

Mycobacterium leprae – der Erreger von Lepra

Stellungnahmen des Arbeitskreises Blut des Bundesministeriums für Gesundheit

Der Arbeitskreis Blut des Bundesministeriums für Gesundheit gibt als nationales Beratungsgremium Stellungnahmen zu neuartigen Erregern ab, bewertet neue Erkenntnisse zu bekannten Erregern und erarbeitet entsprechende Empfehlungen für die Fachöffentlichkeit. Diese Serie von Stellungnahmen zu einzelnen Erregern wird als Zusammenfassung des aktuellen Wissensstandes veröffentlicht, speziell unter transfusionsmedizinisch relevanten Aspekten (Bundesgesundheitsbl. 41, 53, 1998).

Frühere Beiträge befassten sich mit der *Creutzfeldt-Jakob-Erkrankung*, dem *Parvovirus B19* und dem *GB-Virus Typ C (Hepatitis-G-Virus)* (Bundesgesundheitsbl. 41, 78–90, 1998), *HTLV 1/2* (Bundesgesundheitsbl. 41, 512–517, 1998), *Yersinia enterocolitica* (Bundesgesundheitsbl. 42, 613–621, 1999), *TT-Virus* (Bundesgesundheitsbl. 43, 154–156, 2000), *Hepatitis-B-Virus (HBV)* (Bundesgesundheitsbl. 43, 240–248, 2000), *Humanes Cytomegalovirus (HCMV)* (Bundesgesundheitsbl. 43, 653–659, 2000), *Hepatitis-A-Virus* (Bundesgesundheitsbl. 44, 844–850, 2001), *Treponema pallidum* (Bundesgesundheitsbl. 45, 818–826, 2002), *Hepatitis-C-Virus* (Bundesgesundheitsbl. 46, 712–722, 2003), *Humanes Immunschwächevirus (HIV)* (Bundesgesundheitsbl. 47, 83–95, 2004), *Arboviren – durch Arthropoden übertragbare Viren* (Bundesgesundheitsbl. 47, 910–918, 2004), *Coxiella burnetii – Erreger des Q (query)-Fiebers* (Bundesgesundheitsbl. 48, 814–821, 2005), *Variante Creutzfeldt-Jakob-Krankheit* (Bundesgesundheitsbl. 48, 1082–1090, 2005), *Influenzaviren* (Bundesgesundheitsbl. 50, 1184–1191, 2007), *Arbobakterien (über Arthropoden übertragbare Bakterien)* (Bundesgesundheitsbl. 50, 1192–1207,

2007), *Hepatitis-E-Virus* (Bundesgesundheitsbl. 51, 90–97, 2008), *Malaria* (Bundesgesundheitsbl. 51, 236–249, 2008), *Arboprotzoen* (Bundesgesundheitsbl. 52, 123–146, 2009), *Orthopockenviren: Infektionen des Menschen* (Bundesgesundheitsbl. 53, 957–972, 2010), *Humanes Cytomegalievirus (HCMV)* (Bundesgesundheitsbl. 53, 973–983, 2010), *Parvovirus B19* (Bundesgesundheitsbl. 53, 944–956, 2010), *Dengue-Fieber-Virus (DENV)* (Bundesgesundheitsbl. 54, 892–903, 2011), *XMRV* (Bundesgesundheitsbl. 55, 1057–1060, 2012), *Arbonematoden – durch Arthropoden übertragbare Nematoden-Infektionen* (Bundesgesundheitsbl. 55, 1044–1056, 2012), *West-Nil-Virus* (Bundesgesundheitsbl. 55, 1024–1043, 2012), *Coxiella burnetii – Erreger des Q (query)-Fiebers* (Bundesgesundheitsbl. 56, 1178–1190, 2013), *Usutuivirus* (Bundesgesundheitsbl. 56, 1168–1177, 2013), *Hepatitis-E-Virus* (Bundesgesundheitsbl. 58, 198–218, 2015), *Humanes Immunschwächevirus (HIV)* (Bundesgesundheitsbl. 58, 1351–1370, 2015), *Zikavirus (ZIKV)* (Bundesgesundheitsbl. 59, 1232–1244, 2016).

1 Wissensstand über den Erreger

Lepra wird durch *Mycobacterium leprae* (*Mleprae*) verursacht. Die WHO bezeichnet Lepra als eine der „vernachlässigten tropischen Krankheiten“. Die Krankheit wurde über Hygienemaßnahmen und Therapie in Teilen der Welt eliminiert. Das Bakterium ist jedoch weit davon entfernt, als Infektionserreger des Menschen eradiert zu werden [1, 2, 3].

Durch Genomanalysen ist bekannt, dass sich Bakterien des *Mycobacterium tuberculosis complex* vor etwa 3 Millio-

nen Jahren von der Evolution des *M leprae*, das sich seit etwa 36–66 Millionen Jahren aus einem gemeinsamen Vorläufer entwickelt hat, abgespalten hat [4, 5]. Bereits vor ca. 500.000 Jahren haben Mykobakterien Menschen befallen. Dies zeigen Spuren von granulomatöser Ossifikation am Schädelknochen eines *Homo erectus* aus der Türkei [5, 6]. Zeichen lepröser Zerstörung am Skelett sind an etwa 7000 Jahre alten Knochen in Ägypten und 4000 Jahre alten Knochen in Indien gefunden worden [7]. Der Nachweis von Bakterien in Lymphknoten von Leprakranken wurde von Gerhard Armauer Hansen 1873 beschrieben. Der Nachweis dieser Bakterien (*M leprae*) durch Ziehl-Neelsen-Färbung erfolgte 1883 in Norwegen.

Das zirkuläre Genom von *M leprae* wurde 2001 sequenziert [8]. Durch Analyse des Genoms und der Positionen der SNP (*single nucleotide polymorphism*) von zirkulierenden *M leprae*-Stämmen kann gefolgert werden, dass *M leprae* in Ostafrika erste Menschen infiziert hat. Über die menschliche Migration verbreitete es sich nach Vorderasien, Asien und Europa. Von Europa aus wurde *M leprae* über den Handel in beide Amerikas gebracht. Migration brachte *M leprae* von Ost- nach Westafrika und von dort über den Sklavenhandel nach Mittel- und Südamerika [9].

Da Lepra familiär gehäuft auftrat, wurde in Indien eine familiäre bzw. genetische Ursache vermutet. Hinweise auf eine Mensch-zu-Mensch-Übertragung führten besonders in Europa und Asien zu schwerer Stigmatisierung der Betroffenen. Leprakranke galten als Unreine mit Aussatz, die von der Gesellschaft ausgegrenzt wurden. Hierzu berichtete Ausgrenzungen waren Glöckchen an der Kleidung

der Leprakranken und Unterbringung in Leprahäusern außerhalb der Stadtmauer oder auf Lepra-Inseln [10]. Erst seit ab 1937 Dapson als Therapeutikum zur Verfügung stand, wurde das Stigma allmählich abgebaut. Wegen des in einigen Regionen weiter bestehenden Stigmas darf der Name Lepra nicht verwendet werden, und Lepra wird dort als Hansen-Krankheit, Hansen Disease (USA), Enfermedad de Hansen oder Hanseniasis (Chile, Brasilien) oder Lazarine (Mexiko) bezeichnet [3, 11–14].

1.1 Erregereigenschaften

M leprae kommt in Wasser und Erde vor, auch saprophytär in Süßwasseramöben, und wächst am besten bei einer Temperatur von 27–32°C [3, 11]. Mykobakterien haben Mechanismen entwickelt, in Amöben die Zerstörung nach Phagozytose zu umgehen, und diese sind ebenso geeignet das Überleben in Makrophagen zu erlauben. Mykobakterien haben einen Zellwandaufbau, der den Nachweis der Bakterien nur mit der Ziehl-Neelsen-Färbung oder ähnlichen Verfahren zulässt. Die Wand besteht aus Schichten von Murein, Arabinogalactan, Mykolsäuren, Lipoarabinomannan und phenolischem Glykolipid 1 [11], die nur kleine Poren enthalten und dem Bakterium eine hohe Umweltresistenz, natürliche Antibiotikaresistenz und Resistenz gegenüber dem Abbau durch menschliche lysosomale Enzyme verleihen. Lipoarabinomannan und phenolisches Glykolipid 1 wirken immunsuppressiv [13]. Die Replikation von Mykobakterien ist langsam, mit einer Verdopplungszeit von etwa 16 h bei *M tuberculosis* und 12–14 Tagen bei *M leprae* [3, 15]. Diese Verdopplungszeit ist die längste bekannte Zeit eines humanpathogenen Bakteriums. Bisher kann *M leprae* nicht auf künstlichen Nährböden gezüchtet werden, weshalb für eine Vermehrung weiterhin das Mauspfoten-Modell oder die Inokulation von Gürteltieren notwendig sind [3, 11, 16, 17].

M leprae kann für einige Monate in primär infizierten humanen und murinen Makrophagen aus Hautläsionen bei 31–33°C kultiviert werden [18, 19]. Der Zusatz von Interleukin 10 (IL-10) zum Kulturmedium fördert das Wachstum der Bakterien [18].

Neben dem Menschen ist bisher nur das Neunbinden-Gürteltier (*Dasyurus novemcinctus*) als sog. natürlicher Wirt von *M leprae* bekannt [11, 17, 20, 21]. *M lepraemurium* kommt in Mäusen, Ratten und Katzen vor; es wird nicht auf den Menschen übertragen [22].

Genetische Variabilität von *M leprae*

Während der Millionen Jahre dauernden Evolution haben Mykobakterien Gene deletiert sowie über horizontalen Gentransfer oder über Phagen-Befall ihr genetisches Repertoire erweitert [23]. *M leprae* hat ein Genom von nur 3.3 Mb, welches zu einem Viertel aus Pseudogenen und zu einem weiteren Viertel aus nicht-kodierenden Regionen besteht – im Vergleich zu *M tuberculosis* mit einem Genom von 4.4 Mb und 9% nicht-kodierenden Regionen [24]. Die Zusammensetzung des genetischen Aufbaus und der SNP-Genotypen von *M leprae* hat sich seit dem Mittelalter nur wenig geändert [25, 26, 27–30].

Genotypen von *M leprae* und *M lepromatosis*

M leprae

Durch Vorliegen konstant exprimierter SNP, Multiple-Locus-Variable-Number-Tandem-Repeat Analyse und Homopolymerbereiche lässt sich *M leprae* in vier Genotypen einteilen, die in die Subtypen A bis P weiter unterteilt werden [25, 31, 32]. Durch die Einteilung in Genotypen kann die geschichtliche Verbreitung von *M leprae* und die Ausdehnung einzelner Stämme z. B. entlang der Seidenstraße nachverfolgt werden [25]. In Europa ist Genotyp 3 am häufigsten verbreitet, aber schon im Mittelalter war hier auch der asiatische Genotyp 2 vorhanden [25, 27, 30, 33].

M lepromatosis

M lepromatosis wurde erstmals im Jahr 2008 in Mexiko beschrieben. Es unterscheidet sich von *M leprae* im Genom zu etwa 10% und löste in den ersten beiden identifizierten Patienten eine diffuse lepromatöse Lepra aus [34, 35]. Die Pseudogene von *M leprae* und *M lepromatosis* unterscheiden sich zu etwa 18%. Erste Analysen ergaben 10 Millionen Jahre divergente Entwicklung der beiden Stämme

[35]. Bei Vergleich der Genomsequenzen von *M leprae* und *M lepromatosis* über Next Generation Sequencing (NGS) wurde berechnet, dass der Divergenzzeitpunkt über den MRCA (*most recent common ancestor*) beider Bakterien vor etwa 13,9 Millionen Jahren gewesen ist [36]. *M lepromatosis* scheint das ältere Bakterium zu sein [36]. In einer Studie waren von 87 mexikanischen Leprapatienten 55 mit *M lepromatosis*, 18 mit *M leprae* und 14 mit beiden Bakterien infiziert [37], was auf eine lange Koexistenz beider Stämme in dieser Region hinweist. *M lepromatosis* kann neben der diffusen lepromatösen Lepra auch das Lucio-Phänomen (siehe unten) auslösen [13, 38].

Stabilität und Inaktivierung

Im Boden von Bereichen, in denen Leprakranke in Indien leben, konnte *M leprae* über die 16sRNA nachgewiesen werden [29]. Im Süden der USA überlebten *M leprae* im Erdboden bis zu 8 Monate bei Umgebungstemperatur in Zysten von verschiedenen Amöben [39]. Die Stabilität von *M leprae* außerhalb des Körpers wurde in einer Studie in Indien untersucht [40, 41]. Ergebnisse zur verbleibenden Infektiosität nach thermischer und chemischer Behandlung erhielt man durch Inokulation des behandelten Materials, welches etwa 10^{6-8} Bakterien/ml enthielt, in Pfoten von immunsupprimierten Mäusen oder Nude-Mäusen (siehe [Tab. 1](#)).

