diagnose und Resistenzbestimmung sowie auf eine adäquate, sorgfältig koordinierte Therapie von Patienten mit MDR-TB hingewiesen. In Frankfurt am Main stammen die Patienten mit Multiresistenzen meist aus Osteuropa, insbesondere aus Bulgarien, der Ukraine und Russland. Werden bei Patienten aus diesen Ländern säurefeste Stäbchen nachgewiesen, so ist unverzüglich eine PCR mit Resistenzprüfung gegen INH und RMP anzufordern, um schnell eine gezielte Therapie einzuleiten. Eine im Januar 2018 publizierte Arbeit

identifizierte eine resistenzspezifische Mutation, durch deren Untersuchung gängige PCR-basierte Methoden zur Resistenzprüfung ergänzt werden könnten, insbesondere bei Flüchtlingen aus ostafrikanischen Ländern (58).

Aufgrund der häufigen Korrelation einiger Faktoren, die mit Clusterzugehörigkeit assoziiert waren, zum Beispiel Obdachlosigkeit, iv-Drogenkonsum und Alkoholabhängigkeit, welche den jeweils individuellen Einfluss auf das Risiko, einem Cluster anzugehören, gegenseitig verschleiern, wurden alle ermittelten Variablen mit einem p-Wert von $p \leq 0,2$ in die multivariate logistische Regressionsanalyse übernommen. Hierbei sollte ihre statistische Relevanz unter Berücksichtigung der Kofaktoren errechnet werden, um herauszufinden, welche Variablen tatsächlich ein "hartes" Risiko für Patienten darstellen, einem Cluster anzugehören. Ein Eliminationsprozess des Modells schloss schrittweise jeweils die Variable mit fehlender bzw. der geringsten Signifikanz mit einem p-Wert von $p > 0,05$ aus. Hierbei verloren zunächst prekäre Wohnverhältnisse ihre Bedeutung, gefolgt von einer vorliegenden HIV-Infektion. Eine ansteckende Form der Tuberkulose wurde anschließend als unabhängiger Einflussfaktor ausgeschlossen. Dass in der Londoner Studie hingegen eine ansteckende Form dennoch als unabhängiger Risikofaktor identifiziert wurde, erklärt sich durch die deutlich größere Patientenzahl (41).

Die letzte Variable, welche zunächst mit Clusterzugehörigkeit assoziiert war und schließlich im multivariaten logistischen Modell ihre Bedeutung verlor, war die Alkoholabhängigkeit. Sie war mit einem Quotenverhältnis von $OR = 1,36$ (95% KI [1,21; 1,53]) bei Männern häufiger vorhanden als bei Frauen.

Nach der Elimination aller genannten Variablen ergaben sich als unabhängige Risikofaktoren für Clusterzugehörigkeit männliches Geschlecht, Geburt in Deutschland, intravenöser Drogenkonsum und INH-Monoresistenz. Letztere ist jedoch nicht als Risikofaktor zu verstehen, da ihre Wertigkeit in dieser Arbeit stark unter dem Einfluss eines großen Clusters mit INH-Monoresistenz (Nr. 50) stand. Schloss man jenes Cluster von der Analyse aus, verlor diese Variable unmittelbar ihre Assoziation zur Clusterzugehörigkeit. Die übrigen drei Risikofaktoren - männliches Geschlecht, Geburt in Deutschland und intravenöser Drogenkonsum - wurden auch in Großbritannien als solche festgestellt (entsprechend jedoch Geburt in Großbritannien). Dort ergaben sich

bei ähnlichem Studiendesign, aber einer deutlich größeren Patientenzahl, zusätzlich die unabhängigen Risikofaktoren Lungen-TB, TB-Vorerkrankung und Gefängnisaufenthalt in der Vorgeschichte (71).

Eine TB-Vorerkrankung ist in Frankfurt am Main zwar mit Clusterzugehörigkeit assoziiert (OR = 1,1), jedoch nicht signifikant. Auch hier dürften sich die im Vergleich zu der Londoner Studie (24) kleineren Zahlen auswirken.

Intravenöser Drogenkonsum stellt einen bedeutsamen Risikofaktor für Clusterzugehörigkeit dar. Es ist anzunehmen, dass dies auch auf weitere Niedriginzidenzländer zutrifft. Menschen mit Abhängigkeitserkrankungen leben häufig unter hygienisch und finanziell widrigen Umständen, haben enge Kontakte zu gleichfalls gefährdeten Personen und befinden sich am Rande der Gesellschaft. Sie nehmen bei körperlichen Symptomen seltener medizinische Hilfe in Anspruch, weisen eine schwache Therapietreue auf und sind nicht selten fehl- oder unterernährt. In den meisten sozialen Situationen erfahren sie eine Stigmatisierung und Abweisung. Der gesundheitliche Zustand ist dementsprechend oft unterdurchschnittlich und auf die besondere Aufmerksamkeit von Sozial- oder sonstigen Mitarbeitern, oftmals aus Drogeneinrichtungen, angewiesen, welche jedoch selten über eine medizinische Ausbildung verfügen. Aufenthaltsorte der Betroffenen können unter Umständen nur schwer zu ermitteln sein. All diese Faktoren verlängern unter Umständen die Dauer der Ansteckungsfähigkeit. Auch die Ermittlung von Kontaktpersonen gestaltet sich oftmals schwierig, wenn Namen unbekannt sind oder aufgrund von Ängsten und Misstrauen gegenüber Behörden bewusst verschwiegen werden. Dieser Umstand führt dazu, dass Folgefälle unerkannt bleiben und somit Infektionsketten nicht unterbrochen werden. Niedrigschwellige Beratungsangeboten und aufsuchender Sozialarbeit mit dem Ziel eines Vertrauensverhältnisses zu gesundheitlichen Institutionen der Regelversorgung sowie dem Gesundheitsamt kommt in der TB-Fürsorge hier eine außerordentliche Bedeutung zu, sei es bei der Ermittlung von Kontaktpersonen, der Sicherstellung der Therapie oder der Nachsorge. Besonders sei an dieser Stelle die Zusammenarbeit zwischen Gesundheitsamt und drogenspezifischen Beratungszentren, Unterkünften und Drogenkonsumräumen betont.

Die durchschnittliche Größe der Cluster - fast 3 Patienten pro Cluster - entsprach ungefähr jener in London von 4 Patienten (41). Vor dem Hintergrund, dass zeitliche und örtliche Begrenzung der Arbeit einen unbestimmten Einfluss auf Clusteranteil und -größe ausgeübt haben, ist dies im Vergleich ein kohärentes Ergebnis. Dass mehr als zwei Drittel (68,9%) aller Cluster aus lediglich 2 Fällen bestanden, ist zunächst auf ein effizientes und sorgfältiges Management von TB-Fällen in Frankfurt am Main zurückzuführen. Es legt aber auch die Vermutung nahe, dass es sich - außer in epidemiologisch bestätigten Fällen – häufig eher um importierte, im Heimatland endemisch vorkommende Stämme handelt, nicht um eine Übertragung in Frankfurt am Main. Beispiel hierfür ist das 4 Mitglieder zählende Delhi/CAS-Cluster Nr. 8, bestehend aus 2 in Pakistan geborenen und 2 aus Indien stammenden Patienten, welches keinen epidemiologischen Zusammenhang aufweist. Allerdings ist ein solcher in vielen Fällen aus Datenschutzgründen auch nicht zu erfragen.

