

1. Einleitung

1.1. Bedeutung von Helicobacter pylori

Seit der Erstanzucht des spiralförmigen Bakteriums Helicobacter pylori (H. pylori) durch Warren und Marshall im Jahre 1983 (WARREN 1983) steht heute fest, daß die aktive und chronische Gastritis und das Ulcus ventriculi zum größten Teil (MORRIS 1987, MARSHALL(a) 1985), das Ulcus duodeni im Wesentlichen auf die Infektion mit diesem Erreger zurückzuführen ist (COGHLAN 1987, McCOLL 1996). Obwohl H. pylori nicht nur Gegenstand intensiver Forschung ist, besteht durch die weite Verbreitung ebenso in der Öffentlichkeit großes Interesse, was die Aufklärung von Pathogenese und Therapie enorm beschleunigt hat (STADELMANN 1995, MALFERTHEINER 1999). Trotzdem sind noch eine Menge Fragen zu H. pylori offen, und die Akzeptanz eines Bakteriums als kausales Agens für gastroduodenale Erkrankungen hat sich immer noch nicht vollständig durchgesetzt. Aus diesem Grund sind alle Informationen zu dem Erreger wichtig für die Expertengremien, die die Therapierichtlinien herausgeben (MALFERTHEINER 1999, AXON 1999, EHPSG 1997).

1994 entschied das National Institut of Health (NIH), daß H. pylori ein wichtiger Kofaktor von Gastritis und Ulkusleiden ist (NIH 1994). Diese Erkrankungen sind durch die Therapie des Erregers heilbar geworden (MALFERTHEINER 1999, AXON 1999).

Auch bei der Entstehung des Magenkarzinoms (FORMAN 1996, PARSONNET(a) 1991) und des Magenlymphoms (PARSONNET(b) 1994) spielt H. pylori offenbar eine wichtige Rolle. Daher wurde der Erreger im Jahre 1994 von der International Agency for Research on Cancer (IARC) als definitives Karzinogen eingestuft (IARC 1994).

Die H.-pylori-Infektion ist die weltweit häufigste Infektion durch einen einzigen Erreger. Über 50 Prozent der Menschheit ist infiziert. Infizierte Personen sind allerdings nicht regelmäßig krank.

Diejenigen, die an der Infektion erkranken, leiden jedoch oftmals an sehr unterschiedlichen Symptomen. Das Symptomspektrum reicht von Beschwerden ähnlich der Dyspepsie, die sich in epigastrischen Schmerzen, Druck- und Völlegefühl, Übelkeit und frühzeitiges Sättigungsgefühl, Blähgefühl im Oberbauch, Luftaufstoßen und gelegentlichem Erbrechen manifestieren kann (HOTZ 2000), bis hin zu Ulcusbeschwerden. Diese äußern sich in epigastrischen Schmerzen, die häufig als scharf, brennend oder nagend beschrieben werden. Das Ulcus duodeni ist hier durch den Nüchternschmerz vom Ulcus ventriculi abzugrenzen (FRIEDMAN 1998).

Da ein großer Teil der Infizierten jedoch keine Symptome verspürt und deshalb nichts von seiner Infektion weiß, kann die H.-pylori-Infektion unbemerkt zu einem Magenkarzinom oder -lymphom führen und erst in einem fortgeschrittenen bzw. bereits inoperablen Stadium entdeckt werden.

Andererseits könnte der unerkannte H.-pylori-Träger einen H.-pylori-Stamm in sich tragen, der wenig oder sogar avirulent ist.

1.2. Bakteriologie

1.2.1. Bakteriologie von *Helicobacter pylori*

H. pylori ist ein gramnegatives Bakterium und bildet einfach gebogene oder spiralförmige Stäbchen aus (SUERBAUM(a) 1996). Unter ungünstigen Umweltbedingungen bilden sich kokkoide Formen aus (NILIUS 1996). Es ist 2-4 µm lang und 0,5-0,9 µm breit und verfügt über 4-7 unipolare Geißeln. Es findet keine Sporenbildung statt.

