

Aus der Medizinischen Klinik und Poliklinik II Großhadern  
der Ludwig-Maximilians-Universität München  
Direktor: Prof. Dr. med. B. Göke

**Effektivität der neuen 7-Tage-Tripel-Therapie  
mit Esomeprazol, Rifabutin und Amoxicillin bei Infektionen  
mit Makrolid- und Imidazolresistenten  
*Helicobacter pylori* Stämmen**

Dissertation  
zum Erwerb des Doktorgrades der Medizin  
an der Medizinischen Fakultät der  
Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von  
Annett Kroettinger  
aus Hamburg  
2002

Genehmigung der medizinischen Fakultät  
der Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr. E. Bayerdörffer

Mitberichterstatter: Prof. Dr. W. Heldwein

Dekan: Prof Dr. Med. Dr. h.c. K. Peter

Tag der mündlichen Prüfung: 19.12. 2002

## INHALTSVERZEICHNIS

<b>1.</b>	<b>EINFÜHRUNG</b>	<b>4</b>
1.1.	Historischer Überblick	4
1.2.	Epidemiologie von <i>Helicobacter pylori</i>	5
1.2.1.	Prävalenz und begünstigende Infektionsfaktoren	5
1.2.2.	Erregerreservoir und Übertragungswege	6
1.3.	Bakterielle Physiologie von <i>Helicobacter pylori</i>	7
1.3.1.	Morphologische und biochemische Eigenschaften	7
1.3.2.	Virulenzfaktoren von <i>Helicobacter pylori</i>	8
1.4.	Pathogenese, Entzündung und immunologische Reaktionen	10
1.5.	Pathologie der <i>Helicobacter pylori</i> Infektion an der Magenschleimhaut	11
1.5.1.	<i>Helicobacter pylori</i> und gastroduodenale Physiologie	11
1.5.2.	Akute <i>Helicobacter pylori</i> Infektion	12
1.5.3.	Histologische Charakteristika der <i>Helicobacter pylori</i> Gastritis	13
1.5.4.	Folgen der <i>Helicobacter pylori</i> Infektion	13
1.5.4.1.	Das <i>Ulcus duodeni</i> – Eine <i>Helicobacter</i> Infektionsfolge	14
1.5.4.2.	Das <i>Ulcus ventriculi</i> – Eine <i>Helicobacter</i> Infektionsfolge	14
1.6.	<i>Helicobacter pylori</i> Gastritis	15
1.6.1.	Klassifikation und Graduierung	15
1.6.2.	Häufigkeit der Gastritiden	16
1.7.	Diagnostische Methoden der <i>Helicobacter pylori</i> Infektion	17
1.7.1.	Invasive Methoden	17
1.7.2.	Nicht-invasive Methoden	19
1.8.	Verfahren zur Sensibilitätstestung von <i>Helicobacter pylori</i>	21
1.9.	Therapeutische Verfahren zur Eradikation von <i>Helicobacter pylori</i>	22
1.9.1.	Indikationen zur Therapie der <i>Helicobacter pylori</i> Infektion	22
1.9.2.	Verwendete Substanzen	22
1.9.3.	Therapieschemata zur Eradikation von <i>Helicobacter pylori</i>	26
1.9.3.1.	Monotherapie	26
1.9.3.2.	Dualtherapie	26
1.9.3.3.	Klassische Tripel- /Quadrupel-Therapie	26

1.9.3.4. Kurzzeit-Tripel-Therapie (PPI-basierte Tripel-Therapie)	26
1.9.3.5. Resistenzentwicklung beim <i>Helicobacter pylori</i>	27
1.9.3.6. Einfluss der Resistenzen auf die Eradikationstherapie und Entwicklung einer sekundären Resistenz	29
1.9.3.7. Therapieentwicklung bei Vorliegen einer Antibiotikaresistenz	30
<b>2. FRAGESTELLUNG / ZIELSETZUNG</b>	<b>32</b>
Flußdiagramm des Studienablaufs	33
<b>3. PATIENTEN UND METHODEN</b>	<b>34</b>
3.1. Patienten	34
3.1.1. Teilnehmer/Einschlusskriterien	34
3.1.2. Ausschlusskriterien	35
3.2. Methoden	35
3.2.1. Endoskopie und Biopsie	36
3.2.2. Histologische Bearbeitung und Auswertung des Biopsiematerials	37
3.2.3. Mikrobiologische Bearbeitung und Auswertung des Biopsiematerials	
3.2.4. Anamnese und Monitoring	41
3.2.5. Statistische Auswertung	41
<b>4. ERGEBNISSE</b>	<b>42</b>
4.1. Demographische Daten der Patienten	42
4.2. Mikrobiologische Ergebnisse	43
4.3. Therapieergebnisse	43
4.3.1. Ergebnisse der Eradikationstherapie	43
4.3.2. Unerwünschte Ereignisse /Wirkungen der Therapie	45
4.3.3. Ergebnisse der Cross-over-Therapie	46
<b>5. DISKUSSION</b>	<b>48</b>
<b>6. ZUSAMMENFASSUNG</b>	<b>58</b>
<b>7. REFERENZEN</b>	<b>60</b>
<b>8. DANKSAGUNG</b>	<b>76</b>
<b>9. LEBENS LAUF</b>	<b>77</b>

## **1. EINFÜHRUNG**

### **1.1. Historischer Überblick**

Von der Erstbeschreibung eines spiralförmigen Mikroorganismus in der Magenschleimhaut des Hundes durch Bizzozero im Jahr 1893 [18] bis zur revolutionären Erkenntnis über die pathogenetische Bedeutung für den Menschen vergingen fast 100 Jahre. 1906 beschrieb der Pathologe Krienitz das Vorkommen von Spirochäten in der Umgebung von Magenkarzinomen. Konjetzny spekulierte bereits 1928 [94] über eine pathogene Bedeutung in der Entstehung von Defekten im Magen. 1938 entdeckte Doenges [43] bei ca. 50% seiner untersuchten Leichenmägen Spirochäten auf der gastralen Mukosa des Menschen auch ohne Zusammenhang mit dem Vorhandensein eines Magenkarzinoms. Da die Mehrzahl der autopsierten Mägen starken autolytischen Veränderungen unterlag, zog er hieraus keine Konsequenzen. Freedberg und Baron [56] fiel 1940 auf, dass diese Keime sich in der Nähe von benignen und malignen Ulzerationen aufhielten, wiesen den Keimen aber nur eine opportunistische Funktion zu. Durch die Entwicklung der fiberoptischen, flexiblen Gastroskopie gelang es Steer und Colin-Jones 1975 [170] das Vorkommen von gram-negativen Bakterien in den Biopsien der antralen Magenschleimhaut nachzuweisen. Der eigentliche Durchbruch in der Entwicklung und Beschreibung von *Helicobacter pylori* gelang durch die Isolierung und die kulturelle Anzucht eines Urease-bildenden Mikroorganismus in der gastralen Mukusschicht bei Patienten mit chronischer Gastritis und gastralen Ulzerationen durch den Pathologen Robin Warren und dem Mediziner Barry Marshall am Royal Perth Hospital in Western Australia 1982 [191]. Der Veröffentlichung im Lancet 1983 wurde aber seitens der Mediziner kaum eine Bedeutung beigemessen. Erst weitere vier Jahre später wurde bekannt, dass eine Behandlung des zunächst als *Campylobacter pyloridis* bezeichneten Mikroorganismus zu einer signifikanten Heilung der mit diesem Keim assoziierten Ulzerationen führte. 1989 begann dann die Ära des dann als *Helicobacter pylori* bezeichneten Keimes [66]. Erstmals in der Geschichte der Humanmedizin wurde eine kausale Therapie einer der häufigsten, nicht spontan heilenden, mit lebensbedrohlichen Folgeleiden verbundenen Infektionskrankheit in einem der größten menschlichen Hohlorgane möglich.

**Abb. 1: Phasenkontrastmikroskopische Aufnahme von *Helicobacter pylori***



## 1.2. Epidemiologie von *Helicobacter pylori*

1.2.1. *Prävalenz und begünstigende Infektionsfaktoren.* Nach aktuellen Erkenntnissen beträgt die Prävalenz der *Helicobacter pylori* Infektion in der Weltbevölkerung ca. 50%. Zwar bestehen in den Entwicklungsländern die höchsten Durchseuchungsraten, aber auch in einigen Industrienationen sind bis zu 80% der über 55-jährigen infiziert [49,120]. Extrem niedrige Durchseuchungsraten gibt es bei den australischen Ureinwohnern (1%), sowie im Nordosten von Malaysia (4%). Die Eurogast-Studie belegte, dass es innerhalb einer Region große Unterschiede der Durchseuchungsrate gibt. So beträgt beispielsweise die Infektionsrate der 25- bis 34-jährigen in Augsburg ca. 18%, in Deggendorf hingegen ca. 40%. Gesichert ist, dass die meisten Infektionen bereits vor dem 10. Lebensjahr erfolgen [37], wobei in dieser Altersgruppe der Keim auch zu einem beträchtlichen Anteil wieder spontan eliminiert werden kann. In den folgenden Lebensjahren ist nur noch mit einem geringen Anstieg der Serumprävalenz zu rechnen. (Industrieländer 0,3–1%; Entwicklungsländer 1,9% pro Lebensjahr) [9,37,95,163,164]. Die in den Prävalenzstudien beobachtete Zunahme der Infektionshäufigkeit ist auf ein sogenanntes Kohortenphänomen zurückzuführen. Dies bedeutet, dass in den letzten Jahrzehnten die Infektionshäufigkeit bei den

Jugendlichen deutlich zurückgegangen sein muss. Kuipers et al. und Sipponen et al. kalkulieren diesen Rückgang mit 10% pro Lebensdekade [162,165]. Zwillingsstudien erhärten die Annahme, dass es eine genetisch determinierte Infektanfälligkeit gibt. Trotz dieser Studienergebnisse spielen die sozio-ökonomischen Verhältnisse die entscheidende Rolle für die Infektionswahrscheinlichkeit [144,192]. Ein niedriges Einkommen war mit doppelt so häufigen Infektionsraten assoziiert, unabhängig von einem späteren sozialen Aufstieg. Studien belegen daneben eindeutig die Rolle der intrafamiliären Übertragungswege [7,46,128]. Entscheidend begünstigende Infektionsfaktoren sind beengte Wohnverhältnisse, eine hohe Geschwisterzahl, fehlende Warmwasserversorgung, Gemeinschaftstoiletten sowie eine Dyspepsieerkrankung der Eltern [58,157]. Dabei waren die nachgewiesenen *Helicobacter* Stämme bei einer DNA-Typisierung bzw. in 66% der Antikörperprofile bei den Familienmitgliedern entweder identisch oder sehr ähnlich. Studien zur Untersuchung der Keimübertragung bei besonderen Berufsgruppen ergaben eine signifikant höhere Durchseuchung bei Krankenpflegepersonal und zwar proportional zur Dauer der Berufstätigkeit [194,108]. Hyams et al. berichten außerdem von einem höheren Infektionsrisiko bei Militärpersonal, insbesondere beim Zusammenleben auf engstem Raum [80].

1.2.2. *Erregerreservoir und Übertragungswege.* Für *Helicobacter pylori* sind die Magenschleimhaut, sowie die Schleimhäute mit gastraler Metaplasie (Duodenum, Ösophagus) des Menschen das Hauptreservoir. Zwar wurde das Bakterium auch im Speichel, Stuhl und in Zahnplaques nachgewiesen, die Relevanz zum Infektionsmodus erscheint aber recht widersprüchlich. *Helicobacter* verschiedener Typen wurden auch in der Magenschleimhaut von Katzen, Affenarten, Pferden, Kälbern und Schweinen nachgewiesen. Da es sich um unterschiedliche Typen handelt, haben sie keine Bedeutung als Keimreservoir und Ansteckungsquelle. Der im Menschen vorkommende *Helicobacter pylori* wurde bisher nur im Menschen nachgewiesen. Aufgrund des Keimreservoirs kann die Infektion entweder oro-oral (Speichel, Schleimhautkontakt), gastro-oral (zyklisches Erbrechen, Virusinfekte, Reflux, Aerosole) oder fäkal-oral (kontaminiertes Wasser, Schmierinfektion, verschmutzte Nahrungsmittel) [89,128,142] übertragen werden. Insgesamt muss wohl postuliert werden, dass mehrere Übertragungswege gleichzeitig eine Rolle spielen. Zusammen mit den sozio-ökonomischen Risikofaktoren ergeben die bisher erhobenen Befunde ein

vielschichtiges Bild der Keimübertragung. Der Rückzug der *Helicobacter pylori* Infektion weltweit korreliert wahrscheinlich mit den gebesserten Hygienebedingungen.