Die Limitierungen dieser Arbeit werden später ausführlich beleuchtet. Dennoch sei bereits an dieser Stelle erwähnt, dass die Rate der rezenten Übertragung von 18,7% nur eingeschränkt aussagekräftig erscheint. Im Vergleich dazu betrug die Übertragungsrate in ähnlichen Arbeiten aus London und British Columbia zuletzt etwa 34% (41, 54). Ältere Zahlen aus Großstädten der USA schwankten noch zwischen 20 und 50%, wobei jedoch mit Restriktionsfragment-Längenpolymorphismus typisiert wurde, nicht mit MIRU-VNTR (74–77).

4.2.2 Diskussion ausgewählter Cluster

Bei individueller Betrachtung fanden sich unter den 61 Clustern nur bei 6 (9,8%) Clustern auch eindeutige epidemiologische Zusammenhänge, die mit Sicherheit auf eine lokale Übertragung schließen lassen. Fünf dieser Cluster, welche aus nur je 2 oder 3 Mitgliedern bestanden, kamen durch Übertragung im familiären Umfeld oder einer gemeinsamen Wohnung zustande. Es fiel besonders das große Cluster Nr. 50 mit seinen 13 Mitgliedern aus der Reihe. Hierbei steckte eine Patientin ihren Lebenspartner, ihre Tochter und ein weiteres Kind an, welches die gleiche Kita besuchte wie die Tochter. Auch zu den übrigen, nicht verwandten Patienten dieses Clusters bestand Kontakt,

welcher jedoch nicht im Rahmen der Kontaktpersonensuche erfasst wurde. Die meisten Patienten in Cluster Nr. 50 waren Teil des Drogen-/Obdachlosenmilieus. Als Orte der Übertragung kommen hier einzelne Drogen- und Obdachloseneinrichtungen in Betracht, die von mehreren Patienten dieses Clusters frequentiert wurden.

Neben diesen epidemiologisch bestätigten Clustern konnte in 4 Fällen eine lokale Übertragung vermutet werden: das größte Cluster Nr. 19 (17 Mitglieder) gehörte dem Haarlem-Genotyp an und fast die Hälfte seiner Patienten stammten aus dem Drogen-/Obdachlosenmilieu. Innerhalb des Clusters konnte zwischen 2 Patienten eine Bekanntschaft über eine Hilfseinrichtung bestätigt werden und 3 Patienten waren in der Vergangenheit bereits einmal Kontaktpersonen zu anderen Fällen gewesen. Es liegt also eine Infektionskette nahe, welche jedoch anamnestisch nicht gesichert erfasst werden konnte.

Die Patienten beider oben beschriebener Cluster waren unterschiedlicher Herkunft, wobei die meisten (46% in Cluster Nr. 50 und 76% in Cluster Nr. 19) in Deutschland geboren sind. In den Clustern Nr. 1 und Nr. 22 kam es vermutlich auch zu einer lokalen Übertragung: die Patienten von Cluster Nr. 1 besuchten die gleiche Drogeneinrichtung, die Patienten von Cluster Nr. 22 waren alkoholabhängig und wohnsitzlos. Beide Cluster gehörten dem Haarlem-Genotyp an, was wiederum ebenfalls für eine Übertragung auf lokaler Ebene spricht. Auffällig war außerdem noch ein 3 Patienten aufweisendes Cluster, weil zwei seiner Patienten den gleichen Arbeitgeber teilten, einen Großmarkt. Spielt das berufliche Umfeld hinsichtlich eines Übertragungsrisikos doch eher eine untergeordnete Rolle, so liegt hier trotzdem die Vermutung nahe, dass es im beruflichen Kontext zu einer Übertragung kam. Eine groß angelegte Kontaktpersonensuche in der Niederlande im Jahr 2008 erfolgte, nachdem ein Supermarktmitarbeiter mit seit 12 Monaten bestehendem Husten mehrere Personen im privaten und beruflichen Umfeld mit TB angesteckt hatte: unter mehreren tausend Kunden wurden letztendlich 12 Fälle aktiver TB als Resultat einer direkten Übertragung durch den Indexpatienten erfasst (78). Dieses Beispiel macht deutlich, dass es gelegentlich auch zu zufälligen Übertragungen kommen kann.

Schließt man die vermutlichen epidemiologischen Zusammenhänge mit ein, so bestätigten sich 16,4% der molekularbiologisch definierten Cluster epidemiologisch. In welcher Größenordnung sich dieser Wert, aber auch der Clusteranteil und die

Patientenstruktur der Cluster im Einzelnen (z. B. hinsichtlich Herkunft), in anderen deutschen Großstädten befindet, ist bei aktueller Studienlage nicht bekannt. Nur für Baden-Württemberg liegt ein Wert von 28% aus einer Studie von 2009, welche jedoch eine andere Typisierungsmethode anwandte, vor (43). Vergleichbare molekulare epidemiologische Studien wären an dieser Stelle aufschlussreich in Bezug auf Effizienz und Lücken in der lokalen TB-Fürsorge.

Es drängt sich die Frage auf, warum es so schwierig ist, Infektionswege der Tuberkulose epidemiologisch nachzuvollziehen. Zum einen spielt die oft jahrelange Latenz zwischen Infektion und Erkrankungsbeginn eine Rolle, die vorangehende Kontakte in Vergessenheit geraten lässt. Bei Verzug von Patienten in einen anderen Kreis innerhalb Deutschlands werden ihre Akten grundsätzlich vom bisher an das zukünftig zuständige Gesundheitsamt übermittelt. Dementsprechend fehlen im zuvor zuständigen Gesundheitsamt ab dem Zeitpunkt des Umzuges relevante Informationen über den Fall. Dies traf in dieser Arbeit insbesondere auf den Verzug von minderjährigen unbegleiteten Ausländern zu, die unmittelbar nach Eingang der TB-Meldung umzogen.

Das Aufdecken von Infektionswegen ist nicht zuletzt aus datenschutzrechtlichen Gründen eingeschränkt. Eine ältere Studie aus den USA bediente sich der Fotos von Patienten, die anderen Patienten zum Zwecke der Ermittlung von Kontakten gezeigt wurden - eine Praxis, die in eklatanter Weise die persönlichen Rechte von Betroffenen verletzt und daher auch grundsätzlich nicht Teil der TB-Fürsorge in Frankfurt am Main ist (76).