Die Anzucht erfolgt auf speziellen Nährböden unter mikroaerober Atmosphäre für die Dauer von 5-7 Tagen. *H. pylori* bildet dann 1-2 mm große glänzende transpa-

rente, geruchlose Kolonien aus (OWEN 1998). Weitere Identifizierungsmerkmale sind der stark positive Urease-, der positive Katalase- und der positive Oxidasetest. Es lassen sich keine Nitratreduktase und keine Hippurat-Hydrolyse nachweisen. Charakteristisch ist die Resistenz gegen Nalixidinsäure und die Sensibilität gegenüber Cefalotin (SUERBAUM(a) 1996). Die Bestätigung erfolgt durch das Grampräparat, das die typischen spiralförmigen oder gebogenen Bakterien zeigt.

1.2.2. Andere Spezies der Gattung *Helicobacter*

Neben *H. pylori* gibt es noch zahlreiche weitere Spezies der Gattung *Helicobacter*. Sie besetzen bei Tier und Mensch nicht nur den Magen als ökologische Nische, sondern es wurden auch *Helicobacter*-Spezies im Darm, hepatobiliären System, Gelenken, Blut und Pankreas nachgewiesen (BOHR 2000).

Jede *Helicobacter*-Spezies hat sich hervorragend an seine entsprechende ökologische Nische angepaßt. So gibt es zahlreiche Unterschiede z.B. hinsichtlich der Anordnung der Geißeln als auch der Bildung von Urease, die nicht von jeder Spezies gebildet wird (BOHR 2000). *H. pylori* hat sich jedoch ausschließlich an die Schleimhautverhältnisse des Magens angepaßt und ist, da er nicht sehr wirtsspezifisch ist, auch bei anderen Primaten zu finden (DUBOIS 1996). Eine Übersicht über die wichtigsten Arten gibt die Tabelle 1. An der großen Anzahl der *Helicobacter*-Spezies, die außerhalb des Magens gefunden wurden, kann man erkennen, daß diese Gattung auch immer mehr an Bedeutung bei Erkrankungen außerhalb des Magens gewinnt.

Tabelle 1: Helicobacter (H.): Arten und Vorkommen verschiedener Spezies der Gattung Helicobacter (nach BOHR 2000).

Arten	Vorkommen	Ort des Keimnachweises
H. acinonyx	Gepard, Tiger	Magenschleimhaut
H. bilis	Maus, Ratte, Mensch	Galle und Leber, Intestinum, Galle und Gallenblase
H. bizzozeronii	Hund	Magenschleimhaut
H. canis	Hund, Katze, Mensch	Intestinum, Leber, Intesti- num und Fäzes
H. cholecystus	Hamster	Gallenblase
H. cinaedi	Mensch, Hamster	Rektalabstriche, Blut, Liquor, Intestinum
H. felis	Hund, Katze, Mensch	Magenschleimhaut
H. fennelliae	Mensch	Blut, Rektalabstrich
H. heilmannii (Typ 1)	Mensch	Magenschleimhaut
H. heilmannii (Typ 2)	Hund, Katze	Magenschleimhaut
H. heilmannii Stamm AF53	Schwein	Magenschleimhaut
H. hepaticus	Maus	Leber, Intestinum
H. muridarum	Ratte, Maus	Magenschleimhaut, Intesti- num
H. mustelae	Frettchen	Magenschleimhaut
H. nemestrinae	Affe	Magenschleimhaut
H. pamatensis	Vögel, Schwein	Fäzes
H. pullorum	Geflügel, Mensch	Intestinum und Leber, Fäzes und Galle/Gallenblase
H. pylori	Mensch, Affe	Magenschleimhaut
H. rodentium	Maus	Intestinum
H. salmonis	Hund	Magenschleimhaut
H. spezies Stamm CLO-3	Mensch	Rektumabstrich
H. spezies Stamm Mainz	Mensch	Kniegelenk, Blut
H. suncus	Spitzmaus	Magenschleimhaut
H. trogontum	Ratte	Intestinum
H. westmeadii	Mensch	Blut

1.2.3. Übertragungswege von Helicobacter pylori

Das natürliche Reservoir für *H. pylori* scheint im Wesentlichen der Magen des Menschen zu sein. Der für diesen Übertragungsweg notwendige Nachweis von lebenden *H.-pylori*-Erregern im Speichel und/oder im Stuhl von *H. pylori* infizierten Patienten ist bisher nur unzureichend gelungen. Hier gibt es sehr unterschiedliche Ergebnisse: Thomas (THOMAS(a) 1992) hat bei 9 von 23 Kindern aus einer Population in Gambia mit einer 90%-Durchseuchung *H. pylori* im Stuhl nachgewiesen. Leverstein van Hall (LEVERSTEIN VAN HALL 1993) hingegen konnte aus dem Stuhl von 8 *H.-pylori*-positiven und 7 *H.-pylori*-negativen Probanden keine Keime anzüchten.