### **1.3. Bakterielle Physiologie von *Helicobacter pylori***

1.3.1. *Morphologische und biochemische Eigenschaften.* *Helicobacter pylori* gehört zu den gramnegativen Bakterien mit einer einfach gebogenen und mit bis zu drei Windungen spiralförmigen Zellform. Eine rundliche kokkoide Form kommt bei älteren Zellen vor. Am Pol des Bakteriums sorgen 6-8 Geißeln (Flagellen) (Abb. 1, S. 5), die mit einer säureschützenden Hülle [107] umgeben sind [59,61] für seine ausgeprägte Motilität. Klonierte inaktive Varianten sind nicht in der Lage länger als 2–4 Tage eine Kolonisation und Infektion aufrecht zu erhalten [52,54]. Zum Genus *Helicobacter*, dessen zahlreiche Mitglieder in hohem Maße wirtsspezifisch sind, gehört als weitere menschenpathogene Spezies das kulturell schwer anzüchtbare Bakterium *Helicobacter heilmannii*, dessen Infektion eine leichtgradige Gastritis auslösen kann. *Helicobacter pylori* enthält ein kleines Genom von nur  $1,65 \times 10^6$  Basenpaaren, welches in Korrelation mit seinen hohen Nährstoffansprüchen steht. Die Hälfte der bis zu 7% vorkommenden stammspezifischen Gene sind auf einer hochvariablen Chromosomenregion („plasticity region“) lokalisiert. Ein besonderes Merkmal von *Helicobacter pylori* ist seine ausgeprägte genetische Variabilität, nur selten können identische Stämme von verschiedenen Patienten isoliert werden [194]. Häufig besteht eine intraindividuelle Besiedelung mit genetisch unterschiedlichen *Helicobacter pylori* Stämmen, worunter sich meist ein dominanter Stamm befindet [84,140]. Der Nachweis zweier identischer Stämme bei verschiedenen Patienten weist dann auf einen direkten epidemiologischen Zusammenhang der Infektionen hin [189]. Zur kulturellen Anzucht benötigt *Helicobacter pylori* reichhaltige Nährmedien, z.B. frische Blutagarplatten oder Kochblutplatten. Zur Hemmung einer Kontaminationsflora werden diese zusätzlich mit Antibiotika supplementiert. Das beste Wachstum zeigt sich in mikroaerophober Atmosphäre. Nach 3–5 Tagen wachsen dann bis zu 1,5 mm große, glänzende, transparente Kolonien und zeigen die typische Koloniemorphologie (Abb. 2). Nach einigen Passagen im Labor sind die Nährstoffansprüche dann geringer. Die Vermehrung findet dann auch bei 10% CO<sub>2</sub>-angereicherter Luft im CO<sub>2</sub> - Brutschrank statt.

**Abb. 2: Kulturplatte mit *Helicobacter pylori***



Die kulturelle Anzucht von *Helicobacter pylori* ist die Voraussetzung für eine Resistenztestung

1.3.2. *Virulenzfaktoren von Helicobacter pylori.* Obwohl *Helicobacter pylori* im Labor aufgrund seiner hohen Nährstoffansprüche schwer anzüchtbar ist, erlauben seine Virulenzfaktoren (z.B. Urease, Adhäsine, Zytotoxine, Hitzeschockproteine, Lipopolysaccharide, immunmodulatorische Faktoren) die Überwindung der Abwehrmechanismen (z.B. Säure, Mukus, Peristaltik) des Wirts und die Besiedelung des Magens. Die Urease wird in die unmittelbare Umgebung von *Helicobacter pylori* abgegeben [129] und ist für die Fähigkeit die Magenschleimhaut zu kolonisieren essentiell. Sie katalysiert die Spaltung von Harnstoff in Ammoniak und Kohlendioxid, so dass eine Ammoniakwolke das Bakterium umgibt, welche durch Neutralisierung der Magensäure [160,165] seine Überlebensfähigkeit ermöglicht. Durch seine besondere Morphologie erreicht *Helicobacter pylori* eine sehr hohe Beweglichkeit (Motilität) im viskösen Mukus der Magenschleimhaut. Hierdurch besiedelt das Bakterium die Epithelschicht des Magens [75] und schafft sich trotz ständiger Erneuerung des Mukus durch den Wirt ein Keimreservoir. Adhärenz bezeichnet die Fähigkeit von *Helicobacter pylori* über die Vermittlung von Adhäsinen [51,111,123] eine spezifische Bindung (Zell-Zell-Adhärenz) an der Epithelzelle des Magens zu bewirken. Über die Phospholipase C von *Helicobacter pylori* wird nach Überwinden der Phospholipidschicht ebenfalls die Adhärenz an die Rezeptoren des Mukus und der Epithelschichten der

Magenschleimhaut ermöglicht. Weitere entscheidende Virulenzfaktoren sind die Zytotoxine, welche für die Entstehung der Schleimhautläsionen verantwortlich sind [177]. Hierzu gehört das Vakuolisierende Antigen (VacA). Es verursacht eine Zellschädigung durch Vakuolisierung des Zytoplasmas [106] und ruft schwerwiegende Störungen der intrazellulären Membranumbau-Vorgänge hervor. Der Arbeitsgruppe von Cover et al. gelang es das Vakuolisierende Zytotoxin (VacA) zu isolieren und das hierzu kodierende Gen (VacA-Gen) zu klonieren [29]. Das VacA-Zytotoxin (87kDa-Protein) wird durch aktive Mechanismen aus der Bakterienzelle zunächst als inaktives Protein [38] in das umgebende Milieu sezerniert und dann durch den Kontakt mit dem sauren Milieu des Magens (pH 5,5–6) aktiviert. Nach Aktivierung besteht dann eine hochgradige Resistenz gegen die Verdauung durch Pepsin und Säure. Hierdurch erklärt sich auch die Entstehung von Läsionen im Duodenum, wobei *Helicobacter pylori* im Magen aktiviert und erst dann in das Duodenum transportiert wird. Jenseits des Duodenums wird das Toxin dann vermutlich durch die proteolytischen Enzyme inaktiviert. Das kodierende VacA-Gen ist zwar in allen Stämmen von *Helicobacter pylori* nachweisbar [159], aber nicht jeder Stamm bildet das VacA-Zytotoxin. Es wird angenommen, dass die Toxin-negativen Stämme inaktive VacA-Gene besitzen [4]. Ein weiteres ausgeprägt immunogen wirksames Antigen ist das Cytotoxin-assoziierte Antigen (CagA-Antigen) ein 128–140 kDa-Protein, welches in den USA und Europa von ca. 70% und in Asien praktisch von allen Stämmen von *Helicobacter pylori* gebildet wird. Die funktionelle Bedeutung dieses Antigens ist bis heute unbekannt [160]. Es zeigt sich allerdings eine statistische Korrelation mit der Bildung von VacA-Zytotoxin. Das zu kodierende Gen (CagA-Gen) kommt im Gegensatz zum VacA-Gen nur bei CagA-Antigen positiven Stämmen vor [3]. Somit kann der CagA-negative Phänotyp als ein serologischer Marker für die genetischen Unterschiede der Stämme herangezogen werden. Akopyants et al. zeigten außerdem, dass bei CagA-negativen Stämmen nicht nur das CagA-Gen sondern auch eine größere Gruppe von 29 Genen fehlt, deren Region als Cag-Pathogenitätsinsel bezeichnet wird, ohne dass die funktionelle Bedeutung der dort lokalisierten Gene für die Pathogenese der Ulkuserkrankung derzeit genau beurteilt werden kann [3]. Die Bedeutung der Pathogenitätsinsel für die Schwere der Gastritis und das Risiko eines Patienten, eine Komplikation der *Helicobacter pylori* Infektion zu entwickeln, ist allerdings mittlerweile

gut belegt. CagA-positive Stämme induzieren eine stärkere Gastritis, bewirken eine stärkere Freisetzung von Entzündungsmediatoren, insbesondere IL-8 [30,31] und sind signifikant häufiger mit einer Ulkuskrankheit, einem Karzinom oder einem MALT-Lymphom assoziiert. Stämme, die kein CagA oder VacA-Protein exprimieren, zeigen nur eine minimale IL-8 Sekretion [30]. Weitere Pathogenitätsfaktoren von *Helicobacter pylori* sind die sogenannten Hitzeschockproteine (HspA und HspB), die insbesondere unter ungünstigen Umweltbedingungen („Stress“) von *Helicobacter pylori* gebildet werden. Gegen das Hitzeschockprotein HspB wird im Verlauf der Infektion ein hoher Antikörper-Titer ausgebildet. Ein weiterer Pathogenitätsfaktor ist das Lipopolysaccharid (LPS, Endotoxin) als Bestandteil der äußeren Zellmembrane. Seine Bestandteile (Lipid A, Kernoligosaccharid, O-Seitenkettenpolysaccharid) sind verantwortlich für die toxische und immunmodulatorische Wirkung [60] und somit für die Fähigkeit zur Langzeitpersistenz in der Magenschleimhaut des Wirtes. Des Weiteren ist *Helicobacter pylori* in der Lage, über verschiedene immunmodulatorische Faktoren (Proliferationshemmender Faktor, Superoxid-dismutase (SOD) und Katalase) [74,91,92,167] die Immunreaktion des Wirtes aktiv zu beeinflussen und somit eine Langzeitpersistenz zu ermöglichen.

#### **1.4. Pathogenese, Entzündung und immunologische Reaktionen**

Der pathogene Effekt von *Helicobacter pylori* entfaltet sich einerseits durch dessen Virulenzfaktoren, andererseits durch die reaktiv, entzündlich-immunologische Antwort der Wirtsschleimhaut. Die akute Gastritis geht dann aufgrund der fehlenden Selbstheilung unbehandelt in eine chronische Gastritis über, die dann bei etwa 10 - 20% der Infizierten zu einer klinisch manifesten Erkrankung führt.

Der pathogene Effekt von *Helicobacter pylori* erfolgt exklusiv an der Magenschleimhaut oder dort, wo aufgrund einer gastralen Metaplasie die Voraussetzung für eine *Helicobacter pylori* Besiedelung gegeben ist. Zu den genetisch bedingten, spezifischen Wirtskonstellationen, die eine *Helicobacter pylori* Infektion begünstigen oder zu einer bestimmten Krankheitsmanifestation führen können, zählen das Geschlecht, der HLA-Genotyp, die Blutgruppen sowie die individuelle Magensäurephysiologie.