Zur Inaktivierung von *M leprae* liegen wenige Publikationen vor, da sich das Bakterium nicht auf Nährböden oder in Nährmedien züchten lässt. Die Inaktivierungsraten von anderen Mykobakterien variieren zum Teil erheblich, auch wenn gleiche Mykobakterienstämme verwendet wurden [42]. Die Inaktivierung verläuft über die Zeit nicht linear, sondern verlangsamt sich, sog. *tailing* [42, 43], ein Phänomen, welches von der Inaktivierung von Viren bekannt ist. Folgende Daten zu Inaktivierungen bei Mykobakterien durch verschiedene Einflüsse sind bekannt:

Inaktivierung durch Hitze

M tuberculosis wird in flüssigem Medium bei 80°C für 20 min inaktiviert [44]. *M avium* subsp. *paratuberculosis* zeigte bei Behandlung bei 62,5°C für 10 min eine 3- bis 8-fache \log_{10} Reduktion abhängig davon,

Tab. 1 Überlebensfähigkeit von *M leprae* unter Umweltbedingungen und Inaktivierbarkeit durch Desinfektionsmittel und UV-Licht

	Zeit des Überlebens bis zu	Kommentar
Eintrocknen, ohne Sonnenexposition	5 Monate	
Sonnenlicht-Bestrahlung für 3 h täglich	7 Tage	
Feuchte Erde	46 Tage	
Kochsalzlösung 37°C	1 Tag	
Kochsalzlösung 20°C	5–7 Tage	Bereich: 20–30°C etwa 7 Tage
Kochsalzlösung 4°C	60 Tage	
Kochsalzlösung -70°C	28 Tage	
Desinfektionslösung, antiseptische Behandlung	30 Minuten	teils schneller ablaufend, nicht detailliert getestet
UV-Licht-Bestrahlung	30 Minuten	

welcher Stamm verwendet wurde (humane Stämme sind resistenter als Umweltstämme) [42]. In Milch wurde *M avium* subsp *paratuberculosis* mit einer Konzentration von etwa 10⁵/ml durch Kurzzeiterhitzung (Pasteurisierung) bei 72°C für 15 sec vollständig inaktiviert [45]. In wässriger Suspension wurden Schweineisolate von *M avium intracellulare* mit einer Konzentration von 10⁸/ml bei 65°C für 35 min und bei 70°C für 5 min inaktiviert [46]. *M kansasii* und *M avium* können durch photoelektrische Katalyse in Wasser inaktiviert werden [47]. Auf verendeten und dann vergrabenen Tieren bleibt *M avium* subsp *paratuberculosis*-DNA länger als 250 Tage nachweisbar [48].

Inaktivierung durch langkettige Fettalkohole

Durch Zugabe von 1-Decanol und 1-Decen-9-ol in einer Konzentration von 8 mg/ml zu Kulturplatten konnten *M smegmatis* und *M tuberculosis* mit einer Dichte von etwa 10⁵ colony forming units (CFU)/ml erheblich im Wachstum gehemmt werden. Nieder- oder höher-C-kettige Alkohole waren weniger effektiv [49].

Inaktivierung durch UV-Licht-Bestrahlung

M leprae verhielt sich bei Inaktivierung durch UV-Licht-Bestrahlung wie *M tuberculosis*, d. h. bei Bestrahlung mit 3,5 mJ/cm² (Millijoule pro cm²) wurden 50% und bei 7,7 mJ/cm² 84% der Bakterien abgetötet. Bei der Inaktivierung durch UV-Licht mit einer Wellenlänge von 405 Nanome-

ter (nm) verhält sich *M leprae* wie andere Bakterien [43, 50].

Inaktivierung durch Gamma-Strahlen

In einer Suspension von *M leprae* wurde die Vermehrungsfähigkeit nach γ -Bestrahlung für 15 Minuten im Mauspfoten-Test geprüft. Bestrahlung mit 10³ bis 10⁴ rad (*radiation absorbed dose*) ergab eine Reduktion der Infektiosität von etwa 90%; Bestrahlung mit 10⁵ oder 10⁶ rad tötete *M leprae* ab [51]. 100 rad entsprechen 1 Gy (Gray).

1.2 Infektion und Infektionskrankheit

Der Mensch ist Hauptreservoir für *M leprae*, das Bakterium kann aber auch auf Primaten und das Gürteltier (Armadillo) übertragen werden oder, wie in den USA berichtet, zoonotisch vom Gürteltier auf den Menschen [21, 22, 52]. Gürteltiere sind im Südosten der USA regional unterschiedlich, aber bis zu etwa 16% mit *M leprae* infiziert [53]. Als weiteres Tierreservoir wurde 2014 in Schottland das braune Eichhörnchen identifiziert, welches mit einem *M lepromatosis* infiziert ist. Dieses ist mit dem in Mexiko zirkulierenden Stamm in der Nukleinsäure-Sequenz zu 99% homolog [54].

Eine Mensch-zu-Mensch-Übertragung vom multibazillären Patienten ist 4–11 Mal häufiger als die von paucibazillären Infizierten [55]. Eintrittspforte von *M leprae* ist die Nasenschleimhaut und nicht-intakte Haut, wo die

erste Vermehrungsphase in Histozyten und Makrophagen erfolgt. Der genaue Übertragungsweg von Schmier- oder Tröpfcheninfektion ist nicht völlig aufgeklärt. Dies ist durch die lange Inkubationszeit und die Unmöglichkeit *M leprae* auf Nährböden zu züchten begründet. Jedoch kann das Bakterium über die PCR in Biopsien von Nasenschleimhaut, Haut, Nerven, Haarwurzeln und in Lymphe und Blut nachgewiesen werden [3, 56–58]. In Proben von Personen mit Ansteckungsrisiko, d. h. Haushaltskontaktpersonen, die eng mit einem Leprakranken zusammenleben, waren in Brasilien bei 1,7% (2 von 120) das Nasensekret und bei 1,7% (2 von 119) venöse Blutproben PCR-positiv [56, 57, 59]. Bei 90% der Leprapatienten lässt sich häufig eine Bakteriämie nachweisen [3]. In Makrophagen der Iris des Auges und in Nervenzellen persistiert *M leprae* über Jahre [11, 60].

M leprae-DNA konnte im Blut 6–8 Jahre nach Beenden einer Lepratherapie nachgewiesen werden [61]. Gründe für die noch bestehende Bakteriämie von *M leprae* könnten folgende sein: Freisetzung der Bakterien aus Gewebe nach unzureichender Therapie (z.B. bei Medikamentenresistenz), unzureichender Medikamentenkonzentration (z.B. in Lipidvesikeln) oder Re-Infektion nach erneuter Exposition.

Für die Mensch-zu-Mensch-Übertragung ergibt sich folgender Infektionsweg: *M leprae* wird über die Nasenschleimhaut oder selten über nicht-intakte Haut aufgenommen [59, 62]. *M leprae* kann außer durch Aerosol und Schleimhautkontakt auch durch Blutinokulation, durch Stillen, zoonotisch und durch Insektenstich übertragen werden [13, 63]. Nach mehreren Wochen oder Monaten der lokalen Vermehrung in Makrophagen wird der Erreger mit diesen Zellen hämatogen im Körper verbreitet [3, 64]. In infizierten Makrophagen bilden sich vergrößerte, blasige, mit Lipid gefüllte Phagosomen, die dann als Schaumzellen bezeichnet werden, in denen *M leprae* überlebt und sich vermehrt. In den Makrophagen wird das Mykobakterium über das Blut auch zum Nerven transportiert, wo nach langer Verzugszeit die Schwann-Zellen infiziert und zerstört werden [3, 65]. Durch Einwandern von Entzündungszellen ver-

dickt sich der Nerv, verliert einen Teil seiner Funktion und ist häufig in der Haut oberflächlich sichtbar. Die Entzündungsreaktion im Nerven beruht teilweise auf Autoimmunität (molekulare Mimikry zwischen dem ribosomalen Protein L2 und der Lysyl-t-RNA-Synthetase des Bakteriums und dem Myelin-basischen Protein) [66]. Die motorische und sensorische Funktion der Nerven erlischt schließlich ganz. Durch die daraus resultierende mangelnde Sensibilität kommt es zu Verletzungen und dadurch dauerhaft zu Verstümmelungen. In der Haut fällt erst die Funktion der Schweißdrüsen, dann die der Talgdrüsen aus; schließlich werden auch die Haarwurzeln nicht mehr ernährt, und es kommt zum typischen Bild der Pergamenthaut mit Alopezie [13, 65]. Die Nerven innerer Organe sind seltener betroffen, da *M leprae* seine optimale Wachstumstemperatur im Menschen bei etwa 32°C hat (Bereich 30–33°C) [1, 11, 24].

Inkubationszeit

Sie ist die längste für ein Bakterium bekannte Inkubationszeit im Menschen und beträgt durchschnittlich 3–7 Jahre [1], kann aber auch bis zu 20 Jahre betragen [13, 67]. In experimentell infizierten Schimpansen traten erste lepröse Symptome erst 30 Jahre nach Inokulation auf [52]. Durch die langsame Vermehrung von *M leprae* werden typische Mediatoren der Entzündung wie z. B. Zytokin-Freisetzung, Aktivierung der Kaskade des Komplement-Systems, Phagozytose, Induktion zytotoxischer T-Lymphozyten und Synthese neutralisierender Antikörper unzureichend stimuliert. Deshalb werden die Bakterien nur teilweise eliminiert und ein chronischer Verlauf wird induziert.

Klinische Symptome der Lepra

Abhängig von der Reaktion des Immunsystems bilden sich kleine Granulome in der Haut oder Subkutis aus, die abheilen oder ulzerieren können [13, 68]. Mit der Verteilung der Mykobakterien über Blut und Lymphe im Körper und der Zeitdauer der Infektion bilden sich verschiedene typische Symptome aus wie: hypopigmentierte Hautareale mit Hypo- oder Asensibilität, annuläres Exanthem, Granulome teils als Knötchen in verschiedener Grö-

ße, ödematöse Plaques (z. B. der Augenlider oder im Gesicht), Schwellung und Verdickung von Hautnerven (mit Funktionsverlust), Verstümmelung von Fingern, Zehen, der Nasenscheidewand infolge des Sensibilitätsverlustes, Vernarbungen der Haut bis hin zu der typischen *Facies leonina* (synonym: *Facies leontina*, *Facies leprosa*) oder bei einer Typ-2-Reaktion das Erythema nodosum lepromatosum [14, 24, 69–71]. Verstümmelung der Zehen und Induration des *Nervus medianus* sind in **Abb. 1** gezeigt.

Am Auge lassen sich anfangs verminderte pupilläre Reaktion und Akkommodation erkennen. Schließlich sind typische Zeichen: permanente Lidschwellung, Madarose (Verlust der Augenbrauen und Wimpern), Ptosis durch Befall des III. Hirnnerven (*N oculomotorius*), Ektropium durch Befall des VII. Hirnnerven (*N facialis*), seltener Lidschlag und Lagophthalmus (Unfähigkeit das Auge zu schließen), was zur Eintrübung (*opacification*) der Kornea und zu Blindheit führt. Typisch ist auch die Trockenheit der Bindehaut durch Erliegen der Follikelfunktion im Lid (Trichiasis). Der bakterielle Nachweis bleibt an der Bindehaut jahrelang negativ. In Makrophagen der Iris kann *M leprae* für Jahre proliferieren ohne von Zellen des Immunsystems oder von Antibiotika erreicht zu werden [60].

Krankheitsverlauf und genetisches Repertoire des Menschen

Das klinische Bild der Lepra variiert stark und wird daher in verschiedene Typen eingeteilt. Diese sind auf der einen Seite der tuberkuloide Typ (Typ-1-Reaktion) (nach Literatur der eine Pol [72]) und auf der anderen Seite der aggressiv lepröse Typ (Typ-2-Reaktion). Das klinische Bild wird durch die angeborene (*innate*) und die erworbene zelluläre Immunität des Wirtes bestimmt [3, 11, 14, 73]. Etwa 95% der Exponierten erkranken nicht an Lepra [12, 70]. Folgende genetische Faktoren des Menschen beeinflussen den klinischen Verlauf durch Erhöhung der Suszeptibilität: Der Polymorphismus des Interleukin-10 (IL-10)-Promotors [74], Regionen auf dem Chromosom 6 wie PARK2/PCRG, Parkin, Lymphotoxin alpha und HLA-DR-DQ SNP rs602875 [70, 75], Polymorphismus des Toll-like-Rezeptors 1

(TLR-1) [76], Polymorphismus des NOD2 (*nucleotide-binding oligomerization domain containing 2*) [77]. PARK2 (*parkin RBR E3 ubiquitin protein ligase*) oder bezeichnet als PINK1 [78] fungiert wie ein Tumorsuppressor, und verschiedene Mutationen (SNP) im PARK2-Gen beeinflussen den Verlauf der Lepra [79]. TLR-2 und TLR-6 dienen dem Eintritt von *M leprae* in die Zelle [64]. Die Aktivierung einer T-Helferzell-Typ-2 (Th2)-Antwort wird über die Beteiligung von TLR1 und TLR2 gesteuert [80].