Krajden (KRAJDEN 1989) versuchte *H. pylori* aus dem Speichel und Zahnplaque anzuzüchten. Dies gelang ihm bei 29 Infizierten in nur einem Fall aus dem Zahnplaque und in keinem aus dem Speichel.

Trotzdem scheint für die Übertragung vorrangig der fäkal-orale oder der oro-orale Weg am häufigsten zu sein. Ein Argument für diesen Weg ist, daß die Übertragung durch enge Wohnverhältnisse begünstigt wird und damit zum großen Teil innerhalb der Familie (DRUMM 1990) und bereits in der Kindheit erfolgt (THOMAS(b) 1990). Ein weiterer Punkt ist die weitaus höhere Inzidenz der *H.-pylori*-Infektionen in den Ländern mit niedrigem sozio-ökonomischen Standard (EUROGAST 1993). Auch die Möglichkeit der diaplazentaren Infektion des Ungeborenen durch die *H.-pylori*-positive Mutter muß in Betracht gezogen werden (DURSUN 1998). Eine vektorielle Übertragung durch Hausfliegen ist denkbar (CAVE 1997).

Für alle genannten Übertragungswege gibt es Anhaltspunkte, jedoch gibt es keinerlei Beweise für einen bestimmten Weg.

1.3. Virulenzfaktoren

Um das Überleben von *H. pylori* im Mukus der Magenwand, der variierende pH-Werte zwischen 2.0 und 7.2 aufweist, zu ermöglichen (SCHADE 1994), spielen die

Virulenzfaktoren eine wesentliche Rolle (HAHN(b) 1999). Nur sie ermöglichen eine Überwindung dieser physiologischen Barriere des Magens. In der Folge bohrt sich *H. pylori* mit Hilfe seiner Phospholipase C korkenzieherartig durch die Mukusschicht, die die gesamte Magenschleimhaut auskleidet, und lagert sich mittels verschiedener Proteine auf der Epithelschicht innerhalb der untersten, pH-neutralen Mukusschicht an. Der Erreger ist nicht invasiv.

1.3.1. Urease

Der Faktor, der essentiell für die Kolonisation und das Überleben von *H. pylori* in der Magenschleimhaut ist, ist das von *H. pylori* in enormen Mengen produzierte Enzym Urease (EATON(a) 1991, ANDRUTIS 1995). Sie wird von jedem Stamm gebildet und macht etwa 15% der gesamten Proteinsynthese des Bakteriums aus (BAUERFEIND 1997).

Die Urease wird aus zwei Untereinheiten (UreA und UreB) gebildet, die jeweils ein Nickelatom binden (SUERBAUM(b) 1999). Sie hat ein Molekulargewicht von 540-625 kDa und ist hexametrisch aufgebaut. Die Michaeliskonstante (K_m) beträgt 0,9 mM Harnstoff, die optimale Temperatur beträgt 45°C und der optimale pH-Wert liegt bei 8,2 (DUNN 1990, MOBLEY 1988).

Durch die ureasevermittelte Spaltung von Harnstoff in Ammoniak und Kohlendioxid wird die Säure des Magens in der unmittelbaren Umgebung des Bakteriums neutralisiert, wie in Abbildung 1 demonstriert. So wird das kurzzeitige Überleben von *H. pylori* im sauren Milieu ermöglicht (MARSHALL(a) 1985). Einen länger dauernden Aufenthalt in der Säure des Magenlumens würde der Erreger nicht überstehen (BAUERFEIND 1997).