Nach oraler Infektion kolonisiert *Helicobacter pylori* durch seine besonderen Virulenzfaktoren den Mukus (500µm) der Magenschleimhaut. Im wesentlichen wird als immunogene Reaktion über die Virulenzfaktoren von *Helicobacter pylori* eine neutrophile Infiltration der Magenschleimhaut mit der Folge der Adhärenz von neutrophilen Granulozyten an die endothelialen Zellen induziert [113,203]. Zahlreiche bakterielle Faktoren werden für die von den Neutrophilen getragene Immunantwort und für die degenerativen Epithelveränderungen in der akuten Phase verantwortlich gemacht [35,132,133,136]. Durch die Adhärenz des Keimes kommt es im Rahmen einer immunogenen Antwort zur Induktion von intrazellulären Veränderungen [30,31,34,36]. Im Rahmen von Untersuchungen bei Patienten mit chronischer Gastritis findet sich eine drastische Erhöhung von IL-8 [32]. Im Rahmen der neutrophilen Infiltration sind diese am Infektionsort ebenfalls Quellen von entzündungsfördernden Zytokinen wie IL-1, TNF- $\alpha$  und IL-8, Proteasen (Neutrophile Elastase, Cathepsin G) und oxidative Metaboliten. Hierdurch wird die Stimulation der zellulären Immunantwort auf die Infektion gefördert. Außerdem werden aus dem Magenepithel zahlreiche weitere Mediatoren (TNF- $\alpha$ , Interleukine) freigesetzt [55,106,137]. Ferner kommt es zu einer Aktivierung von Monozyten und Makrophagen. Zusätzlich zur direkten bakteriellen Stimulierung wird IL-8 zusammen mit IL-1, IL-6, TNF $\alpha$  und MIP-1 auch durch aktivierte Monozyten/Makrophagen und Fibroblasten produziert und bestimmt das "Zytokin-Milieu" während der *Helicobacter pylori* Infektion mit.

## **1.5. Pathologie der *Helicobacter pylori* Infektion an der Magenschleimhaut**

1.5.1. *Helicobacter pylori* und gastroduodenale Physiologie. Im Rahmen einer Infektion mit *Helicobacter pylori* kommt es bei der peptischen Ulcuskrankheit an der Magenschleimhaut zu einer signifikanten Veränderung der Sekretionsverhältnisse in Form einer stets vorhandenen und für die *Helicobacter pylori* Infektion charakteristischen Hypergastrinämie. Diese ist vor allem Folge der Beeinflussung des physiologischen Hemmmechanismus durch die Beeinträchtigung der Bildung und Freisetzung von Somatostatin aus den antralen D-Zellen mit konsekutiver Verarmung der antralen Mukosa an Somatostatin und der antralen D-Zelldichte [119]. Dies führt letztlich zu einem fehlenden Bremseffekt auf die G-Zellen und infolge zu einer gesteigerten Gastrinausschüttung, sowie im weiteren Verlauf auch zu einem Anstieg

von Pepsinogen A und C. Nach einer Keimeradikation ist die Hypergastrinämie voll reversibel, und die antrale D-Zelldichte nimmt wieder zu. Des Weiteren zeigen Untersuchungen, dass die Gastrinfreisetzung auch durch die im Rahmen der Immunantwort freigesetzten Mediatoren ( $\text{TNF}\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-8 und IFN $\gamma$  und Platelet activating factor (PAF)) gesteigert werden kann. Über eine Stimulation von H<sub>3</sub>-Rezeptoren durch das bakteriell produzierte Histaminanalogon N- $\alpha$ -Methyl-Histamin könnte die *Helicobacter pylori* Infektion ebenfalls zur Hypergastrinämie beitragen. Gastrin ist offenbar ein spezifischer Wachstumsfaktor für Kulturen von *Helicobacter pylori* und könnte so zum Überleben des Keims in seiner ökologischen Nische beitragen. Studien haben gezeigt, dass die *Helicobacter pylori* Infektion nicht zu einem einheitlichen Muster gestörter Säuresekretion führt. Die wichtigste Determinante der gastralen Säuresekretion ist offenbar das Verteilungsmuster der *Helicobacter pylori* Entzündung im Magenantrum und -corpus. Im Rahmen einer chronischen *Helicobacter pylori* corpus-dominanten Gastritis ist die Säuresekretion in der Regel bis hin zur Achlorhydrie reduziert. Die große Mehrzahl der *Helicobacter pylori* Infizierten hat aber eine Pangastitis, mit einer nur mäßig ausgeprägten Entzündung sowohl im Antrum- als auch der Corpasmukosa. Bei dieser Form der *Helicobacter pylori* Gastritis ist die Säuresekretion nicht wesentlich verändert. Welchen Verlauf die gastrale Sekretion unter der Infektion mit *Helicobacter pylori* nimmt dürfte wesentlich durch stammspezifische Eigenschaften des Erregers mitbestimmt sein.

1.5.2. *Akute Helicobacter pylori Infektion.* Die akute Infektion mit *Helicobacter pylori* ist von einer temporären Achlorhydrie ohne Atrophie der Parietalzellen begleitet. In dieser Frühphase der *Helicobacter pylori* Infektion kommt es im Rahmen einer lokalen Immunantwort zu einer ausgeprägten erosiven, exsudativen Gastritis [57,67,158]. Die klinische Symptomatik wird bestimmt von Oberbauch- und Kopfschmerzen, sowie Übelkeit und Erbrechen welche bis zu Monaten andauern können. Die Hemmung der Parietalzellen wird durch bakterielle Fettsäuren und Proteine des Erregers (acid inhibitory factor (AIF)) verursacht [82]. Aber auch die gesteigerte Freisetzung der Zytokine IL-1, IL-8 und  $\text{TNF}\alpha$  aus der entzündeten Magenschleimhaut kann zur Hemmung der Parietalzellfunktion beitragen [135]. Durch die Achlorhydrie wird die

Kolonisation der antralen Mukosa erleichtert. Im weiteren Verlauf kommt es dann im chronischen Stadium wieder zu einer Zunahme der Säuresekretion.

1.5.3. *Histologische Charakteristika der Helicobacter pylori Gastritis.* Die chronische Besiedelung der Magenschleimhaut mit *Helicobacter pylori* führt zu einer chronisch-aktiven Gastritis mit partiellem Ersatz des normalen foveolären Oberflächenepithels durch Regeneratepithel, Schleimdepletion, Bildung von Lymphfollikeln und intestinaler Metaplasie sowie fokaler Atrophie. Die Dichte der Kolonisation der Magenschleimhaut mit *Helicobacter pylori* bestimmt den Grad und die Aktivität der Gastritis, welche im Antrum in der Regel stärker ausgeprägt ist als im Corpus [11,16,47,173,174,180]. Es zeigen sich dann typischerweise kleine erosive Defekte an den Kuppen der Leistenspitzen und im Grübchengrund mit reichlich neutrophilen Granulozyten, Lymphozyten und Plasmazellen, in der Tunica propria und zwischen den Deckepithelien. Diese Mikroerosionen bilden den Weg für die eindringende Säure und Pepsin, welche den Initialzündler für größere erosive Defekte darstellen. Diese sind dann erstmals im Rahmen der Endoskopie als Erosion erkennbar, sowie aufgrund ihrer Morphologie auch von der chemisch induzierten Gastritis abgrenzbar [47].

1.5.4. *Folgen der Helicobacter pylori Infektion.* Nach Todesursachenstatistiken ist die *Helicobacter pylori* Infektion für etwa 2% aller Todesfälle in Ländern der westlichen Welt verantwortlich. Auf dem Boden einer persistierenden Infektion mit *Helicobacter pylori* können sich in Abhängigkeit vom Akquisitionsalter, der bakteriellen Virulenz, Wirts- und nicht zuletzt Umweltfaktoren klinisch relevante Folgeleiden entwickeln. Das Vorkommen spontaner Selbstheilungsverläufe ist selten und scheint nur bei Kindern oder bei Achlorhydrie im Alter aufzutreten. Gesichert ist heute die kausale Rolle der *Helicobacter pylori* Infektion für die gastroduodenale Ulcuskrankheit [163]. Noch kontrovers diskutiert wird die Relevanz der *Helicobacter pylori* Infektion für die funktionelle Dyspepsie. Da sich abzeichnete, dass die *Helicobacter pylori*-assoziierte Gastritis eine präneoplastische Kondition zur Entwicklung von MALT-Lymphomen des Magens und von Magenkarzinomen darstellt, wurde von der WHO 1994 *Helicobacter pylori* den „definitiven Karzinogenen“ zugeordnet [81]. Zwischen der Prävalenz der *Helicobacter pylori* Infektion und Erkrankung an Magenkarzinom konnte mit epidemiologischen Studien ein signifikanter Zusammenhang nachgewiesen werden [141].

1.5.4.1. *Das Ulcus duodeni – Eine Helicobacter Infektionsfolge.* Auf dem Boden epidemiologischer Daten ist das Risiko, an einem Ulcus duodeni zu erkranken, um das 4-fache erhöht, wenn eine Helicobacter pylori Infektion vorliegt. Dieses Risiko steigt um das Vielfache (25-fach) an, wenn die Infektion auf das Antrum dominant ist und zudem mit einer ausgeprägten Entzündungsaktivität der Schleimhaut einhergeht. Die wichtigste Bedingung für die Entstehung eines Ulcus im Bulbus duodeni und im Magen ist die Gastritis. Etwa 20% bis 30% der Patienten mit Helicobacter pylori Gastritis entwickeln eine Ulcuserkrankung [163]. Rund 95% aller Ulcera duodeni sind Folgeleiden der Helicobacter pylori Gastritis. Kausal modulierende Faktoren sind: Soziale Klasse, Geographie, Antrumgröße, Corpusgröße und Pathogenität von Helicobacter pylori. Patienten mit Duodenalulcus haben häufiger eine gesteigerte basale und stimulierte Magensäuresekretion. Diese resultiert, insbesondere bei Patienten mit antrum-dominanter Gastritis, aus einer Hypersekretion von Gastrin und Säure bei gleichzeitiger erhöhter Parietalzellmasse. Im Rahmen eines temporären, relativen Säureüberschusses im Bulbus duodeni entstehen oberflächliche Erosionen der Duodenalschleimhaut, welche in der reparativen Phase durch Oberflächenepithel der Magenschleimhaut ersetzt werden (intestinale Metaplasie), um einen ausreichenden Schutz gegenüber den neuen Säureverhältnissen zu sichern. Hierdurch wird die Möglichkeit der Besiedelung von Helicobacter pylori gebahnt [22,198], welche dann zu einer akuten Helicobacter pylori Bulbitis führt, und die Entzündungskaskade initiieren kann. Bei Ulcus duodeni Patienten ist somit immer eine gastrale Metaplasie im Bulbus vorhanden. Wahrscheinlich sind nur besonders virulente Stämme in der Lage die gastralen Metaplasieareale zu besiedeln. In vielen Untersuchungen wird nachgewiesen, dass bei Patienten mit einem Duodenalulcus eine hohe Dichte der Helicobacter pylori Besiedelung im Antrum angetroffen wird.

1.5.4.2. *Ulcus ventriculi – Eine Helicobacter Infektionsfolge.* Unter Berücksichtigung aller Magenulcera ist die Helicobacter pylori Infektion in etwa 70% als das entscheidende Grundleiden anzusehen. Im Rahmen der Analysen der Magenulcuspatienten mit Ausschluss derjenigen, die nicht steroidale Antirheumatika (NSAR) oder Acetylsalicylsäure (ASS) einnehmen, sind 93-95% der Magenulcera mit einer

*Helicobacter pylori* Gastritis assoziiert. Es entwickeln aber nur ca. 20-30% der Patienten mit *Helicobacter pylori* Gastritis ein Ulcusleiden [163], da die Pathogenität der unterschiedlichen *Helicobacter pylori* Stämme sehr unterschiedlich ist. Das mit der *Helicobacter pylori* Gastritis assoziierte Magengeschwür liegt fast immer in der Antrum- oder Antrum/Corpus-Übergangsschleimhaut und auch meist an der kleinen Krümmung [169]. Für die Entstehung eines sogenannten „peptischen Ulcus“ muss als Grundbedingung ein Mukosaschaden vorliegen, dessen Hauptursache die *Helicobacter pylori* Gastritis ist. Die Einnahme von NSAR ist ein modulierender Faktor. Generell scheint es, dass NSAR-assoziierte Magenläsionen weniger von der *Helicobacter pylori* Infektion abhängig sind, während Läsionen im Duodenum bei gleichzeitigem Vorliegen beider Faktoren eher durch *Helicobacter pylori* bedingt sind. Aufgrund der topographischen Prädilektion von Magenulzera im Angulusbereich werden weitere Faktoren diese „locus minoris resistentiae“ in dem junctionalen mukosalen Übergang (Corpus-Antrum-Schleimhaut), der besonderen Gefäßversorgung und in einer verstärkten Belastung während der Magenkontraktion gesehen.