Eine zusammenfassende Darstellung des Beitrages der humanen Gene, die den Verlauf der Lepra beeinflussen, findet sich bei Zang et al., 2009 [81]. Nach dieser Arbeit ist der Einfluss des HLA-Typs [75] für den Verlauf der Krankheit fraglich, jedoch scheint HLA-E für die T-Lymphozyten-Antwort Bedeutung zu haben [82]. Eine HLA-Assoziation wurde wiederholt für die Ausbildung des paucibazillären oder multibazillären Status beschrieben [83].

Das klinische Bild und der Verlauf der Lepra hängt, wie oben erwähnt, wesentlich von der initialen Immunantwort ab, die genetisch gesteuert ist. Die klinische Symptomatik ist nicht starr und kann periodisch von einem zum anderen Stadium wechseln [3, 82, 84, 85].

Tuberkulöses Stadium (TT), bei dem wenige Bakterien freigesetzt werden und die Progression über Jahre nur langsam fortschreitet. Jedoch kann auch eine TT-Reaktion mit schneller und schwerer Zerstörung der Nerven verbunden sein [14, 24].

Intermediäre Stadien (I) sind BT (*borderline tuberkuloid*), BB (*mid borderline*) und BL (*borderline lepromatös*). Ausgelöst wird das Bild der intermediären Stadien von einer Typ-1-Reaktion (*delayed type hypersensitivity*) durch die zelluläre Immunreaktion gegen mykobakterielle Antigene, die zu einer Verbesserung des Zustandes, sog. *reversal reaction*, oder Verschlechterung, sog. *degradation reaction*, führen können [3]. Unter erfolgreicher Tripel-Therapie können Patienten mit intermediären Stadien das Bild eines TT-Stadiums erreichen.

Lepromatöses Stadium (LL) – lepromatöse Lepra: Das Krankheitsbild ist durch Chronizität und langfristige Komplikationen gekennzeichnet, mit einer



Abb. 1 ▲ Linker Arm und Füße eines Leprapatienten aus Kongo-Kinshasa. Links: Unterarm mit Verdickung des *N medianus*. Rechts: Verstümmelte Zehen und pergamentartige Haut im Bereich der Unterschenkel

© Prof. Dr. Lutz Gürtler, 1988. Mit freundlicher Genehmigung

Freisetzung von vielen Bakterien (multibazillär). Das vorherrschende kutane Symptom ist das Erythema nodosum leprosum, ausgelöst durch eine humorale Immunität bei mangelnder zellulärer Immunität (Typ-2-Reaktion). Antikörper und zerstörte Bakterien bilden Immunkomplexe, die sich im Gewebe und auch in den Gefäßen ablagern [3, 13]. Innerhalb des Endothels der Gefäße kann sich eine nekrotisierende Vaskulitis ausbilden, das sogenannte Lucio-Phänomen [13, 86]. Allgemeine Symptome einer Typ-2-Reaktion sind Fieber, Abgeschlagenheit, Muskelschmerzen, Ödeme, Arthritis und Lymphadenopathie [3, 14].

Einteilung der Lepraläsionen in klinische Stadien [3]

Die WHO-Einteilung ist nur historisch betrachtet zu verstehen und weiterhin uneinheitlich, weil z. B. klinische Symptomatik und WHO-Schema nicht zusammenpassen, oder weil neue Methoden wie die PCR eine schnellere und exaktere Diagnostik erlauben.

Madrid-Klassifikation: Sie wurde 1953 etabliert, beruht auf dem polaren Schema von Rabello von 1936 [72] und orientiert sich an dem klinischen Bild und dem färberischen Nachweis von *M leprae* in Abstrichen von Haut-Läsionen. Es gibt zwei Pole, tuberkuloid (TT) und lepromatös (LL), und dazwischen instabile, wechselnde (*borderline*) Stadien.

Ridely-Jopling-Klassifikation von 1962/1966: Sie besteht aus fünf Stadien, TT und LL als definierte Bilder der Präsentation der Krankheit und den Intermediärstadien, die in BT, BB und BL unterteilt werden. Die Einteilung beruht auf

klinischen, immunologischen und histopathologischen Kriterien [87, 88].

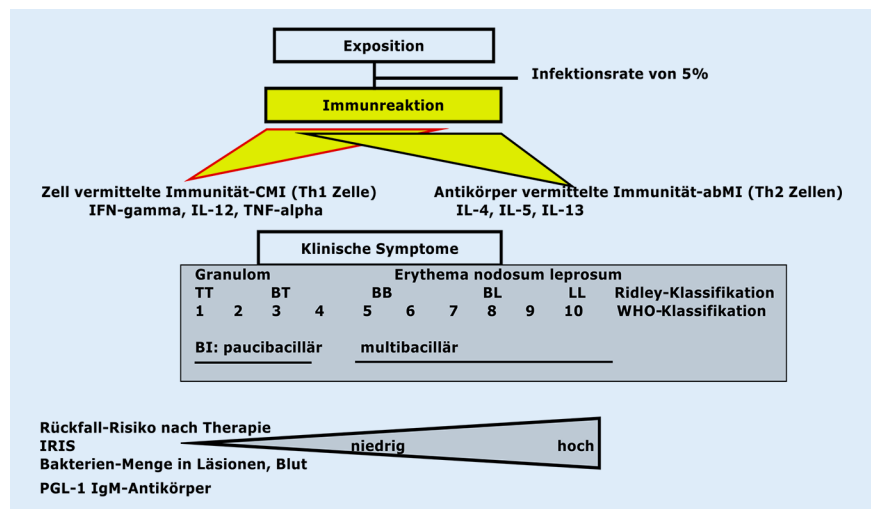
WHO-Klassifikation von 1982: Die WHO-Klassifikation teilte Lepra in zehn Stadien ein (1 bis 10, Stadium 1 entspricht dem TT, Stadium 10 dem LL); dies ließ sich jedoch in der Praxis schlecht anwenden. Die Stadien sind paucibazillär – mit bis zu drei (oder teils bis zu fünf) Läsionen und multibazillär mit 4 oder 6–10 und mehr Läsionen (siehe ▣ **Abb. 2**). Das Stadium paucibazillär beschreibt z. B. drei Läsionen an verschiedenen Stellen des Körpers mit Schwellung, Hypopigmentierung, Hyperpigmentierung oder Anästhesie. Immunologisch liegt eine Typ-1-Reaktion vor. Zu multibazillär gehört auch das Erythema nodosum leprosum, welches, wie erwähnt, immunologisch durch

eine Typ-2-Reaktion gekennzeichnet ist (Abbildung 2) und Spätkomplikationen wie Iritis, Neuritis, verdickte oberflächliche Nerven ohne Funktion, Lymphadenopathie, Orchitis bis zur Arthritis beinhaltet. Zusätzlich gibt es den Bakterien-Index (*bacterial index* – BI) anhand der in der Ziehl-Neelsen-Färbung mikroskopisch nachweisbaren Bakterienmenge in den Läsionen, der mit <2+ als paucibazillär und mit ≥2+ als multibazillär definiert ist, unabhängig von der Anzahl der Läsionen. Klinisch werden die Stadien TT und BT zu paucibazillär eingruppiert und die Stadien BB, BL und LL zu multibazillär, teilweise jedoch in einigen Fällen auch das Stadium BT. Nachdem in Lepra-endemischen Regionen die Ausstrichfärbung und mikroskopische Auswertung nicht an jedem Ort verfügbar ist, kann der BI nicht immer bestimmt werden und führt teilweise zur Rückkehr zu der Ridley-Jopling-Klassifikation [3].

Die Bestimmung von anti-PGL-1-IgM im Blut von Patienten führte nicht zu einer Verbesserung der Einteilung, da diese Antikörper teils nicht vorhanden sind, teils eine schnelle Umstellung auf IgG erfolgt und teils der Test nicht verfügbar ist [3].

Differentialdiagnose

Differentialdiagnostisch sind verschiedene Krankheitsbilder dem Bild der Lepra ähnlich. Hautschwellungen werden auch



© Prof. Dr. Lutz Gürtler

Abb. 2 ▲ Schema der Pathogenese von *M leprae*, Einfluss der Immunantwort und Einteilung in unterschiedliche Stadien, wie von Ridley und Jopling (TT bis LL) [87, 88] und der WHO (1–10) vorgeschlagen. Darstellung in Anlehnung an das Schema von Spierings et al., 2000 und Worobec, 2009 [70]. BI – *bacterial index*, IFN – Interferon, IL – Interleukin, PGL-1 – antiphenolisches Glykolipid 1

beim Myxödem, Alopezie (einschließlich der Wimpern und Augenbrauen) und Knochenzerstörung bei Syphilis gefunden. Nekrotisierende Vaskulitis, wie beim Lucio-Phänomen, findet sich bei akuter kutaner Vaskulitis, beim Anti-Phospholipid-Antikörper-Syndrom und bei systemischer Autoimmunreaktion [13]. Weitere der Lepra ähnliche Bilder werden gesehen z. B. bei Vitiligo, Pityriasis, Tuberkulose, Sarkoidose, Psoriasis, Lupus erythematodes, Mycosis fungoides, Leishmaniose und Granuloma annulare [3].

Pathogenese

Die bei der Lepra auftretenden Schaumzellen wurden erstmals von Virchow 1863 beschrieben [89]. Schaumzellen sind Lipid-Vesikel enthaltende Makrophagen, die von *M leprae* nach Eintritt über die TLR-2 und TLR-6 infiziert wurden. Das sich ausbildende Phagosom wird durch bakterielle Enzyme so verändert, dass sich Lipide anreichern, die nur intrazellulär wachsen. Darin vermehren sich *M leprae* und nutzen das Lipid als Energiequelle für den Kohlenstoff-Stoffwechsel [11]. Weitere lipidhaltige Organellen werden vom Endoplasmatischen Retikulum abgeschnürt. Sie werden als Lipidkörperchen oder Lipidtröpfchen bezeichnet und geben den Schaumzellen das charakteristische Aussehen. Das Lipid besteht aus Cholesterin, Triacylglycerol und weiteren Komponenten [64, 90]. Aus den Lipiden wird vom *M leprae* unter anderem das phenolische Glykolipid 1 (PGL-1) gebildet. Ferner wird aus den Lipiden Prostaglandin E2 (PGE2) synthetisiert, wel-

ches freigesetzt die angeborene Immunität supprimiert und dadurch dauerhaft das Bakterienwachstum fördert. Eine weitere Immunsuppression wird durch die Neusynthese von Interleukin 10 (IL-10) induziert. Schließlich wird aus den Lipiden, besonders der Eicosapentaensäure, Leukotrien B4 (LTB4) und Lipoxin A4 und B4 (LXA4, LXB4) gebildet, die im Gewebe zu Zellnekrose führen und dadurch die Bakterienfreisetzung fördern [64]. In den Lipidorganellen kann *M leprae* schwer von den Antibiotika erreicht werden, was wiederum neben der sehr langsamen Replikation zu einer langen Persistenz der Mykobakterien im Organismus führt. Die Lipophilie von *M leprae* ist, wie oben erwähnt, ein Grund für den frühen Befall der Schwann'schen Scheide der Nervenzellen [64, 65, 90].

IRIS – immune reconstitution inflammatory syndrome

Durch eine Tripeltherapie wie mit Dapson, Clofazimin und Rifampicin wird die Produktion von Bakterien reduziert oder beendet. Bakterielle und zelluläre Faktoren, die die Immunreaktion unterdrückt haben, werden somit nicht mehr synthetisiert und die Funktionen des Immunsystems erholen sich. Als Folge der Therapie tritt häufig eine Verschlimmerung der Symptome auf, wie Verdickung und Funktionsverlust von Nerven oder Hyperpigmentierung befallener Hautareale [91, 92]. Die pathophysiologische Grundlage von IRIS bei Lepra dürfte ähnlich der von IRIS bei Behandlung der HIV-Infizierten sein [92].

Meldepflicht

Nach § 7 des Infektionsschutzgesetzes ist der indirekte und direkte Nachweis von *M leprae* namentlich meldepflichtig.