Sprachbarrieren und mangelnde Bildung erschweren des Weiteren die Zusammenarbeit zwischen Patienten und dem Gesundheitsamt, was selbstverständlich auch zu einem Versäumnis bei der Ermittlung von Infektionswegen führen kann.

Zusätzlich kommen speziell bei minderjährigen unbegleiteten Ausländern aus afrikanischen Ländern noch weitere Herausforderungen hinzu. Gerade von ihnen ist bekannt, dass sie oft monatelang in überfüllten Gefängnissen in Libyen festgehalten und misshandelt werden und einem hohen Tuberkuloseinfektions- und -erkrankungsrisiko ausgesetzt sind (57). Ihre Befragung gestaltet sich aufgrund von Sprachbarrieren und Traumatisierung oftmals schwierig. Präzise Angaben zum Aufenthalt in den

Transitländern sind nicht zu erwarten. Daher ist die epidemiologische Seite eines molekularbiologisch nachgewiesenen Zusammenhangs oft nicht weiter abzuklären.

Somit konnte beispielsweise in Cluster Nr. 10 ein epidemiologischer Zusammenhang, jedoch eher keine lokale Übertragung in Frankfurt am Main, vermutet werden: alle Patienten des Clusters stammten aus Somalia, Eritrea oder Äthiopien, unter ihnen 4 unbegleitete minderjährige Ausländer, und waren laut Anamnese über den Sudan, Libyen, das Mittelmeer und Italien nach Deutschland gekommen. Alle wiesen den gleichen Stamm auf und es bleibt die Frage, wann und in welchem Zusammenhang es zu einer Übertragung gekommen sein mag. Eine im Januar 2018 erschienene europäische Studie untersuchte mithilfe von MIRU-VNTR und WGS sowie in Patientengesprächen erhobener Daten einen TB-Ausbruch zwischen 2016 und 2017, dessen 29 Patienten alle vom Horn von Afrika oder aus dem Sudan stammten (58). Sie kam zu dem Ergebnis, dass der Stamm am ehesten ursprünglich aus Somalia oder Dschibuti stammte und es auf der Flucht nach Europa in einem libyschen Gefangenenlager zu einer Übertragung kam (58). Im Cluster Nr. 10 spricht die Tatsache, dass seine Patienten aus verschiedenen Ländern stammen, gegen eine länger zurückliegende Übertragung. Aufgrund ihrer gemeinsamen Fluchtroute und teilweise engen zeitlichen Abständen zwischen den Meldungen - 4 der 6 Patienten wurden zwischen Mai 2015 und August 2015 diagnostiziert - ist hier ebenfalls davon auszugehen, dass es auf der Fluchtroute zu einer Übertragung kam. Das Cluster weist auf die katastrophalen, menschenunwürdigen Bedingungen und Gefahren hin, denen Menschen, speziell in libyschen Gefangenenlagern, auf der Flucht nach Europa ausgesetzt sind (57).

Unter den epidemiologisch schwer verständlichen Clustern fällt insbesondere Nr. 54 auf: eine Patientin dieses Clusters landete am Flughafen, wo die TB diagnostiziert wurde, bevor sie direkt in ein Krankenhaus transportiert wurde. Es bestand keine Möglichkeit einer Übertragung auf die zweite Patientin, welche zudem aus einem anderen Land stammte. Dennoch suggerieren die MIRU-Ergebnisse Clusterzugehörigkeit.

Bei keinem der insgesamt 5 Beijing-Cluster sind epidemiologische Zusammenhänge nachvollziehbar. Cluster Nr. 41 beinhaltet einen Fall von MDR-TB und einen vollsensiblen Stamm. In einem weiteren Beijing-Cluster (Nr. 13) kommen Stämme mit XDR, SM-Monoresistenz, MDR, ein vollsensibler Stamm und eine kombinierte SM- und

INH-Resistenz vor, also eine genetische Variabilität, die daran zweifeln lässt, dass es sich um rezente Übertragung handelt.

4.3 Grenzen der Studie

Diese Arbeit weist Limitierungen auf, welche im Folgenden ausgeführt werden.

Ein etwaiger Migrationshintergrund der Eltern in Deutschland geborener Patienten wurde in dieser Arbeit nicht erfasst, was zu einer Unterschätzung des Faktors Migration für Clusterzugehörigkeit beigetragen haben könnte. Reisen in die Heimatländer der Familie, Besuche von Verwandten und Freunden aus Hochinzidenzländern und somit potenzielle Risikokontakte blieben hierbei also unerkannt.

Soziale Integration spielt eine wichtige Rolle bei der Transmission von TB zwischen eingewanderten Patienten und solchen, die aus Deutschland stammen. Jener Zusammenhang wurde hierbei nicht eingehend untersucht. Dies könnte in Frankfurt am Main, wie bereits 2009 in Baden-Württemberg durchgeführt, in einer zukünftigen Arbeit mithilfe eines sogenannten Integrationsindex erfolgen, eines mithilfe eines Patientenfragebogens errechneten Messwerkzeugs für das Maß an Integration (43).

Der Clusteranteil unter den typisierten Fällen hängt von zahlreichen Faktoren ab und Studienergebnisse lassen sich hier unter Umständen nur schwer miteinander vergleichen. Einfluss auf den Clusteranteil haben besonders Einwohnerdichte und -struktur, die Größe der Region, die TB-Inzidenz, der Studienzeitraum und die gewählte Untersuchungsmethode.

In einem dichtbesiedelten Ballungsraum ist insgesamt eine höhere Kontaktdichte anzunehmen als im ländlichen Raum. Die Begrenzung einer Arbeit auf eine Stadt in einem Ballungsraum lässt eine Untererfassung von solchen Clustern erwarten, die sich über die Stadtgrenze hinaus erstrecken. In Frankfurt am Main, einer Metropole im Rhein-Main-Gebiet, ist dieser örtliche Faktor von Bedeutung. Diese Arbeit erfasste aufgrund der Zuständigkeit des Gesundheitsamts Frankfurt am Main ausschließlich Patienten mit Wohnsitz im Stadtgebiet. Im Vergleich zu London lag hier also ein deutlich kleineres urbanes Setting vor. Selbstverständlich ist der Aufenthaltsort der Einwohner Frankfurts nicht streng auf das Stadtgebiet beschränkt, wodurch potenziell clusterzugehörige Patienten in Nachbarstädten, wie Offenbach oder Hanau, nicht erfasst wurden. Dies hat auch Einfluss auf den Anteil epidemiologisch nachvollziehbarer

Cluster, da ein Patient aus einer Nachbarstadt eine mögliche Verbindung zwischen zwei sich unbekanntem clusterzugehörigen Patienten aus Frankfurt am Main darstellen kann. Folglich ist hier von einer Unterschätzung des Clusteranteils auszugehen. Auch der festgelegte zeitliche Rahmen einer Arbeit wie dieser lässt den Clusteranteil fälschlicherweise zu niedrig erscheinen. Fälle von Tuberkulose, die vor dem 01.01.2008 oder nach dem 31.12.2016 gemeldet wurden, tauchen hier nicht auf, obwohl es unter ihnen clusterzugehörige, unter Umständen epidemiologisch nachvollziehbare Fälle gab.