## **1.6. Helicobacter pylori Gastritis**

### *1.6.1. Klassifikation und Graduierung*

Die meisten der verschiedenen, älteren Klassifikationen vor Wiederentdeckung von *Helicobacter* gehen auf Arbeiten von Schindler [158] zurück, der die „akute“ und „chronische“ Gastritis unterschied und die Begriffe „chronische Oberflächengastritis“ und „chronische atrophische Gastritis“ einführte. In Deutschland wurde überwiegend die Klassifikation von Elster benutzt [48]. 1973 unterschieden Strickland und MacKay [176] die Typ-A- und die Typ-B-Gastritis als die zwei Hauptformen der Gastritis. Die Ursache der Typ-B-Gastritis war bis zur Entdeckung des *Helicobacter* unklar [117,131,174,196]. Nach der Erkenntnis, dass dieser Keim die Hauptursache der Typ-B-Gastritis ist, wurde erstmals eine ätiopathogenetische Klassifikation der Gastritiden möglich. Erste Vorschläge hierzu kamen 1988/89 von Wyatt und Dixon [196] und von der Arbeitsgemeinschaft für gastroenterologische Pathologie in der Deutschen Gesellschaft für Pathologie [78]. Danach wurden 3 Hauptgruppen der Gastritiden unterschieden: Typ-A- Autoimmungsgastritis, Typ-B- Bakteriell-infektiöse Gastritis und Typ-C- Chemisch-induzierte Gastritis. Alle anderen, seltenen Gastritiden wurden unter

„Sonderformen“ zusammengefasst. Diese beiden Klassifikationsvorschläge waren dann die Basis für das 1990 auf dem Weltkongress für Gastroenterologie vorgeschlagene „**Sydney-System**“ [154]. Das Sydney-System war eine weltweit neue, endoskopische und histologische Klassifikation der Gastritis mit Graduierungssystem, Berücksichtigung der Topographie der Gastritis und – erstmals in der Geschichte der Medizin – ätiopathogenetischer Aspekte. Die histologische Klassifikation ist eine Kombination von Ätiologie, Topographie und Morphologie der Gastritis. Die zu graduierenden Parameter der Sydney-Klassifikation sind:

1. Die Chronizität der Entzündung. Definiert als Dichte der Infiltration der Tunica propria der Magenschleimhaut mit Lymphozyten und Plasmazellen.
2. Die Aktivität der Entzündung. Definiert als die Dichte der Infiltration der Magenschleimhaut mit neutrophilen Granulozyten.
3. Die Dichte (Grad) der Besiedelung mit *Helicobacter pylori*.
4. Das Vorkommen fokaler Atrophie des Epithels? (ja/nein)
5. Das Vorkommen von intestinalen Metaplasien im Epithelverband? (ja/nein)

Zusätzlich graduiert Stolte (der zentrale Pathologe der vorliegenden Studie):

6. Den Grad des Ersatzes des foveolären Epithels durch Regeneratepithel.
7. Den Grad der Reduktion der Mukusschicht/Grad der Schleimdepletion.
8. Das Auftreten von Lymphfollikeln oder lymphozytären Aggregaten in der Mukosa? (ja/nein)

Die Parameter 1 bis 3, 6 und 7 werden semi-quantitativ graduiert und die Parameter 4, 5 und 8 qualitativ eingestuft (0 = nicht vorhanden, 1 = minimal, 2 = geringfügig, 3 = mittelgradig, 4 = hochgradig) [174]. Die hochsignifikant miteinander korrelierenden Parameter 1 bis 3, 6 und 7 können zu einem Summenscore addiert werden, womit eine klinisch praktikable, semi-quantitativ vergleichbare Beurteilung der Gastritis inter- und intraindividuell möglich wird [174].

Nach Kontroversen zwischen europäischen und amerikanischen Wissenschaftlern wurde im Rahmen eines Konsensus-Workshops im September 1994 in Houston das „updated“ Sydney-System [42] vorgestellt. Dabei sind die Prinzipien des Sydney-Systems erhalten geblieben. Die Terminologie wurde erweitert, zur Graduierung wurde eine einfache visuelle Analogskala eingeführt. Außerdem wurden die Empfehlungen zur Biopsie bei der Gastroskopie erweitert.

**Tabelle 1: Graduierung der Gastritisparameter**

1. Grad der Gastritis	2. Aktivität der Gastritis	3. Helicobacter pylori Besiedelung	6. Grad des Ersatzepithels	7. Schleim-Depletion
Tunica propria Lymphozyten Plasmazellen	Tunica propria Neutrophile Granulozyten	Dichte der Besiedelung mit H. pylori	Foveoläre Epithel-Regenerate	Reduktion Schleim-Produktion
Graduierung 0 bis 5	Graduierung 0 bis 5	Graduierung 0 bis 5	Graduierung 0 bis 5	Graduierung 0 bis 5

1.6.2. *Häufigkeit der Gastritiden.* Die Typ-B- (Helicobacter pylori) Gastritis ist mit 80–90% aller Gastritiden die häufigste weltweit. Die Typ-C- (Chemischen) Gastritis macht 7-15% und die Typ-A- (Autoimmun) Gastritis 3-6 % aller Gastritiden aus. Mischformen treten in 3%, Sonderformen in ca. 2 – 3 % der Fälle auf.

## 1.7. Diagnostische Methoden der Helicobacter pylori Infektion

1.7.1. *Invasive Methoden.* Der Nachweis der Infektion mit Helicobacter pylori erfolgt durch Zangenbiopsien die im Rahmen der endoskopischen Abklärung von unklaren Oberbauchbeschwerden ohne Mehrbelastung des Patienten aus dem Magen entnommen werden. Die Biopsien dienen zur Durchführung des Nachweises der Ureasetätigkeit, als Basismaterial für histologische- und für mikrobiologische Methoden. Der makro-endoskopische Befund ist kein ausreichendes Verfahren, weder für den Nachweis der chronischen Gastritis, noch für das Vorliegen einer Helicobacter pylori Infektion. Das Vorkommen des makroskopischen Korrelates, einer Vorwölbung der Magenschleimhaut durch die lymphatische Hyperplasie [98], dem sogenannten Gänsehautphänomen, ist sehr gering. Dafür ist die Sensitivität 100%, falls nicht eine erfolgreiche Therapie vorausgegangen ist. Die Helicobacter pylori Infektion kolonisiert häufig mit genetisch verschiedenen Stämmen [84] und topographisch unterschiedlicher Dichte [11,16,172]. Zur suffizienten Gastritisdiagnostik sollten 2 Partikel aus dem Antrum (2 bis 3 cm präpylorisch kleine und große Kurvatur) für die Histologie, 1 Partikel für den Urease Schnelltest, und ggf. 2 Partikel für mikrobiologische Verfahren entnommen werden. Zusätzlich sollten 2 Partikel aus dem Corpus (ca. 8 cm aboral der Cardia kleine und große Kurvatur) für die Histologie, 1

Partikel für den Urease-Schnelltest und ggf. ebenfalls 2 Partikel für die kulturelle Untersuchung entnommen werden.

*Urease Test.* Für die klinische Praxis hat sich der Urease-Schnelltest (z.B. HUT-Test) an frisch biopsierter Magenschleimhaut bewährt. Das Prinzip dieses Tests beruht auf der Ureaseproduktion von *Helicobacter pylori* und der somit katalysierten Reaktion von Harnstoff zu Ammoniak, welche durch Verschiebung in den alkalischen Bereich nach ca. 30 min. einen Farbindikator aktiviert, der das Vorliegen des Keims anzeigt [183] (Sensitivität ca. 97%; Spezifität 95% mit 2 Partikeln).

*Histologische Verfahren.* Ein optimaler Kontrast der Mikroorganismen wird durch die klassische Färbemethode (Versilberung) nach Warthin-Starry erzielt (Abb. 4, S. 38) [191]. Aber auch mittels der histologischen Routinefärbung mit Hämatoxylin und Eosin kann bei entsprechender Erfahrung des Untersuchers bei 40-facher Vergrößerung der Nachweis von *Helicobacter pylori* gelingen. Wegen des geringen methodischen Aufwandes hat sich außerdem die modifizierte Giemsa-Färbung durchgesetzt. Weitere Färbemethoden bieten in Hinsicht auf Sensibilität und Spezifität keinen Vorteil. Nach aktueller Studienlage darf die Sensitivität histologischer Verfahren mit über 90% angegeben werden.

*Mikrobiologische Verfahren.* Die Isolierung und Anzucht von *Helicobacter pylori* in einem speziellen Medium oder Agar wird als Goldstandard bezeichnet, da nur wenige Keime in einer Biopsie ausreichen, um bei optimalen Kulturbedingungen ein positives Ergebnis zu erbringen (Sensitivität u. Spezifität 100%). Dabei ist es wichtig auf ein geeignetes Transportmedium zu achten (Portagerm *pylori*). Die bevorzugten Kulturmedien bestehen aus frischem Kochblutagar oder Wilkins-Chalgren-Agar mit Zusatz von Erythrozytenkonzentrat unter Verwendung zusätzlicher selektiver Substanzen zur Vermeidung von Kontaminationen mit anderen Mikroorganismen (Skirrow's-Supplement). Die Dauer bis zum positiven Testergebnis beträgt 3-5 Tage. Die Anzucht von *Helicobacter pylori* in Flüssigmedien dient vor allem dem Studium der Bakterienphysiologie. Längerfristige Aufbewahrung ist in Natrium-Glycerin bei -70 bis -80 Grad erforderlich. Im klinischen Alltag ist eine Kultur dann gefragt, wenn die

Empfindlichkeit der Stämme auf Antibiotika getestet werden soll (z.B. Metronidazol- und/oder Clarithromycinresistenz).

*PCR aus Biopsiematerial.* Die PCR aus Biopsiematerial hat sich als eine empfindliche Methode (das Äquivalent von 2 *Helicobacter pylori* Genomen ist nachweisbar) erwiesen. Es konnte eine Reihe von Genen und Genprodukten charakterisiert werden, die eine zuverlässige Diagnose der *Helicobacter pylori* Infektion erlauben (VacA-Gen, CagA-Gen, UreC-Gen) [73]. Ihre Bedeutung liegt in der Klassifizierung der einzelnen Virulenzgene in der Cag-Pathogenitätsinsel, der Beurteilung des individuellen Risikoprofils des Patienten (Ulcerkrankheit, Karzinom) und den Rückschlüssen über mögliche Reinfektionen (die Verbreitung spezifischer Stämme kann mittels spezifischer PCR-Typisierungs-Methoden verfolgt werden) [201].

*In-situ-Hybridisierung.* Inzwischen gibt es auch kommerzielle Ansätze zur gleichzeitigen Identifikation von *Helicobacter pylori* und zur Erfassung seiner Antibiotika-Resistenzlage (Crea-FAST<sup>®</sup> *Helicobacter pylori*). Mit diesem Test werden die Bakterien mit Hilfe von spezifischen fluoreszenzmarkierten Oligonukleotidsonden identifiziert, die an eine genotypische bakterielle rRNA-Sequenz und die für die Resistenz verantwortlichen Sequenzen binden. Über die unterschiedliche fluorochrome Markierung kann über die Fluoreszenzmikroskopie eine Unterscheidung in resistente und sensible Bakterien getroffen werden. Auch eine bakterielle Mischinfektion kann auf diese Weise nachgewiesen werden.

1.7.2. *Nicht-invasive Methoden.* Für den nicht-invasiven Nachweis der *Helicobacter pylori* Infektion bietet sich eine große Vielfalt von Methoden an, die den Patienten wenig belasten und vor allem auch in der klinischen Praxis gut durchführbar sind. In dieser Gruppe von Testverfahren hat sich bisher die Anwendung stabiler Isotope und serologischer Verfahren zur *Helicobacter pylori* Antikörperbestimmung einen wesentlichen Stellenwert verschafft.

