

Marion Burger

Dr. med.

Molekularepidemiologische Analyse von *Mycobacterium tuberculosis* Kulturisolaten aus Brasilien

- Geboren am 17.01.65 in Caràzinho, RS (Brasilien)
- Schulbildungsabschluß in 1982: Brasilianisches Abitur
- Medizinstudium an der Bundesuniversität von Paraná in Curitiba, PR (Brasilien) vom SS 1983 bis WS 1988
 - Physikum in 1983 und 1984
 - Klinisches Studium in 1985 und 1986
 - Praktisches Jahr in 1987 und 1988
 - Abschluß: Ärztin für Humanmedizin
- Facharztausbildung für Kinderheilkunde an der Bundesuniversität von Paraná in Curitiba, PR (Brasilien) vom SS 1989 bis WS 1990
- Spezialisierung im Lehrfach "Infektionskrankheiten bei Kindern" an der Paulistaner Hochschule für Medizin in São Paulo, SP (Brasilien) vom SS 1991 bis SS 1992

Promotionsfach: Hygiene

Doktorvater: Prof. Dr. med. H. K. Geiss

Molekularbiologische Typisierungsmethoden in Verbindung mit konventionellen Kulturverfahren sind die Grundlage für die Erkennung von Tuberkuloseausbrüchen, die Aufdeckung von Indexfällen bei Ansteckungsketten und Laborkontaminationen. Großraumepidemiologische Untersuchungen erfordern aber gleichzeitig den umgehenden Transport von Proben in ein zentrales Labor, was angesichts der Kontagiosität der Erreger sehr problematisch ist. In der vorliegenden Arbeit wurde die Validität zweier unterschiedlicher Transportverfahren als Grundlage für eine epidemiologische Untersuchung von 159 *M. tuberculosis* Komplex Kulturisolaten aus Südbrasilien untersucht.

Hierzu wurde Kolonienmaterial von Löwenstein-Jensen-Agar zum einen in 1 ml physiologischer NaCl-Lösung suspendiert, zum anderen auf Filterpapier aufgetragen, bei 80°C im Brutschrank hitzebehandelt und in Plastiktüten eingeschweißt. Nach Transport der Proben nach Deutschland wurden aus den Kochsalzproben die Stämme wieder angezüchtet und für das DNA-Fingerprinting präpariert. Von den Filterproben gelang in keinem Fall die

kulturelle Anzucht, die DNA-Extraktion erfolgte direkt aus einem ca. 3mm großen Filterpapierstück.

Die genetische Typisierung aller Proben wurde mit Hilfe der Mixed-Linker PCR durchgeführt. Der Vergleich von 55 parallel aufgearbeiteten Kochsalz- und Filterpapierproben erbrachte, mit Ausnahme einer Probe, bei der eine zusätzliche Bande nachzuweisen war, in allen Fällen ein identisches Fingerprint-Muster, so daß für die nachfolgenden Untersuchungen ausschließlich auf die Filterpapierproben zurückgegriffen werden konnte.

Für die molekularepidemiologische Untersuchung lagen 159 Isolate von 146 Patienten aus dem Staate Paraná vor, die im Staatlichen Zentrallabor in Curitiba charakterisiert und deren Antituberkulotika-Empfindlichkeit bestimmt worden war. 21% der Isolate wiesen eine Mehrfachresistenz gegen bis zu 3 Substanzen auf. Dieses Ergebnis korreliert allerdings nicht mit dem HIV-Status und der Erkrankungsdauer der Patienten.

Die Ergebnisse der Fingerprint-Methode zeigten mit Ausnahme von 8 Clustern mit jeweils 2 identischen Isolaten keinen epidemiologischen Zusammenhang der Isolate, was für ein Vorherrschen von reaktivierten Tuberkulosen in der untersuchten Bevölkerung spricht.

Insgesamt zeigen die vorliegenden Ergebnisse, daß mit der Filterpapiermethode ein einfaches und sicheres Verfahren zum Transport dieser hochkontagiösen Erreger verfügbar ist und damit eine Grundlage geschaffen wurde, um auf zuverlässige Weise großraumepidemiologische Untersuchungen mit Hilfe der Molekularbiologie zu ermöglichen.