1.3 Epidemiologie

Zur Zeit von Hansen galt Lepra als Krankheit der Armen und als unheilbar [10]. Weltweit sind heute etwa 4 Millionen Menschen an Lepra erkrankt. Die von der WHO veröffentlichten Daten von jährlichen Neuinfektionen zeigen einen geringen Rückgang an, jedoch bleibt Lepra in Indien, Indonesien, Mexiko und Brasilien

hyperendemisch [93]. Weitere von Lepra betroffene Staaten in Afrika und Asien sind: Äthiopien, Angola, Kamerun, Kenia, Kongo, Mosambik, Nigeria, Sierra Leone, Sudan, Tansania, Uganda, China, Nepal, Neuguinea (Ost-Timor) und die Philippinen.

Die von der WHO veröffentlichten Fallzahlen (neue aufgetretene Fälle weltweit) sind in **Tab. 2** dargestellt [94, 95]:

Daten zur Prävalenz und zur Inzidenz (*new case detection rates*) sind nur für einzelne Länder verfügbar. Europäische Länder haben keine endemischen Fälle gemeldet [95]. Ein unter Behandlung stehender oder behandelter Patient gilt nach WHO-Angaben als leprafrei und wird aus der weiteren Zählung ausgeschlossen.

Das wiederholt verschobene Ziel der WHO Lepra zu eliminieren konnte bisher nicht erreicht werden [2, 93]. Nach der WHO-Definition gilt Lepra bei einer Inzidenz von <1 pro 10.000 Einwohner als eliminiert [2]. Die von der WHO verwendeten Daten sind auch deswegen unzuverlässig und schwer zu werten, da eine versteckte Prävalenz in jeder endemischen Population vorhanden ist. Diese ist bedingt durch die lange Inkubationszeit und den Wegfall von Patienten, die therapiert werden. Therapierte multibazilläre Patienten zeigen eine Rückfallrate von etwa 10% [1]. Daraus ergibt sich, dass die Prävalenz kaum zu berechnen ist und wesentlich vom Sozialstatus der Infizierten, wie etwa Haushalt mit fließendem Wasser, Zugang zu und Vorhandensein regionaler medizinischer Betreuung, abhängt [2, 93, 96].

Neue Leprafälle treten in der Altersgruppe der unter 15-Jährigen am häufigsten auf. In einer untersuchten hyperendemischen Amazonasregion, mit einer Prävalenz von 20,4/100.000 gegenüber 5,8/100.000 im Durchschnitt für Brasilien, zeigten 4% (36 von 1592 untersuchten Patienten) klinische Zeichen von Lepra, während bei 48% Hinweise auf eine Exposition gefunden wurden (anti-PGL-1-IgM positiv bei 777 von 1592 untersuchten Patienten) (siehe 1.4). Von den anti-PGL-1-IgM-positiv gefundenen Jugendlichen wurden Haushaltskontakt-Personen untersucht, von denen wiederum 9,4% klinische Zeichen von Lepra hatten. 71% der

Tab. 2 Meldungen neu aufgetretener Lepra-Fälle weltweit

Jahr	Lepra-Fälle
2001	775.000
2003	515.000
2005	299.000
2007	258.000
2009	245.000
2010	228.000
2011	227.000
2012	233.000
2013	215.557

Tab. 3 In Deutschland gemeldete jährliche Erkrankungen an Lepra

Jahr	Anzahl	Jahr	Anzahl	Jahr	Anzahl
2001	3	2006	2	2011	2
2002	1	2007	0	2012	5
2003	4	2008	1	2013	1
2004	2	2009	2	2014	2
2005	2	2010	2	2015	0

neu gefundenen Fälle waren paucibazillär [93]. In einer Studie aus Nordost-Brasilien wurden Haushaltskontakt-Personen von Leprapatienten mit dem PGL-1-Antigen und der *M leprae*-PCR untersucht [58]. PGL-1-Antigen wurde in 14% (113 von 808) gefunden. Der Nachweis von *M leprae*-DNA war bei 5,6% (45 von 808) in der Mundschleimhaut und bei 4,6% (37 von 808) in der Nasenschleimhaut positiv. Aus einer umschriebenen Region in Kamerun wurde eine ähnlich hohe Prävalenz wie in Brasilien von 131/10.000 Schülern berichtet [97].

Eine Schlussfolgerung dieser Studien ist, dass eine regionale Häufung typisch ist und eine klinische Manifestation nur bei etwa 5–20% der Infizierten erfolgt [70, 93].

Wie in den zitierten Studien gefunden, war die Infektionsrate bei Mädchen/Frauen im Amazonasgebiet höher als bei Jungen/Männern und niedriger in Haushalten mit höherem Einkommen [93, 98]. Andere Studien können keine Unterschiede in der Geschlechtsverteilung bei Leprakranken finden [99]. Die *M leprae*-Übertragung ist abhängig von der Bakterienmenge in der Schleimhaut und Haut der infizierten Kontaktpersonen [99]. Über die Bestimmung der SNP-Genotypen von *M leprae* können wie oben erwähnt sowohl Infektionswege, z. B. über traditionelle Handelsrouten [9], fokale Ausbrüche [28, 100] als auch der Ursprung der Lepra-Infektion bestimmt werden [30]. Die durch HIV bedingte Immunschwäche scheint weder die Schwere des Verlaufes noch die Verbreitung der Lepra zu beeinflussen [101].

Gemeldete Fälle von Lepra in Deutschland [102, 103] sind in **Tab. 3** zusammengefasst. Von den fünf gemeldeten Fällen im Jahr 2012 war das Ursprungsland in zwei Fällen Brasilien und je einmal Indien, Kenia und Myanmar (Burma). Die im

Jahr 2013 gemeldete eine Infektion wurde in Äthiopien erworben. Im Jahr 2014 wurden zwei importierte Lepra-Fälle gemeldet, die in Bangladesch und Pakistan erworben wurden [104]. In 2015 wurde kein Fall übermittelt [105].

1.4 Nachweismethoden und Aussagekraft

Direkter Erregernachweis

Die Ziehl-Neelsen-Färbung ist weiterhin eine gut geeignete Methode für den Nachweis von Mykobakterien in Abstrichen von Läsionen wie Ulkus oder Granulom [106]. Diese Färbung kann auch in entlegenen Regionen bei Vorhandensein von Mikroskop und Erhitzungsmöglichkeit durchgeführt werden [10, 84]. Im Gegensatz dazu kann die Auramin-Rhodamin-Färbung nur mit einem Fluoreszenzmikroskop in einem abgedunkelten Kompartiment ausgewertet werden. Bei paucibazillären Patienten ist der mikroskopische Nachweis im WHO-Stadium 1 bis 3 zu wenig sensitiv [24]. Die Sensitivität des mikroskopischen Nachweises liegt bei etwa 10^4 bis 10^5 Bakterien pro ml. *M leprae* färbt sich weniger intensiv an als *M tuberculosis* [68].

Genom-Nachweis

Die Polymerase-Ketten-Reaktion (PCR) hat sich als bedeutende Methode etabliert, um den diagnostischen Nachweis von *M leprae* in Haut- und Schleimhaut-Läsionen zu führen. Ferner wird sie mit gutem Erfolg für die Identifikation von infizierten Kontaktpersonen und für das Beurteilen des Erfolges und der weiteren Dauer einer Tripeltherapie benutzt. Die PCR in Abstrichen von Gewebeläsionen bleibt über viele Monate positiv, auch wenn die Mykobakterien z. B. nach Therapie abgestorben sind [24].

Patrocínio beschrieb eine PCR-Methode für den Lepra-Mykobakterien-Nachweis aus Biopsien der Nasenschleimhaut durch ein 372-bp-Amplifikat [59]. Die PCR war positiv bei 92% (34/36) der multibazillären Patienten, bei 17% (3/18) von Ziehl-Neelsen-Ausstrich-negativen Biopsien und bei 10% (10/99) von Kontaktpersonen [59]. Abhängig von der Selektion der Primerbindungsregion ergibt sich eine unterschiedliche Sensitivität [11, 25, 107, 108, 109]. PCR und anschließende Sequenzierung des Amplifikats sind geeignet um fokale Ausbrüche zu identifizieren [30, 100].

Serologischer und zellgebundener Nachweis

Das phenolische Glykolipid 1 (PGL-1) ist Bestandteil der *M leprae*-Zellwand und hoch immunogen. Über ELISA sind IgM-Antikörper gegen PGL-1 bei leptomatöser Lepra (LL) hochtitrig nachweisbar, bei tuberkulöser Lepra (TT) seltener [10, 110]. Über einen anti-PGL-1 Lateral Flow Kassetten-Test (horizontale Immun-Chromatographie) können Patienten mit LL identifiziert und einer zügigen Therapie zugeführt werden [110, 111]. Ebenso kann über den quantitativen Nachweis von anti-PGL-1 bei multibazillären Leprapatienten die Dauer der Therapie bestimmt werden, wenn diese PGL-1-Antikörper niedrigtitrig oder nicht mehr nachweisbar werden. Der Lateral Flow Kassetten-Test hat eine Sensitivität von etwa 97% und eine Spezifität von etwa 90% und kann in 10 Minuten durchgeführt werden [110]. Eine ähnliche Aussagekraft hat ein weiterer Test, der mit dem 35kD-Antigen von *M leprae* durchgeführt wird [112]. Ferner wurde für die anti-PGL-1-Bestimmung ein Agglutinationstest entwickelt [113]. Peptid-Teste, die von Proteinen der Lepra-Mykobakterienwand abgeleitet wurden, erreichen selten die Sensitivität des anti-PGL-1-Tests [114].

Der Lepromin-Hauttest wurde 1919 von Mitsuba entwickelt. Ähnlich wie der Tuberkulin-Test bei der Tuberkulose erlaubt dieser eine Aussage über die zellgebundene Immunität [112]. Eine Frühreaktion mit Erythem- und Infiltrat-Bildung wird nach ca. 72 Stunden abgelesen und ist nach Fernandez benannt. Die Spätreaktion mit Granulom- und Ulkus-Bildung

nach ca. 2–5 Wochen ist nach Mitsuba benannt. Der Lepromin-Test hat Bedeutung bei Patienten, die nach Therapie einen Rückfall zeigen [10]. Die Brauchbarkeit des Tests ist abhängig davon, ob die Personen mit Bacillus Calmette-Guérin (BCG) geimpft wurden, sowie von der Potenz der zellulären Immunreaktion, die beeinflusst wird z. B. von der immunsuppressiven Wirkung von *M leprae*-Zellwandkomponenten, dem Ernährungszustand etc. Der Test hat nur eine Sensitivität von etwa 25% und wird somit selten verwendet [11, 115].

Gamma Interferon release assay: Werden Peptide konfektioniert, die HLA-bindende Proteinmotive enthalten, kann über eine Peptid-bedingte T-Lymphozyten-Stimulation und anschließende gamma-Interferon (IFN- γ) Freisetzung (sog. IFN- γ release assay) ein sensitiver Test zur Bestimmung der Immunantwort gegen *M leprae* etabliert werden [108]. Kommerziell steht dieser Test nicht zur Verfügung.

Eine wesentliche Einschränkung einer möglichen Diagnostik von Lepra ist, dass die typischen Zeichen der Infektion anhand des klinischen Bildes zu spät festgestellt werden [116].

Tiermodelle

Nachdem *M leprae* nicht auf künstlichen Nährböden gezüchtet werden kann, sind für einen sensitiven Nachweis vor Einführung der NAT zwei Tiermodelle etabliert worden. Natürlicher Wirt von *M leprae* ist das Neunbinden-Gürteltier (Armadillo – *Dasyus novemcinctus*), welches von den Anden bis in den Süden der USA verbreitet ist [20, 53]. Das Gürteltier ist mit etwa 10% Durchseuchung in Endemiegebieten sowohl der natürliche Überträger [53, 117] als auch für die Inokulation von infektiösem Material und die Messung einer aufkommenden Immunantwort geeignet [17, 118].

Ein weiteres Tiermodell für den Nachweis von *M leprae* ist die Maus, in der etwa 10 Bakterien unter Kortisongabe (1 mouse infectious unit – 1 MID) zur Infektion führen können [15]. Der Mauspfoten-Test wurde früher zur Bestimmung der Medikamenten-Resistenz verwendet [119]. Die Nude (Nackt)-Maus (nu-/nu-) kann ohne Immunsuppression verwendet werden [11].

2 Blut- und Plasmaspender

2.1 Prävalenz und Inzidenz in Spenderkollektiven

Ergebnisse zur Wertigkeit der Untersuchung auf anti-PGL-1 oder Präsenz von *M leprae* über die NAT in Blut- und Plasmaspendern in Deutschland liegen nicht vor. Die Prävalenz und Inzidenz bei potenziellen Blutspendern in Endemiegebieten sollten den dort erhobenen epidemiologischen Daten der Allgemeinbevölkerung entsprechen (siehe unter 1.3). Da Lepra in Deutschland nicht endemisch ist und jährlich weniger als 10 importierte Neufektionen in Deutschland gemeldet werden, ist anzunehmen, dass die Prävalenz und Inzidenz der Infektion in der Spenderpopulation gleich null sind.