<sup>13</sup>C-Harnstoff-Atemtest (Pylobactell<sup>®</sup>, *Helicobacter* Test INFAI<sup>®</sup>). Dieser nicht-invasive Test macht sich ebenfalls die stark ausgeprägte Urease-Enzymaktivität von *Helicobacter pylori* zu nutze. Durch die Urease wird der oral zugeführte <sup>13</sup>C-Harnstoff,

ein natürliches, stabiles Isotop des Kohlenstoffs, zu  $^{13}\text{CO}_2$  und Ammoniak ( $\text{NH}_3$ ) abgebaut und das  $\text{CO}_2$  über die Lunge abgeatmet. (Sensitivität von ca. 98%; Spezifität von 99%). Der Test eignet sich besonders zur Kontrolle einer erfolgten Eradikation 4 Wochen nach Therapieende und bedeutet keinerlei Belastung für den Patienten (auch Kinder und Schwangere) [41]. Beeinflusst wird der Test durch die Einnahme von Protonenpumpeninhibitoren (PPI), Wismut-Präparaten und Antibiotika (falsch negativ), da diese Substanzen dosisabhängig einen Urease-hemmenden Effekt haben. Die Einnahme von standard-dosierten PPI, wie 20 – 40 mg Omeprazol über 5 Tage, hat nur einen geringen Einfluss. Bei 80 mg nach 5 Tagen sind die Tests aber bereits bei 50% der Probanden falsch negativ.

*Antikörpertests.* Der immunhistochemische Nachweis von *Helicobacter pylori* mittels spezifischer, gegen *Helicobacter pylori* gerichteter Antikörper hat den Vorteil einer hohen Spezifität und einer niedrigen Interobserver-Variabilität. Die serologischen Nachweisverfahren besitzen bei vergleichsweise geringen Kosten eine Sensitivität von 90-98% und eine Spezifität von 88-99%. Sie sind geeignet zum Screening "gesunder" Personen und Probanden. In anglo-amerikanischen Ländern werden sie häufig zur Erstdiagnose der Infektion bei dyspeptischen Patienten unter 45 Jahre, ohne Vorliegen weiterer sogenannter Alarmsymptome empfohlen. In neueren Untersuchungen wurden auch Urin-ELISA's getestet, die *Helicobacter pylori* Antikörper im Urin der Patienten nachweisen. Die bisherigen Ergebnisse zeigen eine den Serum-ELISA's vergleichbare Sensibilität und Spezifität [33,184].

*Stuhl-Antigentest.* Der neueste diagnostische Test, der in der letzten Zeit entwickelt wurde, weist *Helicobacter pylori* Antigene im Stuhl des Patienten nach. In einer großen europäischen Studie [184,185] zeigte sich eine hohe diagnostische Genauigkeit mit einer Sensitivität > 90% und einer Spezifität > 90%. Diese Ergebnisse sind vergleichbar mit dem Harnstoff-Atemtest. Trotz der besonders einfachen Handhabung und der hohen diagnostischen Treffsicherheit hat sich der Test bislang nicht als echte Alternative zum Atemtest etablieren können. Ob der Test auch bei der Eradikationskontrolle dem Atemtest vergleichbare Ergebnisse liefert, ist derzeit Gegenstand wissenschaftlicher Untersuchungen.

*Weitere Testmethoden.* Die Immunhämagglutinationstests haben sich in der klinischen Praxis aufgrund der vergleichsweise schlechteren Sensibilität und Spezifität nicht durchgesetzt. *Helicobacter pylori* Antikörper sind auch im Speichel nachweisbar. Die Sensitivität der bisher verfügbaren Speichelteste (z.B. Helisal, Cortecs) wird zwischen 65% und 82% angegeben [143]. Die Spezifität liegt zwischen 92% und 96%.

### **1.8. Verfahren zur Sensibilitätstestung von *Helicobacter pylori***

Zur „in-vitro“ Antibiotika-Sensibilitätstestung werden von kulturell angezüchteten Kolonien Suspensionen angefertigt oder Abstriche auf Agarplatten mit dem zu testenden Antibiotikum ausgestrichen. Die Sensibilität definiert sich dann als die minimale Hemmkonzentration (MHK) des Antibiotikums. Eine Pharmakologische Resistenz liegt nach WHO dann vor, wenn die „in-vivo“ Konzentrationen nicht die erforderlichen Konzentrationen im Gewebe erreichen, die nach der „in-vitro“ Testung zur Hemmung des Keimwachstums erforderlich wären. Auf Grund der besonderen lokalen Verhältnisse im Rahmen einer *Helicobacter pylori* Infektion können Serumkonzentrationen nicht als Referenz zum gastralen Milieu dienen. Prinzipiell kommen zwei Methoden zur Sensibilitätstestung zur Anwendung: Die Agar-Dilutionsmethode erzielt mit flüssigen Testmedien nach dem Prinzip der Verdünnungsreihen zuverlässige, valide und exakte MHK-Ergebnisse. Bei dieser Methode verteilt sich die Antibiotika-Konzentration nach einem Gradienten, so dass nur ein Medium beimpft zu werden braucht, somit können Kolonien von Stämmen mit unterschiedlicher MHK gleichzeitig auf dem Testmedium detektiert werden. Nachteilig ist die aufwendige Ausführung sowie die indirekte Bestimmung der MHK-Werte anhand von Wachstumszonen die Zuverlässigkeit der Ergebnisse bei Keimen wie *Helicobacter pylori*, die eine längere Inkubation erfordern. In diesem Fall ist der *Epsilon*-Test (*E-Test*) geeigneter. Er basiert prinzipiell auf Diffusion auf Agar-Platten und ist weniger störanfällig, da das Antibiotikum von einem präparierten Streifen mit vorgegebenen Konzentrationsgradienten diffundiert. Für die klinische Praxis scheint der E-Test geeigneter zu sein, da die Anwendung auch außerhalb von Zentren möglich ist, und Studien zeigen, dass sich bei Inkubationszeiten unter 31 Std. ausreichend korrelierende Ergebnisse zur Agar-Dilutionsmethode fanden [40,63].

## 1.9 Therapeutische Verfahren zur Eradikation von *Helicobacter pylori*

Die heute zur Verfügung stehenden Therapieschemata für die *Helicobacter pylori* Infektion weisen im allgemeinen Erfolgsquoten von > 80% auf. Die Umsetzung im klinischen Alltag ist allerdings in hohem Maße abhängig von der Compliance des Patienten, sowie der Behandlungsindikationsstellung des Arztes. Ferner konnte in den vergangenen Jahren eine Zunahme der Resistenzen gegenüber der verwendeten Antibiotika, insbesondere gegenüber Metronidazol beobachtet werden [8,10,13,27,40, 53,69,44,77,87,109,122,124,126,138,140,147,152,178,186,193,199].

1.9.1. *Indikationen zur Therapie der Helicobacter pylori Infektion.* Die Konsensus-Konferenz des National Institutes of Health 1994 [134] legte fest, dass alle Ulcuspatienten die mit *Helicobacter pylori* infiziert sind, antibakteriell behandelt werden sollten. Dieser Empfehlung hat man sich auch in Deutschland angeschlossen [23,168]. Die *Helicobacter pylori* Therapie bewirkt dabei eine drastische Senkung der Ulcusrezidivrate, die Verhinderung einer Rezidivblutung aus peptischen Ulzerationen [100], sowie eine Steigerung der Lebensqualität von Ulcuspatienten [101]. Bei jungen Patienten unter 45 Jahren ohne Alarmsymptomatik wird heute auch im Rahmen einer funktionellen Dyspepsie [20,118,179] bei nicht-invasivem Nachweis einer *Helicobacter pylori* Infektion eine Eradikation empfohlen („Test-and-Treat“-Strategie). Weitere seltene Indikationen sind: die Riesenfaltengastritis, die Autoimmungastritis im prä-atrophischen Stadium, die lymphozytäre Gastritis, sowie die frühe Form des MALT-Lymphoms des Magens mit Beschränkung auf Mukosa und Submukosa. Ratsam ist ebenfalls die Eradikation bei gleichzeitigem Bestehen einer gastroösophagealer Refluxkrankheit, da hier im Rahmen einer PPI-Langzeittherapie das Risiko für die Entwicklung eines Magenkarzinoms vermindert werden kann, oder es sonst zu einer Verschlechterung der Symptomatik kommen kann [100].

1.9.2. *Verwendete Substanzen.* „In-vivo“ haben sich nur einzelne Antibiotika gegen *Helicobacter pylori* bewährt, da es teilweise zu einer unzureichenden Akkumulation, einer unzureichenden Wirksamkeit, sowie zu einer raschen Resistenzentwicklung der Keime kommt. Voraussetzung für eine suffiziente Wirksamkeit der verwendeten Antibiotika (z.B. Amoxicillin oder Clarithromycin) ist z.B. eine profunde Säuresuppression mit Erreichen von pH-Werten im Magen von über 5,5.

*Amoxicillin*, ein halbsynthetisches Penicillin, wirkt bakterizid und ist hocheffizient (MHK, in-vitro“ 0,016 mg/l, mit Abnahme bei steigendem pH-Wert) gegen *Helicobacter pylori*. Resistenzen wurden mittlerweile in Einzelfällen in bestimmten Regionen (Sardinien) [44], nicht aber in Deutschland beobachtet. Der Resistenzmechanismus ist wahrscheinlich das Fehlen eines von vier penicillinbindenden Proteinen, die sich in der bakteriellen Zellwand befinden. Amoxicillin ist biologisch nur im Bereich pH 5,5 bis 7,5 aktiv. Nach oraler Gabe wird Amoxicillin rasch in die antrale Mukosa aufgenommen, und erreicht auch über die systemische Zirkulation die gastrale Mukosa, die Mukusschicht und den Magensaft. Allerdings werden keine ausreichenden Konzentrationen in Corpus- und in der Fundusschleimhaut [28] erreicht. Bei gleichzeitiger Omeprazolgabe steigen diese aber deutlich an und liegen oberhalb der MHK [1,64].

*Clarithromycin*. Über eine Interaktion mit bakteriellen Ribosomen erfolgt eine gestörte Proteinsynthese mit rascher bakterizider Wirkung [65,151]. Clarithromycin und sein 14-OH-Metabolit sind „in-vitro“ hoch wirksam. Die MHK liegt in der Größenordnung von Amoxicillin und sinkt mit steigendem pH-Wert [97]. Eine Resistenzentwicklung bedeutet hier: Punktmutation mit dem Effekt, dass Makrolide nicht mehr an das Zielribosom binden können. Es gibt allerdings Hinweise, dass zumindest „in-vitro“ die Resistenz reversibel ist [200]. Clarithromycin und sein Metabolit sind relativ säurestabil und auch im sauren Milieu löslich. Nach oraler Aufnahme erreicht Clarithromycin über die systemische Zirkulation den Magen. Es kommt zu einer starken Anreicherung im Gewebe [25], hierdurch werden Konzentrationen erreicht, die die MHK weit übersteigen. In der Co-Medikation mit Omeprazol kommt es zu einer Verdoppelung des Antibiotikums in der Antrumschleimhaut und einer Verzehnfachung in der Mukusschicht. Andere Makrolide sind insgesamt deutlich geringer wirksam als Clarithromycin. Insgesamt ist Clarithromycin gut verträglich, allerdings treten in 25% Geschmacksstörungen (bitter) auf, da hohe Konzentrationen des Antibiotikums im Speichel und der Mundschleimhaut erreicht werden.