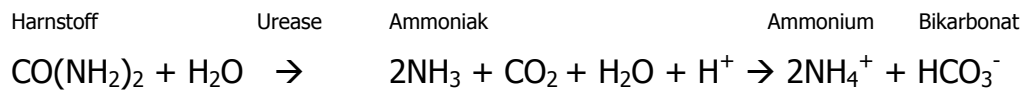


Abbildung 1: Abbau von Harnstoff durch die Urease (MARSHALL(a) 1985)

Die Urease wird im Zytoplasma synthetisiert und befindet sich auch dort. Der Anteil dieser internen Urease an der gesamten Urease beträgt 95% und ist verantwortlich für den Säureschutz (SCOTT (a) 1998). Nach Autolyse einiger H.-pylori-Zellen wird die Urease an die äußere Zellwand der vitalen Erreger gebunden und ist weiterhin aktiv (PHADNIS 1996). Sie hat, da sie erst bei einem pH-Wert über 6,5-8,5 aktiviert wird, keinen Einfluß auf das Überleben im sauren Milieu (SCOTT (b) 1998). Die nicht gebundene Urease ist frei im Umfeld lokalisiert (PHADNIS 1996).

Die Urease von H. pylori dient nicht nur als Schutz vor der Magensäure. Das durch die Ureasereaktion entstandene Ammoniak dient auch als Stickstoffquelle für die Bildung von Aminosäuren (WILLIAMS 1996).

Für das Magenepithel ist das gebildete Ammoniak toxisch. Smoot (SMOOT 1990) untersuchte den Einfluß von H. pylori auf Adenokarzinomzellen anhand von Überlebensraten dieser Zellen nach Zugabe einer H.-pylori-Suspension ohne und mit dem Ureasehemmer Azetohydroxaminsäure. Die Überlebensraten nach 2, 24 und 48 Stunden betragen bei der reinen H.-pylori-Suspension 60%, 27% und 16% und bei Zugabe des Ureasehemmers 92%, 46% und 20%. Sie folgerte daraus, daß das durch die Urease gebildete Ammoniak eine direkte toxische Wirkung auf das Magenepithel haben muß. Tsuji (TSUJII 1992) bestätigt diese Vermutung. Er beobachtete mit steigender Ammoniakkonzentration bei gleichbleibendem pH-Wert eine Zunahme von Erosionen in der Magenschleimhaut von Ratten.

Die Entzündungsreaktion der Magenschleimhaut, und nachfolgend auch die weitere Intensivierung der Zerstörung der Magenschleimhaut, wird durch das menschl-

che Immunsystem hervorgerufen. Die Urease ist hier nur ein Faktor von vielen, die zur Entstehung einer Entzündung der Magenschleimhaut beitragen. Sie stimuliert Monozyten und Makrophagen zur Produktion von $\text{TNF}\alpha$, IL-1 β , IL-6 und IL-8 und unterhält so die Entzündungsreaktion (HARRIS 1996).

1.3.2. Flagellen

Die Flagellen bestehen aus zwei Flagellinproteinen, die von einer membranartigen Hülle umgeben sind. Am Ende jeder Geißel befindet sich das für *H. pylori* typische Endbläschen (GEIS 1989).

Mit Hilfe dieses Virulenzfaktors ist der Erreger beweglich und kann durch den Mucus bis zum Epithel der Magenschleimhaut vordringen, um sich dort anzusiedeln (JOSENHANS 1995). Den Beweis für den zum Überleben von *H. pylori* wichtigen Virulenzfaktor brachte Eaton (EATON(b) 1996). Sie belegte, daß in vitro kultivierte flagellenlose *H.-pylori*-Mutanten nicht länger als 48 Stunden in gnotobiotischen Ferkeln nachgewiesen werden konnten. Es kam also nicht zu einer Kolonisation, geschweige denn zu einer Infektion der Magenschleimhaut der gnotobiotischen Ferkel mit dem Erreger.

1.3.3. VacA

Das vacuolisierende Cytotoxin A (VacA) wurde zuerst von Leunk 1988 beschrieben (LEUNK 1988). Er beobachtete, daß Überstände von einigen *H.-pylori*-Stämmen bei Zellkulturzellen eine Schädigung bewirken, die sich in einer Vakuolisierung des Zytoplasmas äußert. Darauf baute er die Hypothese auf, daß diese *H.-pylori*-Stämme nur bei Patienten zu finden sind, bei denen ein Ulkus diagnostiziert worden war. Jedoch zeigte sich in mehreren Studien, die Atherton miteinander verglich (ATHERTON 1998), daß die Stämme sowohl bei Ulkuskranken wie auch bei Gesunden isoliert worden waren. Lediglich ein größerer Anteil der Ulkus-Stämme exprimierte VacA.