Um ein molekulares Cluster zu bilden, musste der DNA-Fingerabdruck von mindestens zwei Patienten sowohl im Ergebnis von Spoligotypisierung als auch von 24-loci MIRU-VNTR übereinstimmen. Auch in Kombination ist die Diskriminationsfähigkeit dieser beiden Methoden eingeschränkt. Es ist davon auszugehen, dass einige nach Studiendesign definierte Cluster sich in Wirklichkeit auf genetischer Ebene nicht so ähnlich sind, wie 24-loci MIRU-VNTR suggeriert, dass in diesen Fällen also keine Infektionskette vorliegt: mehrere retrospektive Studien beschrieben bereits die eingeschränkte Diskriminationsfähigkeit von MIRU-VNTR im Vergleich zum neueren, hochauflösenden Whole Genome Sequencing (WGS) (55, 79). Demnach identifiziert WGS kleinere Cluster und erhöht die Wahrscheinlichkeit eines epidemiologischen Zusammenhangs (79). Als anschauliches Beispiel dienen die Ergebnisse, die die Untersuchung eines TB-Ausbruchs bei Patienten aus dem Horn von Afrika lieferte (58). Dabei konnten bei enger Clusterdefinition mittels WGS 29 im Studienzeitraum diagnostizierte clusterzugehörige Patienten identifiziert werden. Weitere zu früheren Zeitpunkten diagnostizierte 29 Fälle, die ebenfalls aus dem Horn von Afrika stammten, wären nach ihrer Typisierung durch MIRU-VNTR ebenfalls als clusterzugehörig definiert worden, jedoch erfüllten sie nach Untersuchung mittels WGS aufgrund ihrer teilweise deutlich größeren genetischen Variabilität nicht mehr die Kriterien für die Zugehörigkeit zur Infektionskette (58). Eine jüngst publizierte prospektive Arbeit aus Großbritannien ergab ebenfalls, dass MIRU-VNTR allein nur unzuverlässig genetische Verwandtschaften detektiert und seine Aussagekraft stark vom untersuchten Stamm abhängt (80). Der Studie zufolge steigt die eingeschränkte Aussagekraft jedoch bei Vorliegen gleicher sozialer Risikofaktoren oder Ethnie der etwaigen clusterzugehörigen Patienten (80).

Eine Überschätzung des Clusteranteils und somit auch der rezenter Übertragung, insbesondere bei nicht in Deutschland geborenen Patienten und hinsichtlich der in dieser Arbeit epidemiologisch nicht nachvollziehbaren Cluster, wäre mit WGS weniger wahrscheinlich (40, 55, 58). Eine Ergänzung dieser Studie durch WGS wäre also anzustreben, auch um einen Methodenvergleich zu ermöglichen.

5 Zusammenfassung

Die Tuberkulose ist eine der bedeutendsten Infektionskrankheiten weltweit. In Deutschland spielt sie eine untergeordnete Rolle und betrifft hauptsächlich Risikogruppen. Bisher wurde noch keine mehrere Jahre umfassende Arbeit zur Epidemiologie der Tuberkulose anhand molekularbiologischer Faktoren in einer deutschen Stadt veröffentlicht. In dieser Arbeit wurden mittels 24-loci MIRU-VNTR und Spoligotypisierung die Mykobakterienstämme von Patienten in Frankfurt am Main aus dem Zeitraum von 2008 bis 2016 genetisch typisiert und aus Fällen mit übereinstimmendem DNA-Fingerabdruck bestehende molekulare Cluster identifiziert, um in Zusammenschau mit epidemiologischen Patientendaten die Übertragungswege in Frankfurt am Main besser zu verstehen. Dabei wurden mittels logistischer Regression Risikofaktoren für Clusterzugehörigkeit identifiziert, einzelne Cluster auf epidemiologische Plausibilität hin untersucht und die Bedeutung der Tuberkulose vor dem Hintergrund zunehmender Migration beschrieben.

Insgesamt wurden im Studienzeitraum 61 molekulare Cluster identifiziert. Der Clusteranteil (28,6%) und der Anteil rezenter Übertragung (18,7%) lagen in der Größenordnung anderer Niedriginzidenzländer. Es dominierten kleine Cluster, nur vereinzelt kam es zu Infektionsketten mit mehr als 3 Fällen. Obwohl 81% der Patienten aus dem Ausland stammten und nur 19% aus Deutschland, hatten Migranten ein signifikant niedrigeres Risiko, einem Cluster anzugehören als Deutsche. Unter den Clustern bestanden 42,6% sowohl aus Patienten deutscher als auch Patienten nichtdeutscher Herkunft. Im Ausland geborene Patienten in gemischten Clustern lebten zum Diagnosezeitpunkt durchschnittlich bereits 10 Jahre in Deutschland und stammten mehrheitlich aus europäischen Ländern. Eine TB-Übertragung von kürzlich eingewanderten Patienten auf einheimische Bürger fand in begrenztem Umfang statt, begründet aber keine Ängste vor einer erhöhten Gefährdung der in Deutschland geborenen Bevölkerung im Hinblick auf die Tuberkulose in Frankfurt am Main.

Nur 9,8% der molekularen Cluster konnten epidemiologisch bestätigt werden. Infektionswege, die über das familiäre Umfeld oder bestimmte Risikomilieus (Drogen, Obdachlosigkeit) hinausgehen, ließen sich anamnestisch nur schwer erfassen. Männer,

in Deutschland geborene Personen und iv-drogenabhängige Personen wiesen ein erhöhtes Risiko auf, sich vor Ort mit Tuberkulose zu infizieren oder die Erkrankung auf andere zu übertragen. Dies trifft vermutlich auch auf andere deutsche Großstädte zu und betont die Notwendigkeit einer Integration von iv-Drogenabhängigen in die medizinische Regelversorgung und die Bedeutung einer Zusammenarbeit von öffentlichem Gesundheitsdienst und entsprechenden Hilfseinrichtungen.

Es ist von einer Überschätzung des Clusteranteils mittels 24-loci MIRU-VNTR auszugehen, weshalb für zukünftige Arbeiten die feinere Typisierung und somit eine zuverlässigere Identifikation von Clustern mittels Whole Genome Sequencing wünschenswert ist. Für die bundesweite Verbesserung der TB-Kontrolle ist weiterhin eine enge Zusammenarbeit zwischen den Gesundheitsämtern erforderlich. Um zu untersuchen, wie sich die TB-Epidemiologie von Frankfurt am Main im bundesweiten Vergleich darstellt, sind ähnlich angelegte Arbeiten aus anderen deutschen Großstädten notwendig.