*Metronidazol*, *Tinidazol*. Die Wirkung ist bakterizid. Sie sind „in-vitro“ nicht ganz so effizient wie Amoxicillin und Clarithromycin. Es zeigen sich häufig prätherapeutische Resistenzen mit regionalen Unterschieden (s.u.) [8,27,50,53,86,87,200]. Die Ursache

der Resistenzen ist wahrscheinlich eine verminderte Fähigkeit der Bakterien, die aktive Nitro-Gruppe zu reduzieren. Nach einer erfolglosen Therapie mit einem nitroimidazolhaltigen Regime ist in nahezu allen Fällen mit einer Resistenz zu rechnen. Die Wirkung über die systemische Zirkulation im Magen ist ebenfalls antibakteriell. Die Bioverfügbarkeit wird durch eine profunde Säure-Sekretionshemmung nicht beeinflusst [64]. Metronidazol liegt bei steigenden pH-Werten allerdings in nicht ionisierter Form vor und kann so wahrscheinlich die bakterielle Zellwand besser penetrieren. Secnidazol, ein Nitroimidazol mit längerer Halbwertszeit als Metronidazol ist derzeit Gegenstand mehrerer Studien. Es zeichnet sich möglicherweise ab, dass Secnidazol eine Metronidazolresistenz in einem gewissen Grad überwinden kann.

*Rifabutin.* Dieses bisher in der Therapie zur Behandlung von symptomatischen, generalisierten Infektionen mit *Mycobacterium avium* (MAC) bei AIDS-Patienten, sowie in der Behandlung von Infektionen mit *Mycobacterium tuberculosis* eingesetzte Derivat des Rifamycin S hat aufgrund seiner im Vergleich zu Amoxicillin, Clarithromycin und Metronidazol sehr niedrigen MHK (0.004 bis 0.03 µg/ml) ein breites antibakteriell wirksames Spektrum gegen die meisten gram-positiven und viele gram-negative Bakterien, inklusive von *Helicobacter pylori* [2,96]. Der Angriffsort von Rifabutin ist die durch das *rpoB*-Gen kodierte  $\beta$ -Untereinheit der bakteriellen DNA-abhängigen RNA-Polymerase. Da bisher keine resistenten Stämme von *Helicobacter pylori* in Deutschland gegen Rifabutin identifiziert werden konnten, wurden resistente Stämme (ATCC 43504) gezüchtet und analysiert [76]. Dabei zeigten alle „in-vitro“ nachgewiesenen resistenten Stämme von *Helicobacter* ATCC 43504 einen Austausch der Aminosäuresequenz der Codone 534 bis 545 oder 585 des *rpoB*-Gens, welche mit den veränderten Gensequenzen der resistenten Stämme von *Mycobacterium tuberculosis* und *Escherichia coli* identisch sind [76]. Resistenzen gegen Rifampicine bestehen in der Bevölkerung kaum, da diese Antibiotika bisher nicht in der breiten Anwendung sind. Als wichtigste Nebenwirkungen bestehen eine rot-orange Färbung des Urins, sowie anderer Haut- und Körperausscheidungen. In Kombination mit Clarithromycin (oder anderen Makroliden und/oder Fluconazol und verwandten Substanzen) kann eine Uveitis auftreten, die zum Abbruch der Therapie führen kann. Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wird Rifabutin als Bestandteil einer Triplet-Therapie bei Metronidazol- und Clarithromycin-Doppelresistenzen eingesetzt (s.u.).

*Wismutsalze.* Wismutsalze erzielen besonders im Antrum eine Suppression des Besiedlungsgrades der *Helicobacter pylori* Infektion, was temporär den Grad der Gastritis verringert. Da nach Therapieende nur in seltenen Fällen eine Heilung der *Helicobacter pylori* Infektion erreicht wird, kommt es zu einer Rekrudescenz der initialen *Helicobacter pylori* Besiedelung mit rezidivierender Gastritis. Der antimikrobielle Effekt von Wismutgallat und Wismutsubsalylylat besteht in der Blockade der Atmungskette von *Helicobacter pylori* und „in-vivo“ Untersuchungen fanden auch bei den anderen Wismut-Komponenten eine antibakterielle Wirksamkeit. Das in Deutschland nicht zugelassene Ranitidin-Wismutzitrat, das speziell für die Behandlung von *Helicobacter pylori* hergestellt wurde, kann anstelle von PPI gegeben werden. Seine Wirkung auf resistente *Helicobacter pylori* Stämme ist der der PPI möglicherweise überlegen [62,195].

*Omeprazol.* Omeprazol als Protonenpumpeninhibitor (PPI) reduziert die gastrale Säuresekretion. Nach Einnahme von 20 mg Omeprazol kann etwa für 12 Stunden durchschnittlich ein pH-Bereich von 5.5 bis 6.0 im Milieu des Magens erwartet werden. Die geringe bakteriostatische Wirkung, die Omeprazol auf *Helicobacter pylori* auslöst, resultiert aus der Reduktion der Ureasetätigkeit und entspricht in etwa dem Effekt der Wismutsalze [190]. Nur selten wird eine Eradikation erreicht [112]. Außerdem wirkt der durch den Säureentzug gebildete und nicht mehr abgepufferte Ammoniak autotoxisch. Durch die Anhebung des pH-Wertes im umgebenden Milieu des Keims resultiert eine höhere Vulnerabilität gegen antibakteriell wirksame Substanzen. Persistierend intragastrale pH-Werte über 5 erlauben zudem eine bakterielle Überwucherung mit möglicher Verdrängung von *Helicobacter pylori* aus seinem Biotop [188].

*Andere Protonenpumpeninhibitoren (PPI).* Esomeprazol (Nexium®) gehört zur neuen Substanzklasse der isomeren PPI, der bei geringerer interindividueller Schwankungsbreite höhere intragastrale pH-Werte erzielt. Es wurde belegt, dass Esomeprazol in der französischen Tripel-Therapie mindestens ebenso wirksam ist wie Omeprazol, darüber hinaus ist nach einer 1-wöchigen Therapie keine weitere antisekretorische Behandlung zur Abheilung duodenaler Ulzera erforderlich [187]. Zwei weitere PPI (Lansoprazol, Pantoprazol) sind nach aktueller Studienlage im Rahmen einer Eradikationstherapie vergleichbar effektiv wie Omeprazol [127,181].

### 1.9.3. *Therapieschemata zur Eradikation von Helicobacter pylori.*

1.9.3.1. *Monotherapie.* Die meisten bisherigen Magentherapeutika (Antacida, H<sub>2</sub>-Blocker, Wismut oder PPI) haben in der Monotherapie keinen Einfluss auf die bestehende Dichte der Helicobacter pylori Kolonisation im Antrum und Corpus, und somit auf die Gastritis-Parameter [90,171]. Da es nur in Ausnahmefällen zur einer vollständigen Eradikation kommt [26], ist eine Monotherapie kontraindiziert.

1.9.3.2. *Dualtherapie.* Antibiotika-Kombinationen wirken generell einer Resistenzentwicklung entgegen und wirken additiv und synergistisch [24,145]. Dabei kann die Dosierung der Einzelsubstanzen und die Gesamttherapiedauer verkürzt werden. Eine Dualtherapie mit Wismut und einem Antibiotikum, oder von zwei Antibiotika kann aufgrund relativ niedrigen Eradikationsraten ebenfalls nicht empfohlen werden [26]. Die in den 80er Jahren umfangreich angewandte Dualtherapie mit Omeprazol und Amoxicillin (OA-Therapie) spielt heute nur noch als Reserveoption bei Therapieversagern, insbesondere bei einer Doppelresistenz gegen Clarithromycin und Metronidazol eine Rolle. Der Behandlungserfolg wird durch die Compliance, Rauchen, Alter und Schweregrad der Gastritis beeinflusst. In der Primärtherapie werden bei adäquater 14-tägiger Behandlungsdauer lediglich Eradikationsraten von durchschnittlich 60 - 80% [99,102,115] erzielt.

1.9.3.3. *Klassische Tripel-/Quadrupel-Therapie.* Diese komplexe Behandlungsform mit dem kombinierten Einsatz von Wismutsalz, (Wismutsubsalylat und Wismutsubzitat), Metronidazol und Tetracyclin oder Amoxicillin entstand in der zweiten Hälfte der 80er Jahre. In *Quadrupel-Therapieschemata* wird der klassischen wismuthaltigen Tripel-Therapie Omeprazol zugefügt. Hierdurch wird eine rasche Säuresuppression und Schmerzfreiheit des Patienten erreicht und gleichzeitig die Eradikationsrate gesteigert [39,68,70]. Nachteilig ist allerdings das aufwendige Therapieschema (> 12 Tabletten, mit 4 Einnahmezeitpunkten) und eine hohe Nebenwirkungsrate [68-70,124,127].

1.9.3.4. *Kurzzeit-Tripel-Therapie (PPI-basierte Tripel-Therapie).* Erstmals konnte 1993 gezeigt werden, dass Wismut auch durch einen Säurehemmer ersetzt werden kann [17,79]. Mit einer Kombinationstherapie der Antibiotika Amoxicillin und Clarithromycin oder Clarithromycin und Metronidazol oder Amoxicillin und Metronidazol mit dem

Protonenpumpenhemmer Omeprazol (OCA-, OCM- und OAM-Therapien) werden seitdem konstant hohe Eradikationsraten von 85% - 95% erzielt. 1993 zeigten Bazzoli et al. dass mit einer 7-tägigen Kurzzeittherapie mit Omeprazol, Clarithromycin und Tinidazol Eradikationsraten von 95,4% (ITT-Analyse) erreicht werden [17]. Labenz et al. bestätigten 1995 nach Austausch des Tinidazols durch Metronidazol die Wirksamkeit der Kurzzeittherapie mit einer Eradikationsrate von 96% [104]. Begründet werden diese hohen Erfolgsraten durch das einfache Verordnungsschema und die geringe Nebenwirkungsrate von 15% mit konsekutiv hoher Compliance. Herausragende Studien zur Beurteilung der Wirksamkeit und Verträglichkeit der PPI-basierten Kurzzeit-Tripel-Therapien waren die sogenannten MACH-Studien. Lind et al. [109,110] untersuchten im Rahmen der MACH1-Studie 1996 an 787 Patienten mit duodenaler Ulcuskrankheit die Wirksamkeit einer 7-tägigen Behandlung mit den Tripel-Therapieschemata OAC (Französische Tripel-Therapie), OCM (Italienische Tripel-Therapie) und OAM (Englische Tripel-Therapie). Dabei wiesen die Therapieformen OAC 500 und OCM 250 die höchsten Eradikationsraten (respektive 91% und 90%, ITT-Analyse) auf (Tabelle 2). Die OAM-Therapie führte zu einer Eradikationsrate von 79% (ITT-Analyse). In der MACH2-Studie 1999 [109] konnte die Arbeitsgruppe von Lind et al. in einer weiteren Multicenterstudie die Ergebnisse der Wirksamkeit der OCM- und OAC-Therapie-Therapieschemata bestätigen. Die oben genannten Eradikationsraten konnten auch im Rahmen der DU-MACH- u. GU-MACH-Studie [114] erzielt werden. Um den Einfluss einer prätherapeutischen Metronidazolresistenz auf die Effektivität der Therapien zu untersuchen, wurden in der MACH2- und in der HERA-Studie 1999 [13] zusätzlich prä- und posttherapeutische Resistenzbestimmungen durchgeführt. Für die Primärbehandlung kommt zur Zeit nur die Italienische (OMC) und die Französische (OAC) Tripel-Therapie in Betracht. Dabei ist aufgrund der höheren Wahrscheinlichkeit einer Induktion einer Metronidazolresistenz (> 30%) bzw. einer Clindamycin/Metronidazol-Doppelresistenz die Französische Therapie der Italienischen vorzuziehen.