VacA wird als inaktives Protein aktiv in die Umgebung sezerniert. Hier wird es durch den Einfluß der Magensäure in ein aktives 87-kDa-Protein, das aus 2 Unter-einheiten besteht, durch eine Konformationsänderung umgewandelt (DE BERNARD(b) 1995). VacA wird dadurch sowohl gegen den Säureeinfluß als auch gegen Pepsin resistent (DE BERNARD(b) 1995).

Dieses aktive Protein ist ähnlich den intrazellulär wirkenden Exotoxinen (A-B-Toxine): Der eine Teil des Toxins bindet an die Zelloberfläche (die B-Einheit, oder „binding subunit“) und ermöglicht die Aufnahme des gesamten Moleküls in die Zelle. Dort entfaltet der andere Teil die toxische Wirkung (die A-Einheit, oder „active subunit“) (LUPETTI 1996, DE BERNARD(a) 1998). Der daraufhin einsetzende Effekt der Vakuolisierung führt somit zur Zerstörung von Magenepithel und resultiert in Erosion oder sogar Ulzerationen in der Magenschleimhaut.

1.3.4. CagA

Das 128 kDa-Protein CagA (zytotoxin-assoziiertes Antigen) wurde zuerst nur bei H.-pylori-Stämmen beobachtet, die auch VacA produzierten. Daraufhin wurde es als cytotoxin-assoziiertes Antigen bezeichnet (TUMMURU 1993). Bei CagA-positiven Stämmen ist eine stärkere Entzündungsreaktion der Magenschleimhaut nachzuweisen, was auch zu einem erhöhten Risiko führt, an einem Ulkus zu erkranken (PEEK 1995).

Atherton verglich mehrere Studien und fand heraus, daß die Anzahl der CagA-positiven Stämme bei Ulkuspatienten höher liegt als bei Patienten ohne ein Magenulkus (ATHERTON 1998). Trotzdem scheinen die beiden Faktoren sich nicht zu beeinflussen.

Da aber auch viele CagA-positive Patienten symptomfrei sind, ist der Nachweis von CagA zunächst nur als Marker für einen genetischen Unterschied zwischen den H.-pylori-Stämmen anzusehen: Während VacA-Toxin-negative Stämme das VacA-Gen trotzdem tragen, fehlt bei CagA-negativen Stämmen zusätzlich eine größere Gruppe von 20-30 Genen (AKOPYANTS 1995), die als CagA-CagII-

Pathogenitätsinsel (PAI) bezeichnet werden. Diese Pathogenitätsinsel ist bei allen H.-pylori-Stämmen entweder vollständig oder gar nicht vorhanden.

Das vom CagA-Gen codierte Protein sowie seine Funktion sind allerdings weiterhin unbekannt.

Bekannt ist lediglich die immunogene Funktion des CagA-Gen codierten Proteins auf den Organismus: CagA-positive H.-pylori-Stämme führen zur Bildung von Antikörpern gegen CagA, die serologisch nachweisbar sind (COVER 1995) (siehe auch 1.4.6.).

1.3.5. Adhäsine

Die Adhäsine sind für die Anheftung von H. pylori an die Mukosazellen der Magenschleimhaut verantwortlich und erlauben dadurch die Persistenz von H. pylori in der Magenschleimhaut. Hier wurden mehrere Proteine bereits analysiert, jedoch ist der Mechanismus dieser Faktoren noch nicht endgültig geklärt (SUERBAUM(b) 1999). Eines der bereits identifizierten Adhäsine ermöglicht bei einigen H.-pylori-Stämmen eine Bindung mit dem Lewis-B-Blutgruppenantigen (Le^b) (ILVER 1998). Da dieses Adhäsine nicht von allen H.-pylori-Stämmen gebildet wird, ist es womöglich nicht allein verantwortlich für die Adhäsion in der Magenschleimhaut (SUERBAUM(b) 1999).