6 Summary

Tuberculosis is one of the most important infectious diseases worldwide. In Germany it plays a minor role and mainly affects risk groups. So far, no study describing the molecular epidemiology of tuberculosis over a period of multiple years has been published in a German city. Using 24-loci MIRU-VNTR and spoligotyping, the mycobacterial strains of tuberculosis patients in Frankfurt am Main between 2008 and 2016 were genotyped. Clusters of strains sharing identical DNA fingerprints were identified as well as linked to epidemiological patient data in order to better understand the transmission of tuberculosis in Frankfurt am Main. Logistic regression identified risk factors for cluster affiliation, individual clusters were examined for epidemiological plausibility. The significance of tuberculosis for the population was described considering the increase in migration.

In total, 61 molecular clusters were identified during the study period. The clustering proportion (28,6%) and the rate of recent transmission (18,7%) stayed within range of other low incidence countries. Most clusters were small, chains of infection only occasionally included more than 3 cases. Although 81% of the patients were foreign-born and only 19% were born in Germany, migrants had a significantly lower risk of belonging to a cluster than Germans. Among the clusters, 42,6% consisted of both German-born and foreign-born patients. At the time of diagnosis, foreign-born patients in mixed clusters had already lived in Germany for an average of 10 years and most of them originated from European countries. TB transmission from recently migrated patients to native citizens did occur to a limited extent but doesn't justify fear of an increased risk of infection to the German-born population in Frankfurt am Main.

Only 9,8% of the molecular clusters could be confirmed by actual epidemiological links. Transmission links beyond the family environment or certain social risk groups (drug addiction, homelessness) appeared difficult to assess in the patient history. Being male, German-born or addicted to iv drugs showed an increased risk of becoming infected with tuberculosis or transmitting the disease to others. This most likely applies to other major German cities as well and it emphasizes the need to integrate iv drug addicts into

the regular health care system and stresses the importance of cooperation between public health services and corresponding support facilities.

It can be assumed that 24-loci MIRU-VNTR overestimates clustering. Therefore, a finer genotyping method and thus a more reliable identification of clusters by Whole Genome Sequencing is desirable for future studies. The nationwide improvement in TB control continuously requires a close collaboration between public health authorities. In order to investigate how the TB epidemiology of Frankfurt am Main presents itself in a nationwide comparison, similar work from other major German cities is necessary.

7 Abkürzungsverzeichnis

D	Deutschland
DZIF	Deutsches Zentrum für Infektionsforschung e. V.
EMB	Ethambutol
HIV	Humanes Immundefizienz-Virus
IfSG	Infektionsschutzgesetz
IGRA	Interferon- γ -Release-Assay
INH	Isoniazid
iv	Intravenös
JVA	Justizvollzugsanstalt
KI	Konfidenzintervall
KP	Kontaktperson
LK	Lymphknoten
LTBI	Latente tuberkulöse Infektion
MDR	Multidrug Resistance (Multiresistenz)
MIRU	Multiple Interspersed Repetitive Units
VNTR	Variable Number Tandem Repeats
MRT	Magnetresonanztomografie
MST	Minimum Spanning Tree
MTB	Mycobacterium tuberculosis
NRZ Borstel	Nationales Referenzzentrum für Mykobakterien in Borstel
OfW	Ohne festen Wohnsitz/ohnsitzlos
OR	Odds Ratio
PCR	Polymerase Chain Reaction (Polymerasekettenreaktion)
preXDR	Pre-extensively Drug Resistance
PZA	Pyrazinamid
RFLP	Restriktionsfragment-Längenpolymorphismus
RMP	Rifampicin
SM	Streptomycin
Spoligotyping	Spacer Oligonucleotide Typing

TB	Tuberkulose
THT	Tuberkulin-Hauttest
TNF- α	Tumornekrosefaktor- α
WGS	Whole Genome Sequencing
WHO	World Health Organization (Weltgesundheitsorganisation)
XDR	Extensively Drug Resistance

8 Literatur

1. Sabbatani S, Fiorino S. L'infezione da micobatteri nell'uomo preistorico. Un cammino parallelo (co-evoluzione) dimostrato già in epoche remote: Mycobacterium infection in prehistoric humans: co-evolution in remote ages. *Le Infezioni in Medicina* 2015; (1):83–93.
2. Hershkovitz I, Donoghue HD, Minnikin DE, May H, Lee OY, Feldman M et al. Tuberculosis origin: The Neolithic scenario. *Tuberculosis* 2015; (95):122–6.
3. World Health Organization. Global Tuberculosis Report 2018. Geneva, Switzerland: World Health Organization; 2018.
4. Schaberg T, Bauer T, Castell S, Dalhoff K, Detjen A, Diel R et al. Empfehlungen zur Therapie, Chemoprävention und Chemoprophylaxe der Tuberkulose im Erwachsenen- und Kindesalter. Deutsches Zentralkomitee zur Bekämpfung der Tuberkulose (DZK), Deutsche Gesellschaft für Pneumologie und Beatmungsmedizin (DGP). *Pneumologie* 2012; 66(3):133–71. doi: 10.1055/s-0031-1291619.
5. Schaberg T, Bauer T, Brinkmann F, Diel R, Feiterna-Sperling C, Haas W et al. S2k-Leitlinie: Tuberkulose im Erwachsenenalter. *Pneumologie* 2017; 71(6):325–97. doi: 10.1055/s-0043-105954.
6. Brodhun B, Altmann D, Hauer B, Haas W. Bericht zur Epidemiologie der Tuberkulose in Deutschland für 2017. Berlin; 29.10.2018.
7. Robert Koch-Institut. Epidemiologisches Bulletin: Aktuelle Daten zu Infektionskrankheiten und Public Health; 26.10.2015 43 [Stand: 26.06.2017]. Verfügbar unter:
https://www.rki.de/DE/Content/Infekt/EpidBull/Archiv/2015/Ausgaben/43_15.pdf?__blob=publicationFile.
8. Davies PDO, Barnes PF, Gordon SB. *Clinical tuberculosis*. 4th ed. London: Hodder Arnold; 2008.
9. Robert Koch-Institut (RKI). RKI - RKI-Ratgeber für Ärzte - Tuberkulose; 2013 [Stand: 26.06.2017]. Verfügbar unter:

http://www.rki.de/DE/Content/Infekt/EpidBull/Merkblaetter/Ratgeber_Tuberkulose.html.