2.2 Definition und Ausschlusskriterien

Lepra verläuft häufig mit Fieberschüben und Nachtschweiß. Aufgrund dieser Symptome können Spender ausgeschlossen werden. Ferner kann die Leprainfektion an den typischen Hauteffloreszenzen erkannt werden oder anamnestisch eruiert werden, wenn Risikokontakt zu einer leprösen Person besteht oder bestanden hat oder der Spender aus einer Endemie-region stammt [57]. Da Lepra eine jahrelange Inkubationszeit hat und nach Therapie eine Rezidivrate von etwa 10% aufweist, werden alle Personen, die Lepra haben oder hatten, von der Blut- und Plasmaspende dauerhaft ausgeschlossen.

2.3 Spendertestung und Aussagekraft

Eine Testung der Spenden auf Vorhandensein einer Infektion mit *M leprae* wird in Deutschland aufgrund der epidemiologischen Situation nicht vorgenommen, sie ist aber grundsätzlich über serologische Tests wie anti-PGL-1 und molekularbiologisch über die NAT möglich. Unter 1007 Blutspendern einer Endemie-region in Brasilien wurde bei 3,8% (38 von 1007) anti-PGL-1-IgM und bei 0,3% (3 von 1007) *M leprae*-DNA nachgewiesen. Nach fünf Jahren hatten 15,8% (6 von 38) der anti-PGL-1-IgM-positiven und einer

der drei DNA-positiven Blutspender klinische Zeichen von Lepra [57].

Eine Einschränkung der NAT ist, dass aufgrund der undulierenden Bakteriämie die *M leprae*-NAT im Blut nur zeitweise positiv ist; daher ist die NAT bei negativem Testergebnis wenig aussagekräftig. Der anti-PGL-1-Test oder weitere Antikörperteste gegen Komponenten der Bakterienzellwand sind bei tuberkulöser Lepra häufig negativ und daher zur Entscheidung über den Ausschluss eines Spenders ebenfalls wenig geeignet.

2.4 Spenderbefragung

Der Spender/die Spenderin wird vor der Spende zu einer möglichen Lepraerkrankung befragt. Die typischen Hautsymptome [14] würden bei der orientierenden körperlichen Untersuchung auffallen.

2.5 Spenderinformation und -beratung

Eine eingehende Information und Beratung zu Lepra kann bei Bedarf von infektiologischen und/oder tropenmedizinischen Zentren gegeben werden.

3 Empfänger

3.1 Prävalenz und Inzidenz von Blut-assoziierten Infektionen und Infektionskrankheiten in Empfängerkollektiven

Über die Häufigkeit von Lepra in der deutschen Allgemeinbevölkerung liegen keine Untersuchungen vor; vereinzelte Fallberichte von importierten Infektionen sind im *Epidemiologischen Bulletin* des Robert Koch-Instituts (RKI) publiziert, z. B. auch im Infektionsepidemiologischen Jahrbuch meldepflichtiger Krankheiten des RKI. Prävalenz und Inzidenz sollten für Spender und Empfänger gleich niedrig sein (siehe 2.1).

3.2 Abwehrlage (Resistenz, vorhandene Immunität, Immunreaktivität, Alter, exogene Faktoren)

Eine vorhandene spezifische Resistenz kann bei Empfängern in Deutschland nicht angenommen werden. Die Emp-

fänglichkeit für *M leprae* wird bestimmt von der Aktivität des *innate* (angeborenen) Immunsystems, welches durch Alter, Hunger oder konsumierende Krankheiten modifiziert werden kann. Die mögliche Infektionsübertragung nach Exposition von nur etwa 5% ist ferner vom genetischen Repertoire des Empfängers abhängig [12, 75, 81, 85]. Zusätzliche Faktoren sind Pathogenität und Medikamenten-Resistenz des jeweiligen *M leprae*-Stammes [3, 14, 25] (siehe unter 1.1 und 1.2).

3.3 Schweregrad und Verlauf der Erkrankung

M leprae kann eine asymptomatische Infektion auslösen, bei der die Bakterien eliminiert werden. Der Verlauf kann aber auch zu einer progressiven lepromatösen Lepra mit Erythema nodosum leprosum führen (siehe 1.2), die ohne Therapie und entsprechend der Begleitumstände innerhalb von wenigen Jahren tödlich verlaufen kann [14, 85]. Da bislang keine Übertragung von *M leprae* durch Transfusion berichtet wurde, ist nicht bekannt, ob eine derart übertragene Erkrankung anders verlief als eine, die durch Schleimhautkontamination übertragen wurde.

3.4 Therapie und Prophylaxe

Nach anfänglichem Therapieerfolg mit einer Monotherapie ist *M leprae* gegen das Sulfonamid Dapson resistent geworden, sodass die WHO 1998 die Tripeltherapie mit Dapson+Rifampicin+Clofazimin für zwei Jahre und später zeitlich reduziert nur für ein oder ein halbes Jahr empfahl [1, 24]. Die Verkürzung der Zeit erfolgte wegen der Nebenwirkungen der Medikamente. Dapson führt bei Glukose-6-Phosphatdehydrogenase-Mangel zu Meta-Hämoglobinämie und Licht-Hypersensitivität [12]. Rifampicin kann hepatotoxisch sein und beeinflusst das Zytochrom-p450-System. Clofazimin hat anticholinergische Wirkung [70]. Neuere Untersuchungen aus Brasilien zeigen, dass die zweijährige Therapie durchaus ihre Berechtigung hatte [71], da nach Beenden einer halb- oder einjährigen Therapie bei vielen Patienten eine erneute Bakterienpräsenz in der Nasenschleimhaut gefunden wurde. Weitere Therapieoptionen,

besonders bei Dapson-Unverträglichkeit, sind Rifampicin+Ofloxacin+Minocyclin oder anstelle von Ofloxacin das Moxifloxacin und als weitere Option das Makrolid Clarithromycin [1]. Bei paucibazillärer Lepra kann die Therapiezeit eher verkürzt werden als bei multibazillärer Lepra [24]. Solange PGL-1-Antikörper hochtitrig nachweisbar sind, sollte die Therapie fortgesetzt werden [120].

Im Blut von Leprapatienten ließ sich acht Jahre nach Therapieabschluss mit der PCR noch (oder wieder) *M leprae*-DNA nachweisen [61]. Ursache hierfür kann eine weiter bestehende Replikation der Bakterien in durch Therapie nicht erreichbaren Kompartimenten sein, wie z. B. den Lipidtröpfchen der Schaumzellen, Iriszellen oder Schwann'schen Zellen [121] – siehe unter 1.1 und 1.2.

Bezüglich Dosierung, Kombination von Medikamenten, Stadium der Lepra und Dauer der Gabe unterscheidet sich das WHO-Therapieregime erheblich von nationalen Richtlinien wie z. B. in den USA [70]. Die unter Therapie nicht selten entstehenden Hautulzera sind mit Thalidomid, welches als anti-TNF α (*tumor necrosis factor alpha*)-Substanz wirkt, gut behandelbar [13, 14, 24]. Wegen der teratogenen Wirkung ist die generelle Verwendung von Thalidomid weiterhin sehr eingeschränkt [1].

Therapie von Lepra in Kombination mit der BCG-Impfung: Da die alleinige Chemotherapie bei Behandlung der Lepra nur teilweise erfolgreich war, wurde zusätzlich die BCG-Impfung, die zur Prävention der Tuberkulose entwickelt wurde, zur Stimulierung des Immunsystems von Leprakranken eingeführt. Die klinische Heilung war teils wesentlich verbessert [122–125], teils konnte eine Verbesserung nicht gefunden werden [11]. Wegen der allgemein üblichen kindlichen BCG-Impfung in Lepra-Endemiegebieten wird eine zusätzliche BCG-Impfung bei Lepra Erkrankten nicht mehr empfohlen [11, 70].

Medikamentenresistenz

Um die Empfindlichkeit von *M leprae* für Medikamente wie Dapson, Clofazimin, Rifampicin, Ofloxacin und weiteren zu bestimmen, ist eine PCR mit anschließender Sequenzierung entwickelt worden

[119]. Die Primärresistenz gegenüber Lepramedikamenten lag in einer Untersuchung in Südostasien bei Erstbehandelten zwischen 1% bis 7% und bei Rückfallpatienten zwischen 10% bis 26% [119]. Multiresistente Stämme kommen auch in den USA vor [126].

Das Auftreten von Nervenzellzerstörung in den ersten drei Monaten unter Therapie ist keine Seltenheit und wird auf das IRIS zurückgeführt [24]. Ob eine zusätzliche Statin-Therapie wie bei der Zerstörung von *M tuberculosis* die humane Makrophagenaktivität auch bei *M leprae in vivo* steigert [127], bleibt abzuwarten. Statine wirken gegen bakterielle Toxine, die bei Sepsis ausgeprägte Zeichen der Entzündung induzieren, da Statine z. B. zu einer Verminderung des endothelialen Flüssigkeitsaustritts führen [128].

Prophylaxe

Prävention durch Therapie: Über die Tripeltherapie und die verminderte Produktion von *M leprae* konnte die Zahl der Infizierten zwar reduziert, jedoch nicht das Bakterium ausgerottet werden [24, 93]. Es sind neben der Therapie außerdem hygienische Maßnahmen wie Vermeidung des direkten Kontaktes und der Verbreitung der Bakterien erforderlich. Je stärker die zelluläre Immunreaktion ist, desto schneller wird die Primärläsion überwunden und die Wahrscheinlichkeit einer Übertragung nimmt ab.

Prävention der *M leprae*

Übertragung nach BCG-Impfung und Therapie: In Lepra-endemischen Regionen hat die BCG-Impfung zu einer niedrigeren Bakterienbürde (*bacillary load*) bei Kontaktpersonen geführt, somit die Übertragungsrate gesenkt und zusätzlich möglicherweise die Therapieeffizienz verbessert [99, 122, 124]. Nach heutigem Wissen kann der Therapieerfolg durch BCG-Impfung nur bei Kindern verbessert werden [124, 125, 129]. Die Stimulierung durch die BCG-Impfung beeinflusst das multibazilläre Stadium der Lepra stärker als das paucibazilläre [129]. Als Tripeltherapie-Unterstützung konnte bei Patienten mit Lepra im Stadium BL oder LL nach BCG-Impfung die Zerstörung der motorischen Nervenfunktion wesentlich vermindert werden, während die Bildung

von Lepromin-Antikörpern, Bakterienbelastung und Granulom-Bildung durch die zusätzliche BCG-Impfung nicht beeinflusst wurden [130].

Je enger der Kontakt mit einem Infizierten, desto höher ist das Risiko der Übertragung von *M leprae* [99]. Die Pflege und Behandlung eines an Lepra erkrankten Patienten in Gesundheitseinrichtungen stellt allerdings keine besondere Herausforderung dar; Maßnahmen der Basishygiene und korrekte Entsorgung von infektiösen Abfällen (Nasen- bzw. Wundsekret) sind ausreichend [131]. Da *M leprae* nach Aufnahme über die Nasenschleimhaut hämatogen im gesamten Körper verbreitet wird und die Freisetzung aus dem Gewebe ins Blut unregelmäßig phasenweise erfolgt und durch kurzzeitige Therapie nicht unterbrochen wird, reicht eine alleinige Therapie zur Prävention nicht aus. Außerdem kann *M leprae* für wirksame Antibiotika besonders im Lipid von Schaumzellen (Makrophagen), Iris-Makrophagen und Schwann-Zellen der Nerven schwer bzw. gar nicht erreichbar sein, was eine Langzeittherapie erforderlich macht, die auch zur Medikamentenresistenz führen kann und dadurch häufig Rückfälle verursacht.

Spezifisch gegen *M leprae* gerichtete Impfung

Eine spezifisch gegen *M leprae* konfektionierte Impfung ist nicht vorhanden und wird sich angesichts der Schwierigkeiten bei der Entwicklung einer effizienten Impfung gegen *M tuberculosis* nicht einfach und zeitnah herstellen lassen [132, 133]. Die oben erwähnte, für die supportive Behandlung von Leprapatienten verwendete BCG-Impfung ist zur Prävention von Infektionen mit *M tuberculosis* entwickelt worden; sie besteht aus lebenden attenuierten Bakterien und kann bei immunologisch nicht adäquat Reagierenden zur lokalen Bakterienvermehrung bis hin zur Bakteriämie führen. Sie ist als prophylaktische Maßnahme zur Prävention von Lepra bei Blut- und Plasmaspendern nicht geeignet und nicht indiziert.