1.9.3.5. *Resistenzentwicklung beim Helicobacter pylori.* Die Suche nach der idealen Therapie der Helicobacter pylori Infektion geht auch knapp 20 Jahre nach Wiederentdeckung des Keimes weiter. Trotz der intensiven Entwicklung neuer Therapieschemata gelingt eine Eradikation vor allem wegen der Entwicklung von Anti-

**Tabelle 2: Kurzzeit-Tripel-Therapieschemata**

Schema	Komponenten Dosis in mg Dauer	E % ITT	E% PP	Referenz
OAC 500*	O: 2x20; A: 2 x 1000; C: 2 x 500 7 Tage	91%	98%	Lind et al. [110] MACH1-Studie 1996
OCM 250*	O: 2x20; C: 2 x 250; M: 2 x 400 7 Tage	90%	95%	Lind et al. [110] MACH1-Studie 1996
OAC 500	O: 2x20; A: 2 x 1000; C: 2 x 500 7 Tage	94%	95%	Lind et al. [109] MACH2-Studie 1999
OMC 250	O: 2x20; M: 2 x 400 C: 2 x 250 7 Tage	87%	91%	Lind et al. [109] MACH2-Studie 1999
OAM 800	O: 2x20; A: 2 x 1000; M: 2 x 800 7 Tage	77%	81%	Bayerdörffer [12,13] HERA-Studie 1999
OAM	O:1 x 40; A: 3 x 500; M: 3 x 400 7 Tage	76%	79%	Bayerdörffer [12,13] HERA-Studie 1999

Tripel-Therapien auf Omeprazol-Basis mit je zwei Kombinationen der drei Antibiotika Amoxicillin, Metronidazol und Clarithromycin: OAC-, OCM- und OAM-Therapie. Dosismodifikationen und durchschnittliche Eradikationsraten.

O = Omeprazol, A = Amoxicillin, C = Clarithromycin, M = Metronidazol, E = Eradikationsrate, ITT = Intention-To-Treat-Analyse, PP = Per-Protokoll-Analyse.

OMC 250\* -und OAC 500\* Therapieschemata: seit 1996 vom Bundesamt für Arzneimittel und Medizinprodukte (BfArM) in Deutschland zugelassen und kostengünstigste Schemata [166].

biotikaresistenzen nicht immer. Insbesondere gegenüber Metronidazol zeigt sich eine zunehmende Resistenzentwicklung. Dabei bestehen ausgeprägte Unterschiede in den einzelnen Staaten, aber auch innerhalb der Regionen der einzelnen Länder. Die höchsten Raten prätherapeutischer Metronidazolresistenzen wurden bisher in Australien (36% - 64%) [87] sowie in Asien (bis zu 53%) registriert. Dabei spielt das Herkunfts- bzw. Geburtsland der untersuchten Patienten eine wesentliche Rolle, z.B. werden in Afrika (60%), Süd-Asien (72,8%) und bei in Bangladesh Geborenen bis zu 90% Metronidazolresistenzen gefunden. In Europa werden derzeit primäre Resistenzraten von durchschnittlich 20-30%, regional auch bis zu 40% [8], in den USA

und Kanada bis 38% [53,138] festgestellt. Allerdings wies eine Studie aus Paris bei Kindern eine höhere Resistenzrate für Metronidazol von 43% nach [85]. Insbesondere bei einer Vorbehandlung mit Nitroimidazolen hatten 69-84% der Probanden eine Metronidazolresistenz entwickelt [8,50,87]. Auch wurde ein gehäuftes Auftreten einer Metronidazolresistenz bei Frauen [8,50,153] und in der Altersklasse der 20–39-jährigen festgestellt [50,87]. Andere Studien stellten dagegen keine signifikanten Unterschiede bei den Geschlechtern fest [87]. Gegenüber Clarithromycin sind prätherapeutische Resistenzen, z.B. in Deutschland, Schweden und in der Schweiz noch selten (2-3%) [161,178]. In Ländern mit häufiger Makrolidanwendung allerdings häufiger (8% USA, 14% Frankreich) [121]. Auch hier belegte die Studie von Kalach et al. eine hohe Clarithromycinresistenzrate (21%) bei Kindern [85]. Eine steigende Clarithromycinresistenz wurde auch von 1996 bis 1999 in Japan nachgewiesen, von 9,1 auf 18,7% [88]. Zunehmend beobachtet wird auch die Entwicklung einer Clarithromycin/Metronidazol-Doppelresistenz, insbesondere nach Versagen einer First-/bzw. Second-line-Therapie. In jüngsten Studien konnte auch eine Resistenz gegenüber Amoxicillin nachgewiesen werden [45].

*1.9.3.6. Einfluss der Resistenzen auf die Eradikationstherapie und Entwicklung einer sekundären Resistenz.* Um den Einfluss insbesondere einer Metronidazol- und Clarithromycinresistenz auf die Eradikationsrate zu untersuchen, wurden in den neueren Studien prä- und posttherapeutische Resistenzprüfungen durchgeführt. Heep et al. untersuchte die Entwicklung einer sekundären Resistenzentwicklung nach einem oder mehreren misslungenen Therapieschemata in verschiedenen deutschen Städten über drei Jahre [77]. Eine sekundäre Metronidazolresistenz entwickelte sich in 66–75%, eine Resistenz gegenüber Clarithromycin in 49–58% der Fälle. Eine Clarithromycinresistenz war in 85–89% mit einer Metronidazolresistenz assoziiert. Sekundäre Resistenzen gegenüber Amoxicillin und Rifampicin konnten hierbei nicht nachgewiesen werden. In einer Studie in Süditalien bei niedriger primärer Resistenz gegenüber Metronidazol von 2,7% und einer Resistenz gegenüber Clarithromycin von 5,4%, stiegen die Resistenzraten nach einer First-line-Therapie von Metronidazol auf 58% und von Clarithromycin auf 47% an [150]. Dabei wurden in 5% der Fälle auch sekundäre Resistenzen gegenüber Amoxicillin festgestellt. Die durchgeführten Resistenzprüfungen im Rahmen der MACH2-Studie ergaben eine prätherapeutische

Metronidazolresistenz von 27% der Isolate. Bei Vorliegen einer Metronidazolresistenz konnte mit dem Schema OAC eine Eradikationsrate von 94%, mit dem OCM-Schema trotz der Verwendung von Metronidazol eine Eradikationsrate von 76% erzielt werden [109]. Der Wirkungsverlust der italienischen Tripel-Therapie betrug dabei 19%, verglichen mit dem Ergebnis bei empfindlichen Stämmen. Eine Clarithromycinresistenz war auch im Rahmen der MACH2-Studie selten (3%), so dass sich keine verlässlichen Aussagen über das Therapieergebnis machen ließen. In einer Meta-Analyse von 4196 behandelten Patienten aus den Jahren 1984 bis 1997 ergab sich eine Verringerung der Eradikationsrate bei Vorliegen einer Metronidazolresistenz von 37%, bei Vorliegen einer Clarithromycinresistenz um 55% [44]. Insgesamt ist also die Bedeutung der Resistenz für das klinische Ergebnis bei Therapieregimen, die Metronidazol verwenden geringer als bei denen, die Clarithromycin beinhalten. Mit Metronidazol kann trotz Vorliegen resistenter Stämme eine Heilungsrate von 75% erzielt werden. Das entspricht einer Verminderung der Therapieeffizienz um 20%. Unter der Voraussetzung, dass die Resistenzrate in den Industrieländern nie über 50% liegt, würde der Einfluss auf das Gesamtergebnis nicht mehr als eine 10%ige Verringerung der Heilungsrate unter einem PPI-CM Schema bedeuten. Der Einfluss der verschiedenen Resistenzen auf die gesamte Heilungsrate äußert sich mit einer 7–15%igen Verringerung der Eradikationsrate. Im Rahmen der HERA-Studie konnte trotz Vorliegen einer Metronidazolresistenz (19% der Fälle) eine Eradikation von 80% (PP-Analyse) erreicht werden, unabhängig von Dosierungen und der zeitlichen Darreichung der verwendeten Antibiotika der beiden Therapiearme. In der HERO-Studie von Katalaris et al. [86] erreichte eine 7-tägige italienische First-line-Tripel-Therapie (OMC) bei 220 Patienten aus Australien und Neuseeland mit hoher Metronidazolresistenz (56%) (Clarithromycinresistenz 6%) eine Eradikationsrate von 85% (PP-Analyse).

*1.9.3.7. Therapieentwicklung bei Vorliegen einer Antibiotikaresistenz.* Das derzeit bevorzugte und im „Maastricht Consensus Report“ empfohlene Therapieschema nach Versagen der First-line-Therapie ist die Quadrupel-Therapie (s.o.). Dessen Einsatz als Rescue-Therapie führt zu Eradikationsraten zwischen 61% und 93%. Im Rahmen einer First-line-Therapie werden hiermit Eradikationsraten von über 90% erzielt, und zwar unabhängig von einer Metronidazolresistenz. Allerdings ist diese Therapieform von

einer hohen Nebenwirkungsrate und somit einer geringen Compliance der Patienten begleitet. Zur Überwindung einer Antibiotikaresistenz entstanden Therapieansätze mit Dosisänderungen der verwendeten Substanzen, Veränderungen in der Dauer der Anwendungen, sowie der Einsatz alternativer Antibiotika ohne Resistenzentwicklung [6,21,139,146,181]. Im Rahmen einer Studie von Miehlke et al. [126] erwies sich eine Hochdosistherapie über 14 Tage mit dem Schema 3x10mg Omeprazol, 3x400mg Metronidazol und 3x250mg Clarithromycin mit einer Eradikationsrate bei den Metronidazolresistenten Stämmen von 77% als effektiv und nebenwirkungsarm. In einer großen Multizenterstudie, HOMER-Studie von Bardan et al. [10], erwies sich die Erhöhung der Metronidazoldosis auf 1600mg/die in einer Tripel-Therapie mit Omeprazol und Amoxicillin bei den Metronidazolresistenten Stämmen mit einer Eradikationsrate von 75% ebenfalls als effektiv. Eine weitere Therapieform bei Vorliegen einer Metronidazolresistenz ist die Verwendung von Wismutzitrat anstelle eines PPI. Eine Studie aus Hong Kong [195] verglich die Effektivität einer 7-tägigen Ranitidin-Wismutzitrat basierten Tripel-Therapie Clarithromycin und Metronidazol mit einer 7-tägigen Omeprazol basierten Tripel-Therapie mit Clarithromycin und Metronidazol bei 180 Patienten mit einer hohen Metronidazolresistenz. Insbesondere bei den Metronidazol-resistenten Stämmen war die Therapie mit RBC-CM einer Omeprazol-basierten Tripel-Therapie (Eradikationsrate 89%) der Therapie mit OMC (Eradikationsrate 45%) deutlich überlegen. Perri et al. verwendeten nach Versagen einer Tripel-Therapie („Maastricht-Triple-Therapie“) im Rahmen einer Second-line-Therapie eine Kombination aus Ranitidin-Wismutzitrat, Amoxicillin und Tinidazol über 14 Tage und erreichten bei sehr guter Verträglichkeit eine Eradikationsrate von 81% [150].