10. Ziegler R, Just H-M, Castell S, Diel R, Gastmeier P, Haas W et al. Infektionsprävention bei Tuberkulose--Empfehlungen des DZK. *Pneumologie* 2012; 66(5):269–82. doi: 10.1055/s-0031-1291582.
11. Konietzko N, Loddenkemper R, Hrsg. Tuberkulose. Stuttgart: Thieme; 1999.
12. Ioannidis P, Papaventsis D, Karabela S, Nikolaou S, Panagi M, Raftopoulou E et al. Cepheid GeneXpert MTB/RIF assay for Mycobacterium tuberculosis detection and rifampin resistance identification in patients with substantial clinical indications of tuberculosis and smear-negative microscopy results. *J Clin Microbiol* 2011; 49(8):3068–70. doi: 10.1128/JCM.00718-11.
13. CDC. National Center for HIV/AIDS, Viral Hepatitis, STD and TB Prevention. A New Tool to Diagnose Tuberculosis: The Xpert MTB/RIF Assay; 2014 [Stand: 04.05.2016].
14. Heyckendorf J, Andres S, Köser CU, Olaru ID, Schön T, Sturegård E et al. What Is Resistance? Impact of Phenotypic versus Molecular Drug Resistance Testing on Therapy for Multi- and Extensively Drug-Resistant Tuberculosis. *Antimicrob Agents Chemother* 2018; 62(2). doi: 10.1128/AAC.01550-17.
15. Diel R, Loytved G, Nienhaus A, Castell S, Detjen A, Geerdes-Fenge H et al. Neue Empfehlungen für die Umgebungsuntersuchungen bei Tuberkulose. Deutsches Zentralkomitee zur Bekämpfung der Tuberkulose. *Pneumologie* 2011; 65(6):359–78. doi: 10.1055/s-0030-1256439.
16. Dean A, Zignol M. Guidelines for surveillance of drug resistance in tuberculosis. 5th edition. Geneva: World Health Organization; 2015.
17. Murray JF, Schraufnagel DE, Hopewell PC. Treatment of Tuberculosis. A Historical Perspective. *Ann Am Thorac Soc* 2015; 12(12):1749–59. doi: 10.1513/AnnalsATS.201509-632PS.
18. Treatment of Pulmonary Tuberculosis with Streptomycin and Para-Amino-Salicylic Acid: A Medical Research Council Investigation. *Br Med J* 1950; 2(4688):1073–85.

19. World Health Organization. Rapid Communication: Key changes to treatment of multidrug- and rifampicin-resistant tuberculosis (MDR/RR-TB): World Health Organization; 2018. Verfügbar unter: www.who.int. Lizenz: CC BY-NC-SA 3.0 IGO.
20. Infektionsschutzgesetz: IfSG; 2000.
21. Robert Koch-Institut. Falldefinitionen des Robert Koch-Instituts zur Übermittlung von Erkrankungs- oder Todesfällen und Nachweisen von Krankheitserregern - Ausgabe 2015: Robert Koch-Institut (RKI); 15.1.2015 ISSN 2363-7897 [Stand: 21.07.2015]. Verfügbar unter: www.rki.de/falldefinitionen.
22. Feiterna-Sperling C, Brinkmann F, Adamczick C, Ahrens F, Barker M, Berger C et al. S2k-Leitlinie zur Diagnostik, Prävention und Therapie der Tuberkulose im Kindes- und Jugendalter. *Pneumologie* 2017; 71(10):629–80. doi: 10.1055/s-0043-116545.
23. Brodhun B, Altmann D, Hauer B, Fiebig L, Haas W. Bericht zur Epidemiologie der Tuberkulose in Deutschland für 2016. Berlin; 2017.
24. Robert Koch-Institut. Infektionsepidemiologisches Jahrbuch meldepflichtiger Krankheiten für 2015. *Krankenhaus-Hygiene + Infektionsverhütung* 2016; 38(4):211–6. doi: 10.1016/j.khinf.2016.07.003.
25. Stadt Frankfurt am Main - Bürgeramt, Statistik und Wahlen. Einwohnerinnen und Einwohner in Frankfurt am Main am 30.06.2018. *statistik.aktuell* 2018; (13/2018).
26. Stadt Frankfurt am Main - Bürgeramt, Statistik und Wahlen. Ausländische Einwohnerinnen und Einwohner in Frankfurt am Main am 30.06.2018: Veränderung im ersten Halbjahr 2018. *statistik.aktuell* 2018; (14/2018).
27. Stadt Frankfurt am Main - Bürgeramt, Statistik und Wahlen. Statistisches Jahrbuch der Stadt Frankfurt am Main 2016: Kapitel 2. Bevölkerung. Frankfurt: Stadt Frankfurt am Main - Bürgeramt, Statistik und Wahlen.
28. Stadt Frankfurt am Main - Bürgeramt, Statistik und Wahlen. Ausländische Einwohnerinnen und Einwohner in Frankfurt am Main am 31. Dezember 2016. *statistik.aktuell* 2017; (03/2017).

29. Gesundheitsamt Frankfurt am Main. Epidemiologie und Prävention von Infektionskrankheiten in Frankfurt am Main: Jahresgesundheitsbericht 2016/2017 2018.
30. TBC Lungenklinik Parsberg - medbo [Stand: 14.07.2017]. Verfügbar unter: <http://www.medbo.de/kliniken-heime/forensik/parsberg-lungen-bronchialheilkunde.html>.
31. Thierry D, Cave MD, Eisenach KD, Crawford JT, Bates JH, Gicquel B et al. IS6110, an IS-like element of Mycobacterium tuberculosis complex. Nucleic Acids Res 1990; 18(1):188.
32. Brosch R, Gordon SV, Marmiesse M, Brodin P, Buchrieser C, Eiglmeier K et al. A new evolutionary scenario for the Mycobacterium tuberculosis complex. Proc Natl Acad Sci U S A 2002; 99(6):3684–9. doi: 10.1073/pnas.052548299.
33. Garnier T, Eiglmeier K, Camus J-C, Medina N, Mansoor H, Pryor M et al. The complete genome sequence of Mycobacterium bovis. Proc Natl Acad Sci U S A 2003; 100(13):7877–82. doi: 10.1073/pnas.1130426100.
34. Pitondo-Silva A, Santos ACB, Jolley KA, Leite CQF, Darini ALdC. Comparison of three molecular typing methods to assess genetic diversity for Mycobacterium tuberculosis. J Microbiol Methods 2013; 93(1):42–8. doi: 10.1016/j.mimet.2013.01.020.
35. Wiid IJ, Werely C, Beyers N, Donald P, van Helden PD. Oligonucleotide (GTG)₅ as a marker for Mycobacterium tuberculosis strain identification. J Clin Microbiol 1994; 32(5):1318–21.
36. Vries G de, van Hest RAH, Burdo CCA, van Soolingen D, Richardus JH. A Mycobacterium tuberculosis cluster demonstrating the use of genotyping in urban tuberculosis control. BMC Infect Dis 2009; 9:151. doi: 10.1186/1471-2334-9-151.
37. Pouseele H, Supply P. Accurate Whole-Genome Sequencing-Based Epidemiological Surveillance of Mycobacterium Tuberculosis. In: Andrew Sails Y-WT, Hrsg. Methods in Microbiology, Vol. 42: Current and Emerging Technologies for the Diagnosis of Microbial Infections: Elsevier; 2015. S. 359–94 (Methods in Microbiology; Bd. 42).