3.5 Übertragbarkeit

Mensch-zu-Mensch-Übertragung

Der Weg der zwischenmenschlichen Übertragung von *M leprae* ist bis heute nicht genau bekannt (siehe 1.2). Aus den epidemiologischen Daten ergibt sich jedoch, dass das Bakterium nach Exposition in der Nasenschleimhaut nachgewiesen werden kann [56, 57, 59] und über Nasensekret nach außen verbreitet wird. Ferner kann *M leprae* im Blut nachgewiesen werden und artifiziell über Blut, z. B. über unterbrochenen Mückenstich, auf die Maus übertragen werden [134]. Mückenstiche sind für die Verbreitung von Lepra nach epidemiologischen Gesichtspunkten unbedeutend. Relevanter ist die räumliche Nähe zu einem leprösen Patienten, wie Studien aus Hyperendemiegebieten in Indonesien [135] und Brasilien [136] zeigen.

Transplazentare Übertragung

M leprae kann über die Plazenta übertragen werden, wenn die Mutter an Lepra erkrankt ist [137]. Die Immunantwort gegen die Bakterien ist im infizierten Neugeborenen höher als in der Mutter [138].

Übertragung durch Transplantat

Nachdem eine Übertragung von *M tuberculosis* über Transplantate wiederholt berichtet wurde [139, 140], ist mit hoher Wahrscheinlichkeit anzunehmen, dass auch *M leprae* durch Transplantat übertragen werden kann. Der in USA publizierte Fall einer *M leprae*-Übertragung nach Herztransplantation könnte theoretisch auch auf einem anderen Weg als durch das Transplantat erfolgt sein [141].

Übertragung durch Blut

Eine Übertragung von *M leprae* über Bluttransfusion ist bisher nicht publiziert worden, auch wenn diese in Endemiegebieten theoretisch möglich wäre [57].

3.6 Häufigkeit der Applikation sowie Art und Menge der Blutprodukte

Nachdem eine Übertragung von *M leprae* über Bluttransfusion nicht beschrieben wurde, und da Lepra in Deutschland nicht endemisch ist und somit *M leprae*

in Blutkonserven nicht vorkommen sollte, ist die theoretische Häufigkeit und Menge ohne Bedeutung. Eine gleiche Aussage gilt für Art und Menge der Blutprodukte.

Eine Übertragung von atypischem Mykobakterium *M mucogenicum* über Bluttransfusion wurde beschrieben [142] – bei diesem Fall ist unklar, ob der Spender infiziert war oder die Spende extern kontaminiert wurde [143].

4 Blutprodukte

4.1 Belastung des Ausgangsmaterials und Testmethoden

M leprae wächst streng intrazellulär, z. B. in Makrophagen, und ist, wenn diese Zellen zerstört werden, auch extrazellulär vorhanden – daher können grundsätzlich zelluläre und plasmatische Blutprodukte mit Mykobakterien belastet sein. Wegen der sehr geringen Prävalenz von Lepra in Deutschland ist eine Belastung des Ausgangsmaterials mit *M leprae* nicht gegeben.

Eine Exposition des Spenders mit *M leprae* kann über die Bestimmung der PGL-1-Antikörper und/oder das Vorhandensein von *M leprae*-Genom über die NAT, z. B. PCR, bestimmt werden (siehe 1.4.). Da hochtitrige anti-PGL-1 nur bei leprösen Stadien der Lepra vorkommen, hat dieser Test für eine Untersuchung von Blutspenden eine nicht ausreichende Sensitivität. Die PCR wäre als Screeningtest geeignet [56, 57, 108]; ihre Durchführung ist jedoch bei der sehr geringen Prävalenz und Inzidenz von *M leprae* in Deutschland nicht angezeigt.

4.2 Möglichkeiten zur Abtrennung und Inaktivierung von Infektionserregern

Bei an Lepra Erkrankten ist *M leprae* durch die intermittierende Bakteriämie im Blut zu finden und könnte dementsprechend in Blutprodukten theoretisch vorhanden sein. Aus zellulären Blutprodukten ließe sich zellgebundenes *M leprae* durch die Leukozytendepletion weitgehend entfernen. Bei der Aufreinigung von Plasmaderivaten führt der Einsatz zusätzlicher Verfahrensschritte wie Äthra-

nolbehandlung, Präzipitation und Sterilfiltration zur Inaktivierung und Abtrennung der Bakterien.

4.3 Praktikabilität und Validierbarkeit der Verfahren zur Eliminierung/Inaktivierung von Infektionserregern

M leprae kann nicht auf Nährboden oder in Nährmedium vermehrt werden; daher sind Speikversuche und die nachfolgende Validierung von Elimination und Inaktivierbarkeit nicht möglich.

M smegmatis in einer Konzentration von 5 bis 6 log₁₀ CFU/ml wird durch Bestrahlung mit Licht bei Zusatz von TMPyP (Tetrakis-methyl-pyridinyl porphyrin), eine dem Methylenblau ähnliche Substanz, zerstört [144]. Über die Inaktivierung von *M leprae* durch Psoralen ist nicht berichtet worden, ebenfalls nicht über die Hitzebehandlung von Plasma, welches *M leprae* enthält. Generell gesehen sollte sich *M leprae* bei der Inaktivierung von Plasma ähnlich wie andere Bakterien verhalten [145].

5 Bewertung

Lepra ist eine Krankheit, die im Mittelalter auch in Deutschland sehr verbreitet war. Das auslösende Bakterium, *M leprae*, kommt in Deutschland nicht endemisch vor und wird sehr selten durch infizierte Reisende eingebracht.

Bis heute wurde weltweit keine Übertragung von *M leprae* über Bluttransfusion beschrieben. Die sehr niedrige Inzidenz und Prävalenz von Lepra in Deutschland rechtfertigt derzeit nicht ein Testen von Blut- oder Plasmaspenden mit NAT oder serologischem Test (anti-PGL-1).

Eine Person, die an Lepra erkrankt ist, wegen Lepra therapiert wurde oder als Kontaktperson mit einer an Lepra erkrankten Person eng zusammenlebt oder aus einer Lepra-Endemie-region stammt, ist als Blutspender/in wegen der lebenslangen Möglichkeit der Reaktivierung und Übertragung von *M leprae* von der Spende dauerhaft auszuschließen.

Dieses Papier wurde fertiggestellt am 16.03.2016 und vom Arbeitskreis Blut am 31.05.2016 verabschiedet. Es wurde erarbeitet von den Mitgliedern der Untergrup-

pe „Bewertung Blut-assoziiertes Krankheitserreger“ des Arbeitskreises Blut: Prof. Dr. Lutz Gürtler, Prof. Dr. Martin Aepfelbacher, Dr. Ursula Bauerfeind, PD Dr. Isabelle Bekeredjian-Ding, PD Dr. Dr. Johannes Blümel, Prof. Dr. Reinhard Burger, Dr. Manfred Doll, Prof. Dr. Markus Funk, Dr. Albrecht Gröner, Dr. Margarethe Heiden, Prof. Dr. Martin Hildebrandt, Prof. Dr. Dr. Bernd Jansen, Dr. Ruth Offergeld, Prof. Dr. Georg Pauli, Dr. Uwe Schlenkrich, Dr. Volkmar Schottstedt, Prof. Dr. Rainer Seitz, PD Dr. Dorothea Stahl, Dr. Johanna Strobel, Dr. Hannelore Willkommen.

Literatur

- Walsh DS, Portaels F, Meyers WM (2010) Recent advances in leprosy and Buruli ulcer (Mycobacterium ulcerans) infection. *Curr Opin Infect Dis* 23:445–455
- Talhari S, de Faria Grossi MA, de Oliveira MLWDR, Gontijo B, Talhari C, Penna GO (2012) Hansen's disease: a vanishing disease? *Mem Inst Oswaldo Cruz* 107(s1):13–16
- Lastória JC, De Abreu MAMM (2014) Leprosy: review of the epidemiological, clinical, and etiopathogenic aspects – part 1. *An Bras Dermatol* 89:205–218
- Gómez-Valero L, Rocha EPC, Latorre A, Silva FJ (2007) Reconstructing the ancestor of Mycobacterium leprae: the dynamics of gene loss and genome reduction. *Genome Res* 17:1178–1185
- Djelouadji Z, Raoult D, Drancourt M (2011) Palaeogenomics of Mycobacterium tuberculosis: epidemic bursts with a degrading genome. *Lancet Infect Dis* 11:641–650
- Kappelman J, Alçiçek MC, Kazancı N, Schultz M, Özkul M, Şen S (2008) First Homo erectus from Turkey and implications for migrations into temperate Eurasia. *Am J Phys Anthropol* 135:110–116
- Robbins G, Tripathy VM, Misra VN, Mohanty RK, Shinde VS, Gray KM, Schug MD (2009) Ancient skeletal evidence for leprosy in India (2000 BC). *PLOS ONE* 4:e5669
- Cole ST, Eiglmeier K, Parkhill J, James KD, Thomson NR, Wheeler PR et al (2001) Massive gene decay in the leprosy bacillus. *Nature* 409:1007–1011
- Monot M, Honoré N, Garnier T, Araoz R, Coppée JY, Lacroix C et al (2005) On the origin of leprosy. *Science* 308:1040–1042
- Rodrigues LC, Lockwood DNJ (2011) Leprosy now: epidemiology, progress, challenges, and research gaps. *Lancet Infect Dis* 11:464–470
- Scollard DM, Adams LB, Gillis TP, Krahenbuhl JL, Truman RW, Williams DL (2006) The continuing challenges of leprosy. *Clin Microbiol Rev* 19:338–381
- Concha RM, Cossio TML, Salazar SI, Fich SF, Pérez CC, González BS (2008) Enfermedad de Hansen: Revisión a propósito de un caso. *Rev Chilena Infectol* 25:64–69
- Jurado F, Rodriguez O, Novales J, Navarrete G, Rodriguez M (2015) Lucio's leprosy: a clinical and therapeutic challenge. *Clin Dermatol* 33:66–78
- White C, Franco-Paredes C (2015) Leprosy in the 21st century. *Clin Microbiol Rev* 28:80–94
- Shepard CC, McRae DH (1965) Mycobacterium leprae in mice: minimal infectious dose, relationship between staining quality and infectivity, and effect of cortisone. *J Bacteriol* 89:365–372
- Marcos LA, Conery S, Walker S (2014) Images in clinical tropical medicine. Leprosy. *Am J Trop Med Hyg* 91:216
- Balamayooran G, Pena M, Sharma R, Truman RW (2015) The armadillo as an animal model and reservoir host for Mycobacterium leprae. *Clin Dermatol* 33:108–115
- Fukutomi Y, Matsuoka M, Minagawa F, Toratani S, McCormick G, Krahenbuhl J (2004) IL-10 treatment of macrophages bolsters intracellular survival of Mycobacterium leprae. *Int J Lepr Other Mycobact Dis* 72:16–26
- Moura DF, Teles RMB, Ribeiro-Carvalho MM, Teles RB, Santos IMCF, Ferreira H et al (2007) Long-term culture of multibacillary leprosy macrophages isolated from skin lesions: a new model to study Mycobacterium leprae-human cell interaction. *Br J Dermatol* 157:273–283
- Cardona-Castro N, Beltrán JC, Ortiz-Bernal A, Vissa V (2009) Detection of Mycobacterium leprae DNA in nine-banded armadillos (Dasypus novemcinctus) from the Andean region of Colombia. *Lepr Rev* 80:424–431
- Loughry WJ, Truman RW, McDonough CM, Tilak MK, Garnier S, Delsuc F (2009) Is leprosy spreading among nine-banded armadillos in the southeastern United States? *J Wildl Dis* 45:144–152
- Rojas-Espinosa O, Lovik M (2001) Mycobacterium leprae and Mycobacterium lepraemurium infections in domestic and wild animals. *Rev Sci Tech* 20:219–251
- Ahmed N, Dobrindt U, Hacker J, Hasnain SE (2008) Genomic fluidity and pathogenic bacteria: applications in diagnostics, epidemiology and intervention. *Nat Rev Microbiol* 6:387–394
- Suzuki K, Akama T, Kawashima A, Yoshihara A, Yotsu RR, Ishii N (2012) Current status of leprosy: epidemiology, basic science and clinical perspectives. *J Dermatol* 39:121–129
- Monot M, Honoré N, Garnier T, Zidane N, Sherafi D, Paniz-Mondolfi A et al (2009) Comparative genomic and phylogeographic analysis of Mycobacterium leprae. *Nat Genet* 41:1282–1289
- Schuenemann VJ, Singh P, Mendum TA, Krause-Kyora B, Jäger G, Bos KI et al (2013) Genome-wide comparison of medieval and modern Mycobacterium leprae. *Science* 341:179–183
- Taylor GM, Tucker K, Butler R, Pike AWG, Lewis J, Roffey S et al (2013) Detection and strain typing of ancient Mycobacterium leprae from a medieval leprosy hospital. *PLOS ONE* 8:e62406
- Lavania M, Jadhav R, Turankar RP, Singh I, Nigam A, Sengupta U (2015) Genotyping of Mycobacterium leprae strains from a region of high endemic leprosy prevalence in India. *Infect Genet Evol* 36:256–261
- Mohanty PS, Naaz F, Katara D, Misba L, Kumar D, Dwivedi DK et al (2016) Viability of Mycobacterium leprae in the environment and its role in leprosy dissemination. *Indian J Dermatol Venereol Leprol* 82:23–27
- Reibel F, Cambau E, Aubry A (2015) Update on the epidemiology, diagnosis, and treatment of leprosy. *Med Mal Infect* 45:383–393