1.3.6. Weitere Virulenzfaktoren

Die Hitzeschockproteine (Hsp) oder Streßproteine werden von vielen Bakterien und Eukaryonten als Reaktion auf ungünstige Umweltbedingungen ausgestoßen. Bei H. pylori gibt es zwei Hitzeschockproteine: HspA und HspB. HspB ist eng mit der Ureasewirkung verknüpft. Es ermöglicht die Bindung der externen Urease an die Zellwand der Bakterien (PHADNIS 1996). HspA hat eine starke immunogene Wirkung. Im Mausmodell mit Helicobacter felis wurde ein nahezu hundertprozent-

ger Impfschutz nach oraler Gabe eines Antigengemisches von HspA und der B-Untereinheit der Urease erzielt (FERRERO 1995).

Das Lipopolysaccharid (LPS, Endotoxin) kommt bei allen gramnegativen Bakterien vor und besteht aus drei Hauptkomponenten, dem O-Antigen, dem Kernpolysaccharid und dem für die Toxinwirkung verantwortliche Lipid-A (HAHN (a) 1999). Bei *H. pylori* bestehen jedoch erhebliche Unterschiede zu anderen Bakterien. Das Lipid-A hat führt kaum zu einer nennenswerten Immunreaktion (MUOTIALA 1992, MORAN 1997), und das O-Antigen entspricht menschlichen Oberflächenantigenen (Lewis^x und Lewis^y) (MORAN 1996). Beide Eigenschaften des LPS helfen dem Erreger, sich dem Immunsystem zu entziehen. Das O-Antigen dient auch der Adhäsion an das Magenepithel und dient damit der Persistenz (EDWARDS 2000). Eine weitere Eigenschaft des LPS ist die Erhöhung der Pepsinogenproduktion des Magenepithels, und damit eine Möglichkeit der Ulkuserstehung durch diesen Virulenzfaktor (HACKELSBERGER 2000).

1.4. Diagnostik

Durch eine Reihe diagnostischer Verfahren ist es gelungen, die Infektion mit großer Sicherheit nachzuweisen. Für den direkten Nachweis von *H. pylori* ist die Entnahme einer Biopsie aus der Magenschleimhaut während einer Gastroskopie nötig. Aus dieser Biopsie ist zum einen die Anzucht von *H. pylori* möglich, zum anderen kann der Erreger durch die Histologie oder PCR nachgewiesen werden. Der indirekte Nachweis wird über die Urease-Enzymaktivität oder über den Nachweis von Antikörpern gegen *H. pylori* im Blut geführt. Zu diesen Verfahren zählen der Urease-Schnelltest, für den auch die oben genannte Biopsie nötig ist, sowie der ¹³C-Harnstoff-Atemtest und die serologische Untersuchung auf Antikörper gegen *H. pylori*.

1.4.1. Anzucht

Die kulturelle Anzucht von *H. pylori* wird als Goldstandard angesehen, da nur durch sie der Erreger unzweifelhaft nachgewiesen wird und für Typisierungszwecke zur Verfügung steht. Allerdings ist diese Methode als diagnostisches Mittel für den routinemäßigen Nachweis einer *H.-pylori*-Infektion sehr aufwendig, da sie ein mikrobiologisches Labor voraussetzt. Trotzdem hat sie eine unbestrittene Bedeutung, insbesondere wenn der Verdacht einer Antibiotikaresistenz vorliegt, weil eine Antibiogrammerstellung aus dem Isolat möglich ist (GLUPCZYNSKI 1998).

Für die Anzucht werden Biopsien aus der Magenschleimhaut benötigt, die in ein Transportmedium gegeben und innerhalb weniger Stunden bei Raumtemperatur in das Labor transportiert und verarbeitet werden.

Als Transportmedium werden viele unterschiedliche Flüssigmedien eingesetzt, es existiert aber noch keine generelle Empfehlung. Ein Transport bis zu 24 Stunden kann bei Raumtemperatur erfolgen. Bei länger dauerndem Transport (> 24h) ist eine niedrige Temperatur (4-7°C (NILIUS 1996)) von entscheidender Bedeutung für das Überleben der Erreger im Biopsiematerial (GLUPCZYNSKI 1998).