38. Orduz ML, Ribon W. Molecular Epidemiology of Tuberculosis. In: Ribon W, Hrsg. Tuberculosis - Expanding Knowledge: InTech; 2015.
39. Barnes Peter F., Cave M. Donald. Molecular Epidemiology of Tuberculosis. New England Journal of Medicine 2003; (2):1149–56. doi: 10.1080/09670880305250.
40. Roetzer A, Diel R, Kohl TA, Rückert C, Nübel U, Blom J et al. Whole genome sequencing versus traditional genotyping for investigation of a Mycobacterium tuberculosis outbreak: a longitudinal molecular epidemiological study. PLoS Med 2013; 10(2):e1001387. doi: 10.1371/journal.pmed.1001387.
41. Hamblion EL, Le Menach A, Anderson LF, Lalor MK, Brown T, Abubakar I et al. Recent TB transmission, clustering and predictors of large clusters in London, 2010-2012: results from first 3 years of universal MIRU-VNTR strain typing. Thorax 2016; 71(8):749–56. doi: 10.1136/thoraxjnl-2014-206608.
42. Vluggen C, Soetaert K, Groenen G, Wanlin M, Spitaels M, Arrazola de Oñate W et al. Molecular epidemiology of Mycobacterium tuberculosis complex in Brussels, 2010-2013. PLoS ONE 2017 Feb 21; 12(2):e0172554. doi: 10.1371/journal.pone.0172554.
43. Barniol J, Niemann S, Louis VR, Brodhun B, Dreweck C, Richter E et al. Transmission dynamics of pulmonary tuberculosis between autochthonous and immigrant sub-populations. BMC Infect Dis 2009; 9:197. doi: 10.1186/1471-2334-9-197.
44. Kamper-Jørgensen Z, Andersen AB, Kok-Jensen A, Kamper-Jørgensen M, Bygbjerg IC, Andersen PH et al. Migrant tuberculosis: the extent of transmission in a low burden country. BMC Infect Dis 2012; 12:60. doi: 10.1186/1471-2334-12-60.
45. Sandgren A, Schepisi MS, Sotgiu G, Huitric E, Migliori GB, Manissero D et al. Tuberculosis transmission between foreign- and native-born populations in the EU/EEA: A systematic review. Eur Respir J 2014; 43(4):1159–71. doi: 10.1183/09031936.00117213.
46. Helm J. tbornottb.de - Rekrutierung-Gesundheitsämter (WP B) [Stand: 15.07.2017]. Verfügbar unter: <http://www.tbornottb.de/teilprojekte/rekrutierung-gesundheitsaemter-wp-b>.

47. Lorenz TC. Polymerase chain reaction: basic protocol plus troubleshooting and optimization strategies. *J Vis Exp* 2012; (63):e3998. doi: 10.3791/3998.
48. Supply P. Multilocus Variable Number Tandem Repeat Genotyping of *Mycobacterium tuberculosis*: Technical Guide: Institut de Biologie/Institut Pasteur de Lille; 2005. Verfügbar unter: <http://www.miru-vntrplus.org/MIRU/files/MIRU-VNTRtypingmanualv6.pdf>.
49. Mullis KB, Hrsg. The polymerase chain reaction. Boston, Basel, Berlin: Birkhäuser; 1994.
50. Applied Biosystems, Hrsg. Applied Biosystems 3500/3500xl Genetic Analyzer User Guide; 06.2010 [Stand: 20.01.2018]. Verfügbar unter: <https://tools.thermofisher.com/content/sfs/manuals/4401661.pdf>.
51. Sanger F, Nicklen S, Coulson AR. DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1977; 74(12):5463–7.
52. Weniger T, Krawczyk J, Supply P, Niemann S, Harmsen D. MIRU-VNTRplus: A web tool for polyphasic genotyping of *Mycobacterium tuberculosis* complex bacteria. *Nucleic Acids Res* 2010; 38(Web Server issue):W326-31. doi: 10.1093/nar/gkq351.
53. Wirth T, Hildebrand F, Allix-Béguet C, Wölbeling F, Kubica T, Kremer K et al. Origin, Spread and Demography of the *Mycobacterium tuberculosis* Complex. *PLoS Pathog* 2008; 4(9):e1000160. doi: 10.1371/journal.ppat.1000160.
54. Guthrie JL, Kong C, Roth D, Jorgensen D, Rodrigues M, Hoang L et al. Molecular Epidemiology of Tuberculosis in British Columbia, Canada: A 10-Year Retrospective Study. *Clin Infect Dis* 2018; 66(6):849–56. doi: 10.1093/cid/cix906.
55. Stucki D, Ballif M, Egger M, Furrer H, Altpeter E, Battegay M et al. Standard Genotyping Overestimates Transmission of *Mycobacterium tuberculosis* among Immigrants in a Low-Incidence Country. *J Clin Microbiol* 2016; 54(7):1862–70. doi: 10.1128/JCM.00126-16.
56. Farah MG, Meyer HE, Selmer R, Heldal E, Bjune G. Long-term risk of tuberculosis among immigrants in Norway. *Int J Epidemiol* 2005; 34(5):1005–11. doi: 10.1093/ije/dyi058.

57. Office of the United Nations High Commissioner for Human Rights. Detained and dehumanised: Report on Human Rights Abuses against Migrants in Libya; 13.12.2016. Verfügbar unter:
https://www.ohchr.org/Documents/Countries/LY/DetainedAndDehumanised_en.pdf.
58. Walker TM, Merker M, Knoblauch AM, Helbling P, Schoch OD, van der Werf MJ et al. A cluster of multidrug-resistant Mycobacterium tuberculosis among patients arriving in Europe from the Horn of Africa: A molecular epidemiological study. *The Lancet Infectious Diseases* 2018; 18(4):431–40. doi: 10.1016/S1473-3099(18)30004-5.
59. Brudey K, Driscoll JR, Rigouts L, Prodinger WM, Gori A, Al-Hajj SA et al. Mycobacterium tuberculosis complex genetic diversity: Mining the fourth international spoligotyping database (SpolDB4) for classification, population genetics and epidemiology. *BMC Microbiol* 2006; 6:23. doi: 10.1186/1471-2180-6-23.
60. Cox HS, Kubica T, Doshetov D, Kebede Y, Rüsç-Gerdess S, Niemann S. The Beijing genotype and drug resistant tuberculosis in the Aral Sea region of Central Asia. *Respir Res* 2005; 6:134. doi: 10.1186/1465-9921-6-134.
61. Wang X-h, Ma A-g, Han X-x, Gu X-m, Fu L-p, Li P-g et al. Correlations between drug resistance of Beijing/W lineage clinical isolates of Mycobacterium tuberculosis and sublineages: A 2009–2013 prospective study in Xinjiang province, China. *Med Sci Monit* 2015; 21:1313–8. doi: 10.12659/MSM.892951.
62. Padgett DA, Glaser R. How stress influences the immune response. *Trends in Immunology* 2003; 24(8):444–8. doi: 10.1016/S1471-4906(03)00173-X.
63. Lillebaek T, Andersen AB, Dirksen A, Smith E, Skovgaard LT, Kok-Jensen A. Persistent high incidence of tuberculosis in immigrants in a low-incidence country. *Emerging Infect Dis* 2002; 8(7):679–84. doi: 10.3201/eid0807.010482.
64. Vries Gd, Riesmeijer R. National Tuberculosis Control Plan 2016–2020. Bilthoven: National Institute for Public Health and the Environment; 2016.