31. Cardona-Castro N, Cortés E, Beltrán C, Romero M, Badel-Mogollón JE, Bedoya G (2015) Human genetic ancestral composition correlates with the origin of *Mycobacterium leprae* strains in a leprosy endemic population. *PLoS Negl Trop Dis* 9:e0004045
32. Donoghue HD, Taylor GM, Marcsik A, Molnár E, Pálfi G, Pap I et al (2015) A migration-driven model for the historical spread of leprosy in medieval Eastern and Central Europe. *Infect Genet Evol* 31:250–256
33. Zhang FR, Huang W, Chen SM, Sun LD, Liu H, Li Y et al (2009) Genomewide association study of leprosy. *N Engl J Med* 361:2609–2618
34. Han XY, Seo YH, Sizer KC, Schoberle T, May GS, Spencer JS et al (2008) A new mycobacterium species causing diffuse lepromatous leprosy. *Am J Clin Pathol* 130:856–864
35. Han XY, Sizer KC, Thompson EJ, Kabanja J, Li J, Hu P et al (2009) Comparative sequence analysis of *Mycobacterium leprae* and the new leprosy-causing *Mycobacterium lepromatosis*. *J Bacteriol* 191:6067–6074
36. Singh P, Benjak A, Schuenemann VJ, Herbig A, Avanzi C, Busso P et al (2015) Insight into the evolution and origin of leprosy bacilli from the genome sequence of *Mycobacterium lepromatosis*. *Proc Natl Acad Sci USA* 112:4459–4464
37. Han XY, Sizer KC, Velarde-Félix JS, Frias-Castro L, Vargas-Ocampo F (2012) The leprosy agents *Mycobacterium lepromatosis* and *Mycobacterium leprae* in Mexico. *Int J Dermatol* 51:962–969
38. Vera-Cabrera L, Escalante-Fuentes WG, Gomez-Flores M, Ocampo-Candiani J, Busso P, Singh P, Cole ST (2011) Case of diffuse lepromatous leprosy associated with “*Mycobacterium lepromatosis*”. *J Clin Microbiol* 49:4366–4368
39. Wheat WH, Casali L, Thomas V, Spencer JS, Lahiri R, Williams DL et al (2014) Long-term survival and virulence of *Mycobacterium leprae* in amoebal cysts. *PLoS Negl Trop Dis* 8:e3405
40. Desikan KV, Sreevatsa (1995) Extended studies on the viability of *Mycobacterium leprae* outside the human body. *Lepr Rev* 66:287–295
41. Sreevatsa, Katoch K (1997) Viability of *M. leprae* while undergoing laboratory procedures. *Indian J Lepr* 69:353–359
42. Klijn N, Herrewegh AAPM, de Jong P (2010) Heat inactivation data for *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis*: implications for interpretation. *J Appl Microbiol* 91:697–704
43. Lee ES, Yoon TH, Lee MY, Han SH, Ka JO (2010) Inactivation of environmental mycobacteria by free chlorine and UV. *Water Res* 44:1329–1334
44. Doig C, Seagar AL, Watt B, Forbes KJ (2002) The efficacy of the heat killing of *Mycobacterium tuberculosis*. *J Clin Pathol* 55:778–779
45. Rademaker JLW, Vissers MMM, te Giffel MC (2007) Effective heat inactivation of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* in raw milk contaminated with naturally infected feces. *Appl Environ Microbiol* 73:4185–4190
46. Merkmal RS, Crawford JA (1979) Heat inactivation of *Mycobacterium avium*–*Mycobacterium intracellulare* complex organisms in aqueous suspension. *Appl Environ Microbiol* 38:827–830
47. Brugnera MF, Miyata M, Zocolo GJ, Leite CQL, Zanoni MV (2013) A photoelectrocatalytic process that disinfects water contaminated with *Mycobacterium kansasii* and *Mycobacterium avium*. *Water Res* 47:6596–6605
48. Tkachuk VL, Krause DO, McAllister TA, Buckley KE, Reuter T, Hendrick S, Ominski KH (2013) Assessing the inactivation of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* during composting of livestock carcasses. *Appl Environ Microbiol* 79:3215–3224
49. Mukherjee K, Tribedi P, Mukhopadhyay B, Sil AK (2013) Antibacterial activity of long-chain fatty alcohols against mycobacteria. *FEMS Microbiol Lett* 338:177–183
50. Murdoch LE, Maclean M, Endarko E, MacGregor SJ, Anderson JG (2012) Bactericidal effects of 405 nm light exposure demonstrated by inactivation of *Escherichia*, *Salmonella*, *Shigella*, *Listeria*, and *Mycobacterium* species in liquid suspensions and on exposed surfaces. *Sci World J* 2012:ID137805
51. Adams LB, Soileau NA, Battista JR, Krahenbuhl JL (2000) Inhibition of metabolism and growth of *Mycobacterium leprae* by gamma irradiation. *Int J Lepr Other Mycobact Dis* 68:1–10
52. Suzuki K, Udono T, Fujisawa M, Tanigawa K, Idani G, Ishii N (2010) Infection during infancy and long incubation period of leprosy suggested in a case of a chimpanzee used for medical research. *J Clin Microbiol* 48:3432–3434
53. Sharma R, Singh P, Loughry WJ, Lockhart JM, Inman WB, Duthie MS et al (2015) Zoonotic leprosy in the Southeastern United States. *Emerging Infect Dis* 21:2127–2134
54. Meredith A, Del Pozo J, Smith S, Milne E, Stevenson K, McLuckie J (2014) Leprosy in red squirrels in Scotland. *Vet Rec* 175:285–286
55. Noordeen SK, Roxas MG, Fine PE, Smith WG, Feenstra P, Gokhale SD et al (1996) Eliminating leprosy as a public health problem – Is the optimism justified? *World Health Forum* 17:109–144
56. De Almeida EC, Martinez AN, Maniero VC, Sales AM, Duppre NC, Sarno EN et al (2004) Detection of *Mycobacterium leprae* DNA by polymerase chain reaction in the blood and nasal secretion of Brazilian household contacts. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 99:509–511
57. Goulart IMB, Araujo S, Filho AB, de Paiva PHR, Goulart LR (2015) Asymptomatic leprosy infection among blood donors may predict disease development and suggests a potential mode of transmission. *J Clin Microbiol* 53:3345–3348
58. Pinho JD, Rivas PMS, Mendes MBP, Soares REP, Costa GC, Nascimento FRF et al (2015) Presence of *Mycobacterium leprae* DNA and PGL-1 antigen in household contacts of leprosy patients from a hyperendemic area in Brazil. *Genet Mol Res* 14:14479–14487
59. Patrocínio LG, Goulart IMB, Goulart LR, Patrocínio JA, Ferreira FR, Fleury RN (2005) Detection of *Mycobacterium leprae* in nasal mucosa biopsies by the polymerase chain reaction. *FEMS Immunol Med Microbiol* 44:311–316
60. Gryzbowski A, Nita M, Virmond M (2015) Ocular leprosy. *Clin Dermatol* 33:79–89
61. Santos AR, Balassiano V, Oliveira MLW, Pereira MAde, Santos PB, Degraive WM, Suffys PN (2001) Detection of *Mycobacterium leprae* DNA by polymerase chain reaction in the blood of individuals, eight years after completion of anti-leprosy therapy. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 96:1129–1133
62. Lima LNGC, Frota CC, Mota RMS, Almeida RLF, Pontes MAdeA, Gonçalves Hde S et al (2015) Widespread nasal carriage of *Mycobacterium leprae* among a healthy population in a hyperendemic region of northeastern Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 110:898–905
63. De Mattos KA, Sarno EN, Pessolani MCV, Bozza PT (2012) Deciphering the contribution of lipid droplets in leprosy: multifunctional organelles with roles in *Mycobacterium leprae* pathogenesis. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 107(s1):156–166
64. Scollard DM, Truman RW, Ebenezer GJ (2015) Mechanisms of nerve injury in leprosy. *Clin Dermatol* 33:46–54
65. Singh I, Yadav AR, Mohanty KK, Katoch K, Sharma P, Mishra B et al (2015) Molecular mimicry between *Mycobacterium leprae* proteins (50 S ribosomal protein L2 and lysyl-tRNA synthetase) and myelin basic protein: a possible mechanism of nerve damage in leprosy. *Microbes Infect* 17:247–257
66. Bratschi MW, Steinmann P, Wickenden A, Gillis TP (2015) Current knowledge on *Mycobacterium leprae* transmission: a systemic literature review. *Lepr Rev* 86:142–155
67. Job CK, Jayakumar J, Kearney M, Gillis TP (2008) Transmission of leprosy: a study of skin and nasal secretions of household contacts of leprosy patients using PCR. *Am J Trop Med Hyg* 78:518–521
68. Scollard DM, Dacso MM, Abad-Venida ML (2015) Tuberculosis and leprosy: classical granulomatous diseases in the twenty-first century. *Dermatol Clin* 33:541–562
69. Chimenos-Küstner E, Pascual-Cruz M, Piñol-Dansis C, Viñals-Iglesias H, Rodríguez de Rivera-Campillo ME, López-López J (2006) Lepromatous leprosy: a review and case report. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal* 11:E474–E479
70. Worobec SM (2009) Treatment of leprosy/Hansen's disease in the early 21st century. *Dermatol Ther* 22:518–537
71. Salgado CG, Barreto JG (2012) Images in clinical medicine. Leonine facies: lepromatous leprosy. *N Engl J Med* 366:1433
72. Rabello Junior FE (1936) Uma classificação clínico-epidemiológica das formas de lepra. *Rev Bras Leprol* 1:375–410
73. Santos AR, Suffys PN, Vanderborgh PR, Moraes MO, Vieira LMM, Cabello PH et al (2002) Role of tumor necrosis factor-alpha and interleukin-10 promoter gene polymorphisms in leprosy. *J Infect Dis* 186:1687–1691
74. Cardona-Castro N, Sánchez-Jiménez M, Rojas W, Bedoya-Berrío G (2012) IL-10 gene promoter polymorphisms and leprosy in a Colombian population sample. *Biomedica* 32:71–76
75. Misch EA, Berrington WR, Vary JC Jr, Hawn TR (2010) Leprosy and the human genome. *Microbiol Mol Biol Rev* 74:589–620
76. Schuring RP, Hamann L, Faber WR, Pahan D, Richardus JH, Schumann RR, Oskam L (2009) Polymorphism N248S in the human Toll like receptor 1 gene is related to leprosy and leprosy reactions. *J Infect Dis* 199:1816–1819
77. Berrington WR, Macdonald M, Khadge S, Sapkota BR, Janer M, Hagge DA et al (2010) Common polymorphisms in the NOD2 gene region are associated with leprosy and its reactive states. *J Infect Dis* 201:1422–1435
78. Lazarou M, Sliter DA, Kane LA, Sarraf SA, Wang C, Burman JL et al (2015) The ubiquitin kinase PINK1 recruits autophagy receptors to induce mitophagy. *Nature* 524:309–314
79. Chopra R, Ali S, Srivastava AK, Aggarwal S, Kumar B, Manvati S et al (2013) Mapping of PARK2 and PACRG overlapping regulatory region reveals LD structure and functional variants in association with leprosy in unrelated Indian population groups. *Plos Genet* 9:e1003578