Als Nährböden eignen sich Kochblutagar oder Wilkins-Chalgren-Agar mit folgenden Zusätzen: 1. 7% Pferdeblut, Hammelblut oder Humanerythrozytenkonzentrat und 2. Supplement nach Skirrow zur Unterdrückung der Begleitflora (NILIUS 1996) sowie Vancomycin und Nystatin (KIST 1991) oder Amphotericin B. Die Bebrütung sollte über 3-6 Tage bei 37°C in mikroaerober Umgebung (5-10% CO₂) erfolgen (KIST 1991, NILIUS 1996, OWEN 1998). Nach der Bebrütung erfolgt die Identifizierung der verdächtigen Kolonien mittels Oxidase, Katalase, Urease und Gramfärbung.

1.4.2. Histologie

Für den histologischen Nachweis kann die Routinefärbung Hämatoxylin / Eosin (H.E.) herangezogen werden. Dabei spielt jedoch die Erfahrung des Untersuchers eine große Rolle.

Die zuverlässigere Methode für den H.-pylori-Nachweis ist die Warthin-Starry-Färbung, eine Versilberungsfärbung, die bereits in der Erstbeschreibung angewandt wurde (WARREN 1983). Hierbei heben sich die durch die Versilberung schwarz angefärbten Erreger deutlich von den Zellen ab. In vielen mikrobiologisch-diagnostischen Laboratorien hat sich die Giemsa-Färbung durchgesetzt, die wenig Aufwand erfordert, und überall zur Verfügung steht. Daneben existieren noch eine Reihe anderer Färbungen, wie Kresylviolett, Acridin-Orange und Karbolfuchsin, die zwar eine gute Darstellung der Bakterien erlauben, aber keine Vorteile hinsichtlich der Spezifität und Sensitivität gegenüber den anderen Färbungen bieten (NILIUS 1996).

1.4.3. Polymerase-Kettenreaktion

Für die Polymerase-Kettenreaktion (PCR) sind sehr kleine Bakterienzahlen ausreichend, um eine Infektion nachzuweisen (VALENTINE 1991). Dieser Test ist allerdings erst von Bedeutung, wenn nach erfolgloser Eradikation nur noch sehr wenig Bakterien im Magen sind, und diese mit den anderen Methoden nicht nachweisbar sind. Außerdem sagt die PCR nichts über die Vermehrungsfähigkeit des isolierten Erregers aus. Sie ist daher fast ausschließlich für wissenschaftliche Fragestellungen geeignet, insbesondere für die Typisierung verschiedener H.-pylori-Stämme und die Abgrenzung von anderen Helicobacter Spezies.

1.4.4. Urease-Schnelltest

Die einfachste und schnellste Methode, um H. pylori nachzuweisen, ist der Urease-Schnelltest. Dazu wird eine bei der Gastroskopie entnommene Biopsie aus der

Magenschleimhaut in eine Harnstoff-Lösung, die mit dem pH-Indikator Phenolrot versehen ist, gebracht. Bei Abbau des in der Lösung enthaltenen Harnstoffs steigt der pH-Wert der Lösung an, und es erfolgt ein sichtbarer Farbumschlag (von gelb nach rot) (McNULTY 1985, MARSHALL(b) 1987).

1.4.5. Atemtest

Auch der Atemtest beruht auf der Grundlage der Urease-Reaktion: ^{13}C -markierter Harnstoff wird nach einer fettreichen Standardmahlzeit getrunken. Wenn eine Infektion mit *H. pylori* vorliegt, entsteht durch dessen Ureaseaktivität ^{13}C -Kohlendioxid. Durch die vorherige Markierung des C-Atoms kann nun massenspektrometrisch $^{13}\text{CO}_2$ in der Ausatemluft gemessen werden (LOGAN 1991). Diese Methode ist nicht invasiv und nicht radioaktiv und kann zur Kontrolle nach Eradikation oder zur Untersuchung von Kindern herangezogen werden.

1.4.6. Serologie

Die serologischen Nachweisverfahren beruhen auf dem Nachweis von IgG/IgA-Antikörpern gegen *H. pylori* im Serum. Dieser wird mittels eines ELISA-Tests durchgeführt und dient in der Praxis der Screening-Funktion oder der Überwachung des Therapieerfolgs (NILIUS 1996, KUIPERS 1993).

1.5. Bewertung der diagnostischen Methoden

Die oben beschriebenen Methoden haben alle ihren Stellenwert für die Diagnostik der *H.-pylori*-Infektion.