65. Vries G de, van Hest R, Bakker M, Erkens C, van den Hof S, Meijer W et al. Policy and practice of programmatic management of latent tuberculosis infection in The Netherlands. *Journal of Clinical Tuberculosis and Other Mycobacterial Diseases* 2017; 7:40–8. doi: 10.1016/j.jctube.2017.02.002.
66. Pareek M, Watson JP, Ormerod LP, Kon OM, Woltmann G, White PJ et al. Screening of immigrants in the UK for imported latent tuberculosis: A multicentre cohort study and cost-effectiveness analysis. *The Lancet Infectious Diseases* 2011; 11(6):435–44. doi: 10.1016/S1473-3099(11)70069-X.
67. Zammarchi L, Casadei G, Strohmeyer M, Bartalesi F, Liendo C, Matteelli A et al. A scoping review of cost-effectiveness of screening and treatment for latent tuberculosis infection in migrants from high-incidence countries. *BMC Health Serv Res* 2015; 15:412. doi: 10.1186/s12913-015-1045-3.
68. E-DETECT TB: Early Detection and Treatment of Tuberculosis in Europe; 2016. Verfügbar unter: <https://e-detecttb.eu/>.
69. Zak DE, Penn-Nicholson A, Scriba TJ, Thompson E, Suliman S, Amon LM et al. A blood RNA signature for tuberculosis disease risk: A prospective cohort study. *The Lancet* 2016; 387(10035):2312–22. doi: 10.1016/S0140-6736(15)01316-1.
70. Förster S, Stöver H. Drogenkonsumraum-Dokumentation 2017: Auswertung der Daten der vier Frankfurter Drogenkonsumräume. Frankfurt: Institut für Suchtforschung, Frankfurt University of Applied Sciences (ISFF); Mai 2018.
71. Davidson JA, Thomas HL, Maguire H, Brown T, Burkitt A, Macdonald N et al. Understanding TB Transmission in the UK: Findings from Six Years of MIRU-VNTR Strain Typing, 2010 to 2015. *Am J Epidemiol* 2018. doi: 10.1093/aje/kwy119.
72. Nhamoyebonde S, Leslie A. Biological differences between the sexes and susceptibility to tuberculosis. *J Infect Dis* 2014; 209 Suppl 3:S100-6. doi: 10.1093/infdis/jiu147.
73. Borrell S, Gagneux S. Infectiousness, reproductive fitness and evolution of drug-resistant *Mycobacterium tuberculosis*. *Int J Tuberc Lung Dis* 2009; 13(12):1456–66.

74. Small PM, Hopewell PC, Singh SP, Paz A, Parsonnet J, Ruston DC et al. The epidemiology of tuberculosis in San Francisco. A population-based study using conventional and molecular methods. *N Engl J Med* 1994; 330(24):1703–9. doi: 10.1056/NEJM199406163302402.
75. Barnes PF, Yang Z, Preston-Martin S, Pogoda JM, Jones BE, Oyata M et al. Patterns of tuberculosis transmission in Central Los Angeles. *JAMA* 1997; 278(14):1159–63.
76. Weis SE, Pogoda JM, Yang Z, Cave MD, Wallace C, Kelley M et al. Transmission dynamics of tuberculosis in Tarrant county, Texas. *Am J Respir Crit Care Med* 2002; 166(1):36–42. doi: 10.1164/rccm.2109089.
77. Bishai WR. Molecular and Geographic Patterns of Tuberculosis Transmission After 15 Years of Directly Observed Therapy. *JAMA* 1998; 280(19):1679. doi: 10.1001/jama.280.19.1679.
78. Borgen K, Koster B, Meijer H, Kuyvenhoven V, van der Sande M, Cobelens F. Evaluation of a large-scale tuberculosis contact investigation in the Netherlands. *Eur Respir J* 2008; 32(2):419–25. doi: 10.1183/09031936.00136607.
79. Jajou R, Neeling A de, van Hunen R, Vries G de, Schimmel H, Mulder A et al. Epidemiological links between tuberculosis cases identified twice as efficiently by whole genome sequencing than conventional molecular typing: A population-based study. *PLoS ONE* 2018; 13(4):e0195413. doi: 10.1371/journal.pone.0195413.
80. Wyllie DH, Davidson JA, Grace Smith E, Rathod P, Crook DW, Peto TEA et al. A Quantitative Evaluation of MIRU-VNTR Typing Against Whole-Genome Sequencing for Identifying Mycobacterium tuberculosis Transmission: A Prospective Observational Cohort Study. *EBioMedicine* 2018. doi: 10.1016/j.ebiom.2018.07.019.

9 Schriftliche Erklärung

Ich erkläre ehrenwörtlich, dass ich die dem Fachbereich Medizin der Johann Wolfgang Goethe-Universität Frankfurt am Main zur Promotionsprüfung eingereichte Dissertation mit dem Titel

Tuberkulose in Frankfurt am Main – Molekularbiologische Aspekte der Epidemiologie im Gesundheitsamt Frankfurt am Main unter Betreuung und Anleitung von Prof. Dr. Dr. René Gottschalk mit Unterstützung durch Dr. Udo Götsch ohne sonstige Hilfe selbst durchgeführt und bei der Abfassung der Arbeit keine anderen als die in der Dissertation angeführten Hilfsmittel benutzt habe. Darüber hinaus versichere ich, nicht die Hilfe einer kommerziellen Promotionsvermittlung in Anspruch genommen zu haben.

Ich habe bisher an keiner in- oder ausländischen Universität ein Gesuch um Zulassung zur Promotion eingereicht. Die vorliegende Arbeit wurde bisher nicht als Dissertation eingereicht.

(Ort, Datum)

(Unterschrift)