80. Krutzik SR, Ochoa MT, Sieling PA, Uematsu S, Ng YW, Legaspi A et al (2003) Activation and regulation of Toll-like receptors 2 and 1 in human leprosy. *Nat Med* 9:525–532
81. Zhang FR, Huang W, Chen SM, Sun LD, Liu H, Li Y et al (2009) Genomewide association study of leprosy. *N Engl J Med* 361:2609–2618
82. Ottenhoff THM (2012) New pathways of protective and pathological host defense to mycobacteria. *Trends Microbiol* 20:419–428
83. Geluk A, Ottenhoff THM (2006) HLA and leprosy in the pre and postgenomic eras. *Hum Immunol* 67:439–445
84. Parkash O (2009) Classification of leprosy into multibacillary and paucibacillary groups: an analysis. *FEMS Immunol Med Microbiol* 55:1–5
85. Bhat RM, Prakash C (2012) Leprosy: an overview of pathophysiology. *Interdiscip Perspect Infect Dis* 2012:181089
86. Nunzie E, Ortega Cabrera LV, Macanchi Moncayo FM, Ortega Espinosa PF, Clapasson A, Massone C (2014) Lucio Leprosy with Lucio's phenomenon, digital gangrene and anticardiolipin antibodies. *Lepr Rev* 85:194–200
87. Ridley DS, Jopling WH (1962) A classification of leprosy for research purposes. *Lepr Rev* 33:119–128
88. Ridley DS, Jopling WH (1966) Classification of leprosy according to immunity – A five-group system. *Int J Lepr Other Mycobact Dis* 34:255–273
89. Virchow R (1978) Die krankhaften Geschwülste. Reprint der Erstausgabe August Hirschwald Verlag, Berlin 1863, 1864–1865, 1867. Springer, Berlin.
90. Elamin AA, Stehr M, Singh M (2012) Lipid droplets and Mycobacterium leprae infection. *J Pathog* 2012:361374
91. Detsis P, Lockwood DN (2010) Leprosy presenting as immune reconstitution inflammatory syndrome: proposed definitions and classification. *Lepr Rev* 81:59–68
92. Sanghi S, Grewal RS, Vasudevan B, Lodha N (2011) Immune reconstitution inflammatory syndrome in leprosy. *Indian J Lepr* 83:61–70
93. Barreto JG, de Souza Guimarães L, Frade MAC, Rosa PS, Salgado CG (2012) High rates of undiagnosed leprosy and subclinical infection amongst school children in the Amazon region. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 107(s1):60–67
94. WHO – World Health Organisation (2013) Global leprosy: update on the 2012 situation. *Wkly Epidemiol Rec* 88:365–379
95. WHO (2015) <http://www.who.int/topics/leprosy/en/>. Zugegriffen: Sept 19, 2016
96. Duarte-Cunha M, da Cunha GM, Souza-Santos R (2015) Geographical heterogeneity in the analysis of factors associated with leprosy in an endemic area of Brazil: are we eliminating the disease? *BMC Infect Dis* 15:196
97. Nsagha DS, Bamqboye EA, Oyediran AB (2009) Childhood leprosy in Essimbiland of Cameroon: results of chart review and school survey. *Nig Q J Hosp Med* 19:214–219
98. Chhabra N, Grover C, Singal A, Bhattacharya SN, Kaur R (2015) Leprosy scenario at a tertiary level hospital in Delhi: a 5-year retrospective study. *Indian J Dermatol* 60:55–59
99. Sales AM, Ponce de Leon A, Düppre NC, Hacker MA, Nery JAC, Sarno EN et al (2011) Leprosy among patient contacts: a multilevel study of risk factors. *Plos Negl Trop Dis* 5:e1013
100. Lavania M, Jadhav RS, Turankar RP, Chaitanya VS, Singh M, Sengupta U (2013) Single nucleotide polymorphisms typing of Mycobacterium leprae reveals focal transmission of leprosy in high endemic regions of India. *Clin Microbiol Infect* 19:1058–1062
101. Ustianowsky AP, Lawn SD, Lockwood DNJ (2006) Interactions between HIV infection and leprosy: a paradox. *Lancet Infect Dis* 6:350–360
102. RKI (2013) Lepra – von der Elimination zur Eradikation. *Epidemiol Bull* 3:23–24
103. RKI (2015) Lepra immer noch eine Herausforderung. *Epidemiol Bull* 2:11–12
104. Robert Koch-Institut (2015) Infektionsepidemiologisches Jahrbuch meldepflichtiger Krankheiten für 2014. Robert Koch-Institut, Berlin, S 143–144
105. Robert Koch-Institut (2016) Infektionsepidemiologisches Jahrbuch meldepflichtiger Krankheiten für 2015. Robert Koch-Institut, Berlin, S 144
106. Velasco D, Lozano S, Villarrubia J (2013) Leprosy diagnosed by bone marrow aspiration. *Br J Haematol* 160:121
107. Donoghue HD, Holton J, Spigelman M (2001) PCR primers that can detect low levels of Mycobacterium leprae DNA. *J Med Microbiol* 50:177–182
108. Martinez AN, Ribeiro-Alves M, Sarno EN, Moraes MO (2011) Evaluation of qPCR-based assays for leprosy diagnosis directly in clinical samples. *Plos Negl Trop Dis* 5:e1354
109. Barbieri RR, Sales AM, Illarramendi X, Moraes MO, da Costa Nery JA, Moreira SJM et al (2014) Diagnostic challenges of single plaque-like lesion paucibacillary leprosy. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 109:944–947
110. Bühner-Sékula S, Smits HL, Gussenhoven GC, van Leeuwen J, Amador S, Fujiwara T et al (2003) Simple and fast Lateral Flow Test for classification of leprosy patients and identification of contacts with high risk of developing leprosy. *J Clin Microbiol* 41:1991–1995
111. De Araújo Stefani MM, Grassi AB, Sampaio LH, de Sousa ALOM, Costa MB, Scheelbeek P et al (2012) Comparison of two rapid tests for anti-phenolic glycolipid-I serology in Brazil and Nepal. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 107(s1):124–131
112. Sengupta U (2000) Experience and lessons from the use of lepromin and Mycobacterium leprae-specific serology. *Lepr Rev* 71(Suppl):S63–S66
113. Hatta M, Izumi S, Klatser PR (1995) Evaluation of the Mycobacterium leprae particle agglutination (MPLA) test as a tool in the epidemiology of leprosy in high prevalence village in South Sulawesi, Indonesia. *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 26:631–635
114. Geluk A, van der Ploeg J, Teles ROB, Franken KLMC, Prins C, Drijfhout JW et al (2008) Rational combination of peptides derived from different Mycobacterium leprae proteins improve sensitivity for immunodiagnosis of M leprae infection. *Clin Vaccine Immunol* 15:522–533
115. Rivoire BL, Groathouse NA, TerLouw S, Neupane KD, Ranjit C, Sapkota BR et al (2014) Safety and efficacy assessment of two new leprosy skin test antigens: randomized double blind clinical study. *PLOS Negl Trop Dis* 8:e2811
116. Turner D, McGuinness SL, Leder K (2015) Leprosy: diagnosis and management in developed setting. *Intern Med J* 45:109–112
117. Detsis PD, Antunes JMFP, Faria C, Bühner-Sékula S, Camargo ZP, Opromola DV et al (2008) Research regarding anti-PGL-I antibodies by ELISA in wild armadillos from Brazil. *Rev Soc Bras Med Trop* 41(s2):73–76
118. Duthie MS, Truman RW, Goto W, O'Donnell J, Hay MN, Spencer JS et al (2011) Insight toward early diagnosis of leprosy through analysis of the developing antibody responses of Mycobacterium leprae-infected armadillos. *Clin Vaccine Immunol* 18:254–259
119. Matsuoka M (2010) Drug resistance in leprosy. *Jpn J Infect Dis* 63:1–7
120. Zenha EMR, Ferreira MAN, Foss NT (2009) Use of anti-PGL-1 antibodies to monitor therapy regimes in leprosy patients. *Braz J Med Biol Res* 42:968–972
121. Kumar V (2008) Does clofazimine (B663) reach Mycobacterium leprae persisting in Schwann cells and endothelial cells of endoneurial blood vessels in peripheral nerves? *Microsc Res Tech* 71:614–618
122. Pönningshaus JM, Fine PEM, Sterne JAC, Wilson RJ, Msosa E, Gruer PJK et al (1992) Efficacy of BCG vaccine against leprosy and tuberculosis in northern Malawi. *Lancet* 339:636–639
123. Pönningshaus JM (1995) Leprosy: The beginning of an end to a public health problem? *Dermatol Clin* 13:525–536
124. Richardus RA, Alam K, Pahan D, Feenstra SG, Geluk A, Richardus JH (2013) The combined effect of chemoprophylaxis with single dose rifampicin and immunoprophylaxis with BCG to prevent leprosy in contacts of newly diagnosed leprosy cases: a cluster randomized controlled trial (MALTALEP study). *BMC Infect Dis* 13:456
125. Scheelbeek PFD, Balagon MVF, Orcullo FM, Maghanoy AA, Abellana J, Saunderson PR (2013) A retrospective study of the epidemiology of leprosy in Cebu: an eleven-year profile. *PLOS Negl Trop Dis* 7:e2444
126. Williams DL, Hagino T, Sharma R, Scollard D (2013) Primary multidrug-resistant leprosy, United States. *Emerg Infect Dis* 19:179–181
127. Parihar SP, Guler R, Khutlang R, Lang DM, Hurdal R, Mhlanga MM et al (2014) Statin therapy reduces the Mycobacterium tuberculosis burden in human macrophages and in mice by enhancing autophagy and phagosomal maturation. *J Infect Dis* 209:754–763
128. Goldenberg NM, Steinberg BE, Slutsky AS, Lee WL (2011) Broken barriers: a new take on sepsis pathogenesis. *Sci Transl Med* 3:88ps25
129. Duthie MS, Saunderson P, Reed SG (2012) The potential for vaccination in leprosy elimination: new tools for targeted interventions. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 107(s1):190–196
130. Shetty VP, Mistry NF, Wakade AV, Ghate SD, Capadia GD, Pai VV (2013) BCG immunotherapy as an adjunct to chemotherapy in BL-IL patients – its effect on clinical regression, reaction severity, nerve function, lepromin conversion, bacterial/antigen clearance and 'persister' M. leprae. *Lepr Rev* 84:23–40
131. KRINKO (2015) Infektionsprävention im Rahmen der Pflege und Behandlung von Patienten mit übertragbaren Krankheiten, Empfehlung der Kommission für Krankenhaushygiene und Infektionsprävention (KRINKO) beim Robert Koch-Institut. *Bundesgesundheitsblatt* 58:1151–1170
132. Duthie MS, Gills TP, Reed SG (2011) Advances and hurdles on the way toward a leprosy vaccine. *Hum Vaccin* 7:1172–1183
133. Kaufmann SHE (2013) Tuberculosis vaccines: time to think about the next generation. *Semin Immunol* 25:172–181
134. Banerjee R, Banerjee BD, Chaudhury S, Hati AK (1991) Transmission of viable Mycobacterium le-

- prae by *Aedes aegypti* from lepromatous leprosy patients to the skin of mice through interrupted feeding. *Lepr Rev* 62:21–26
135. Bakker MI, Hatta M, Kwenang A, Faber WR, van Beers SM, Klatser PR, Oskam L (2004) Population survey to determine risk factors for *Mycobacterium leprae* transmission and infection. *Int J Epidemiol* 33:1329–1336
 136. Lima LNGC, Frota CC, Mota RMS, Almeida RLF, Pontes MA, Gonçalves HdeS et al (2015) Widespread nasal carriage of *Mycobacterium leprae* among a healthy population in a hyperendemic region of northeastern Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 110:898–905
 137. Melsom R, Harboe M, Duncan ME, Bergsvik H (1981) IgA and IgM antibodies against *Mycobacterium leprae* in cord sera and in patients with leprosy: an indicator of intrauterine infection in leprosy. *Scand J Immunol* 14:343–352
 138. Barnetson RS, Bjune G, Duncan ME (1976) Evidence for a soluble lymphocyte factor in the transplacental transmission of T-lymphocyte responses to *Mycobacterium leprae*. *Nature* 260:150–151
 139. Yuen KY, Woo PCY (2002) Tuberculosis in blood and marrow transplant recipients. *Hematol Oncol* 20:51–62
 140. Weile J, Eickmeyer H, Dreier J, Liebke M, Fuchs U, Wittke JW et al (2013) First case of *Mycobacterium tuberculosis* transmission by heart transplantation from donor to recipient. *Int J Med Microbiol* 303:449–451
 141. Modi K, Mancini M, Joyce MP (2003) Lepromatous leprosy in a heart transplant recipient. *Am J Transplant* 3:1600–1603
 142. Sprecher H, Davidson S, Finkelstein R, Oren I (2005) Mycobacterial contamination of a transfusion unit: lessons for blood product screening. *Clin Infect Dis* 41:420–421
 143. Lehours P, Rogues AM, Occhialini A, Boulestreau H, Gachie JP, Mégraud F (2002) Investigation of an outbreak due to *Alcaligenes xylosoxydans* subspecies *xylosoxydans* by random amplified polymorphic DNA analysis. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 21:108–113
 144. Feese E, Ghiladi RA (2009) Highly efficient in vitro photodynamic inactivation of *Mycobacterium smegmatis*. *J Antimicrob Chemother* 64:782–785
 145. Montag-Lessing T, Störmer M, Schurig U, Brachert J, Bubenzer M, Sicker U et al (2010) Problems in microbial safety of advanced therapy medicinal products. Squaring the circle. *Bundesgesundheitsblatt* 53:45–51