Um zu einer sicheren Diagnose zu gelangen, ohne überflüssige Untersuchungen durchführen zu müssen, muß man nach der jeweiligen Situation entscheiden. Ru-

ne hat dazu Empfehlungen aufgestellt (siehe Tabelle 2), wann welcher Test sinnvoll ist (RUNE 1996):

Tabelle 2: Diagnostik der H.-pylori-Infektion in Abhängigkeit von der klinischen Symptomatik

Symptome	Test
Dyspeptische Symptome	Urease-Schnelltest und/oder Histologie
Ulcus duodeni mit negativem Urease-Schnelltest	Atemtest oder Serologie
Zuvor diagnostizierter Ulcus duodeni und dyspeptischen Symptome	Atemtest oder Serologie
Zuvor diagnostizierter Ulcus ventriculi und dyspeptischen Symptomen	Urease-Schnelltest und/oder Histologie
Rezidivierende Beschwerden nach Eradikation	Atemtest oder Urease-Schnelltest und Anzucht (Antibiogramm)
Keine Beschwerden	Serologie, wenn positiv: Atemtest als Bestätigung
Eradikationstherapie (Kontrolle)	Atemtest
Erneute Infektion nach Therapie (Screening der Umgebung)	Atemtest und Serologie, eventuell PCR-Analysen

Aus dieser Aufstellung kann man erkennen, daß die auf der von H. pylori gebildeten Urease basierenden Tests (Atemtest, Urease-Schnelltest) am häufigsten eingesetzt werden und somit einen hohen diagnostischen Stellenwert haben. Hier wird die Bedeutung der Urease für die Diagnostik der Helicobacter-pylori-assozierten Erkrankungen deutlich.

Dieses Vorgehen führt zweifellos zu einer Diagnose mit der Konsequenz einer nebenwirkungsreichen antibiotischen Therapie bei jedem Infizierten mit oder ohne Symptomatik. Auch Graham fordert, daß alle Menschen, bei denen eine H.-pylori-

Infektion nachgewiesen werden kann, mit dieser Therapie behandelt werden müssen (GRAHAM(b) 1997).

Eine andere Möglichkeit liegt darin, bei der Diagnostik besonders virulente H.-pylori-Stämme zu erkennen. Wenn dies gelingt, besteht die Möglichkeit, einem symptomfreien H.-pylori-Träger eine solche Therapie zu ersparen, und die, die einen besonders virulenten H.-pylori-Stamm in sich tragen, einer gezielten Therapie zuzuführen. Dies würde auch der Entwicklung einer Antibiotikaresistenz entgegenwirken.

Da die Urease exzessiv von H. pylori produziert wird, für die Kolonisation unverzichtbar ist und die wichtigste diagnostische Grundlage ist, liegt es nahe, die Ureaseaktivität als Marker für die Virulenz eines Stammes zu verwenden.

Zuvor sollte allerdings sichergestellt werden, daß das Enzym eine stammkonstante Aktivität besitzt und zuverlässig reproduzierbar ist.

Ito (ITO 1995) hat bereits Unterschiede in der Ureaseaktivität gemessen und diese mit dem klinischen Erscheinungsbild korreliert. Aus seinen 57 Isolaten folgerte er, daß die Ureaseaktivität bei 11 H.-pylori-Stämmen, die von Magenkarzinompatienten isoliert worden waren, signifikant höher lagen als bei Gastritis- oder Ulkuspatienten. Allerdings wurde pro Stamm nur einmal, exemplarisch an zwei Stämmen dreimal untersucht, ob die Ureaseaktivität stammkonstant und somit auch als stammspezifisch gewertet werden kann.

Aus der 1-3maligen Ureasebestimmung diese Folgerung zu schließen, scheint sehr gewagt, da es sich auch um ein zufallsbedingtes Ereignis handeln könnte. Die Konstanz der Ureaseaktivität von H. pylori muß an sehr viel mehr Stämmen belegt werden. Diese Aktivität muß in erster Linie streng reproduzierbar sein, um zu jedem Zeitpunkt immer gleiche Aussagen über einen bestimmten H.-pylori-Stamm machen zu können.

Erst dann darf aus der Enzymaktivität durch Korrelation mit der Klinik eine prognostische Aussage gemacht werden.