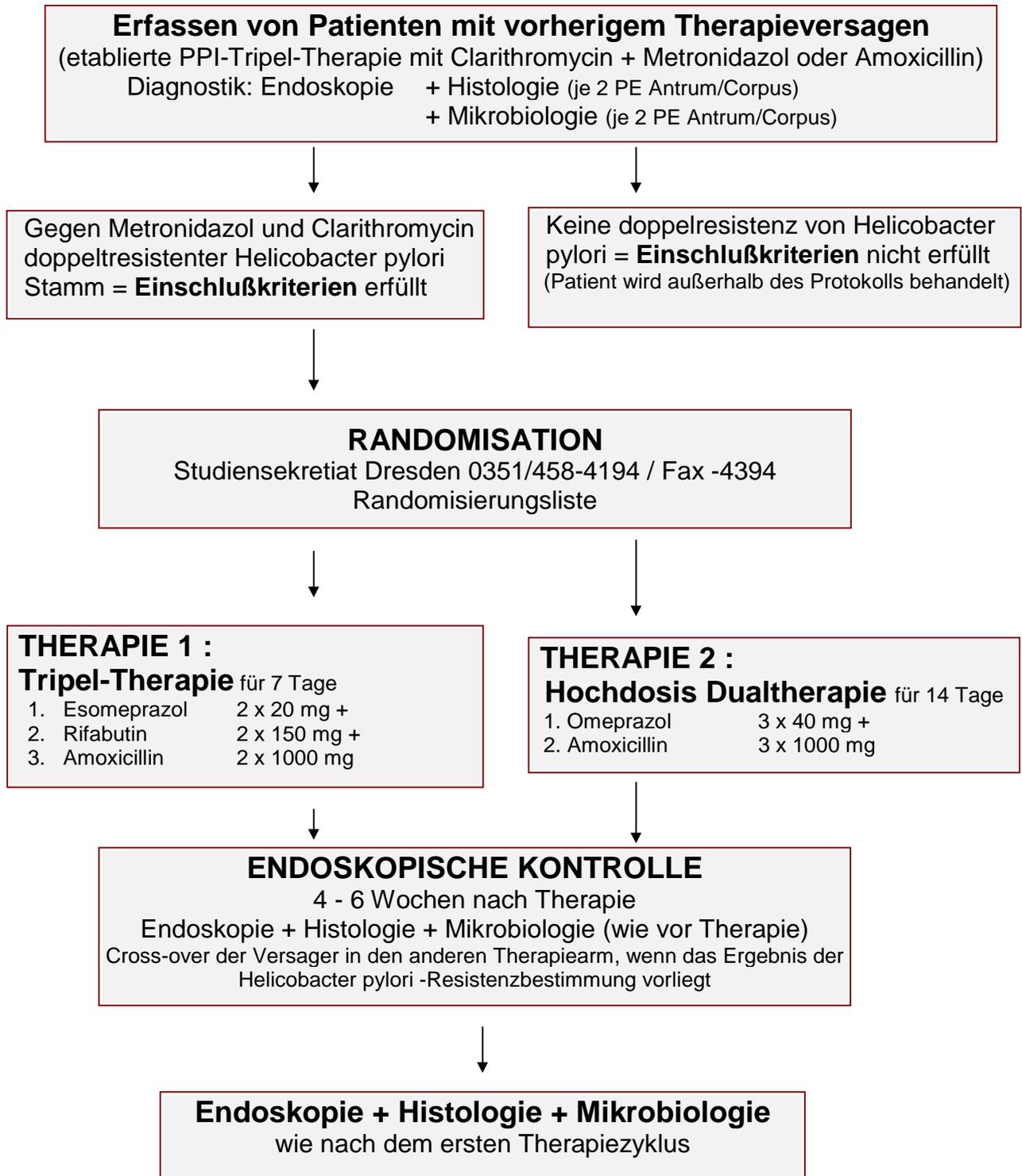
## 2. FRAGESTELLUNG / ZIELSETZUNG

Keine der vorgestellten Therapieschemata (Tabelle 2) erreicht eine Eradikationsrate des *Helicobacter pylori* von über 95% (ITT). Dies führt zu häufigen Sekundärresistenzen bei Therapieversagern [77] und bringt das Problem der Behandlung doppel-resistenter *Helicobacter pylori* Stämme mit sich. Momentan wird hierfür die Quadrupel-Therapie (1.9.3.) eingesetzt. Diese wird allerdings aufgrund ihrer aufwendigen Einnahmebedingungen und hohen Nebenwirkungsrate schlecht akzeptiert und die Suche nach alternativen effektiven Reservetherapien ist geboten. Ziel dieser Arbeit ist es eine neue Tripel-Therapie zu evaluieren, bei der Antibiotika eingesetzt werden gegen die bislang in Deutschland keine primären Resistenzen gefunden wurden - Rifabutin und Amoxicillin.

Die Studie, die dieser Arbeit zugrunde liegt, wurde als randomisierte, multizentrische Vergleichsstudie zweier Therapiegruppen zur Eradikation von *Helicobacter pylori* mit Cross-over der Therapieversager in die andere Therapiegruppe durchgeführt.

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit soll nun die Frage beantwortet werden, in welchem Prozentsatz Patienten, die mit gegen Metronidazol- und Clarithromycin-doppel-resistenten *Helicobacter pylori* Stämmen infiziert sind, mit einer neuen auf Rifabutin basierenden Tripel-Therapie bzw. der modifizierten Hochdosis-Dualtherapie [15,83] von ihrer *Helicobacter pylori* Infektion befreit werden können. Außerdem wird bei Therapieversagern des ersten Therapieschemas dieser Studie, die Frage beantwortet, in welchem Prozentsatz sie mit einer Cross-over-Therapie kuriert werden können. Zusätzlich wurde die Rate der unerwünschten Ereignisse der beiden Therapiegruppen festgestellt und eine Therapieempfehlung formuliert.

Abb. 3: Flussdiagramm des Studienablaufs



### 3. PATIENTEN UND METHODEN

#### 3.1. Patienten

Die Studienteilnehmer rekrutierten sich aus den Patienten, die in den Ärztehäusern bzw. den folgenden internistischen/gastroenterologischen Praxen, in dem Zeitraum von Februar 2001 bis Januar 2002, vorstellig wurden:

Dr. E. Bästlein, Internistin/Gastroenterologin, Köln; Dr. M. Buchner, Internist/Gastroenterologe, Ribnitz-Damgarten; Dr. M. Cornely, Internist, Bergisch-Gladbach; Dr. C. Haferland, Internist/Gastroenterologe, Görlitz; Dr. G. Hermesdorf, Internist/Gastroenterologe, Koblenz; Dr. W. Krämer, Internist/Gastroenterologe, Pirmasens; Dr. V. Lachmann, Internist, Bayreuth; Dr. S. Ladstädter, Internistin, Dresden; Dr. C. Manegold, Interne Abteilung, Evangelisches Krankenhaus, Holzminden; Dr. E. Meier, Internist/Gastroenterologe, Amberg; Drs. J. Merkt & H. Heidt, Internisten/Gastroenterologen, Heilbronn; PD Dr. E. Miehke, Medizinische Klinik I, Universitätsklinikum Dresden; Dr. J. Neumeyer, Internist/Gastroenterologe, Oldenburg, Dr. Th. Ochsenkühn, Medizinische Klinik II des Universitätsklinikums Großhadern der Ludwig-Maximilians-Universität München; Dr. J. Papke, Internist/Gastroenterologe, Neustadt/Saale; Dr. M.A. Qader, Internist, Winsen/Luhe; Dr. P. Rohde, Internist/Gastroenterologe, Hamm; Dr. F. Sandforth, Internist/Gastroenterologe, Dresden; Drs. T. Simon & B. Cyrus, Internisten, München; Dr. R. Therhedebrügge, Internist, Eltville; PD Dr. K. Ziegler & Dr. St. Müßig, Internisten/Gastroenterologen, Berlin.

3.1.1. *Teilnehmer/Einschlusskriterien.* Die Teilnehmer der vorliegenden Therapiestudie waren Patienten bei welchen vorheriges Versagen einer *Helicobacter pylori* Eradikationstherapie sowie der Nachweis einer Doppelresistenz gegenüber Imidazolderivaten (Metronidazol) und Makroliden (Clarithromycin) vorlag. Diese Patienten wurden nach Einverständnis von Patient und Hausarzt der vorliegenden Eradikationsstudie zugeführt (siehe auch Flusschema des Studienablaufs, Abbildung 3). Die Patienten wurden anhand einer Randomisierungsliste aller Teilnehmer entweder der Testgruppe 1 (Therapie 1) oder der Testgruppe 2 (Therapie 2) zugeordnet.

3.1.2. *Ausschlusskriterien.* Um den verfälschenden Effekt einer aktuellen *Helicobacter pylori* Therapie auf den histologischen und mikrobiologischen Keimnachweis auszuschalten, galten folgende Ausschlusskriterien: die Behandlung mit Wismut-Präparaten, Antibiotika und Protonenpumpeninhibitoren in einem Zeitraum von vier Wochen vor der endoskopischen Untersuchung. Weitere Ausschlusskriterien waren: die regelmäßige NSAR- Einnahme, Kontraindikationen gegen eines oder mehrere der eingesetzten Medikamente (Omeprazol, Amoxicillin, Rifabutin), Vorliegen einer malignen oder schweren Begleiterkrankung (z.B. florierendes Magen- oder Duodenalulcus mit Komplikation (Blutung usw.) und Patienten mit früherem operativen (resektivem) Eingriff am Magen.

### 3.2. Methoden

Die Untersuchungen der vorliegenden Therapiestudie, auf der diese Arbeit basiert, wurden nach den geschilderten Methoden (3.2.1. - 3.2.4.) und zu den in Tabelle 3 angegebenen Zeitpunkten durchgeführt.

**Tabelle 3: Untersuchungszeitpunkte**

Wochen	0	2	6	10 <sup>C</sup>	12 <sup>C</sup>	16 <sup>C</sup>	20 <sup>C</sup>
Visite	1	2	3	4	5	6	7.
Endoskopie	X		X	C <sup>1</sup>		C	C <sup>1</sup>
<i>Helicobacter pylori</i> Kultur	X		X	C <sup>1</sup>		C	C <sup>1</sup>
Histologie	X		X	C <sup>1</sup>		C	C <sup>1</sup>
HUT-Test	X		X	C <sup>1</sup>		C	C <sup>1</sup>
Anamnese & Untersuchung	X						
Symptome	X	X	X	C	C	C	
Compliance	X	X		C	C		
Labor	X	X	X	C	C	C	
Unerwünschte Ereignisse	X	X	X	C	C	C	
Cross-over der Therapieversager				C	C	C	C <sup>1</sup>

C : nur für Patienten mit Therapieversagen und Cross-over in die andere Therapiegruppe

1 : nur bei Patienten mit erfolglosem mikrobiologischem Kulturversuch in Woche 4 - 6 bzw. 14 - 16

### 3.2.1. Endoskopie und Biopsie

Eine Ösophagogastroduodenoskopie wurde vor Therapiebeginn sowie 4 – 6 Wochen nach Therapieende durchgeführt. Die Untersuchung wurde nach mindestens 12-stündiger Nüchternzeit (fasten über Nacht) durchgeführt, um eine optimale Beurteilbarkeit der eingesehenen Bereiche sicherzustellen. Nach Legen eines venösen Zugangs und einer Blutentnahme zur Asservierung von Serum (einfrieren bei  $-20^{\circ}\text{C}$ ) erfolgte eine Prämedikation mit einem Benzodiazepinderivat, meist Midazolam. Eine Lokalanästhesie wurde vermieden, um die Anzucht von *Helicobacter pylori* nicht zu behindern. Nachdem das Endoskop in Linksseitenlage des Patienten eingeführt wurde, folgte die zügige Passage des Gerätes. Falls erforderlich wurde im Magenfundus Nüchternsekret abgesaugt und danach Luft insuffliert, um die Dehnbarkeit der Magenschleimhaut zu beurteilen und Sicht auf im Faltenrelief verborgene Mukosaareale zu bekommen. Unter Sichteinstellung aller Regionen wurde die Endoskopspitze zum Pylorus vorgeführt, dieser passiert und das Duodenum bis in die Pars descendens duodeni beurteilt. Nach dem Rückzug in den Magen erfolgte in Inversionsstellung der Endoskopspitze eine Begutachtung der cardia-nahen Schleimhautgebiete und der kleinkurvaturseits gelegenen Areale. Erst nach kompletter Inspektion aller Gebiete wurden Schleimhautbiopsien gewonnen.

Bei jeder Endoskopie wurden insgesamt 8 Biopsiepartikel entnommen. Für die histologische Bearbeitung und Auswertung, bzw. Beurteilung der *Helicobacter pylori* Besiedlung und des Ausprägungsgrades der Gastritis, erfolgte die Entnahme von zwei Biopsieproben im Antrum und zwei Biopsieproben im unteren und mittleren Drittel der großen Kurvatur, entsprechend der Corpusregion des Magens. Im Antrumbereich wurde je eine Probe vom anterioren und posterioren Wandbereich innerhalb der Region 2 - 5 Zentimeter vom Pyloruskanal entfernt entnommen. Außerdem wurden aus dem Antrum und aus dem Corpus von den oben beschriebenen Regionen je 2 Partikel für die mikrobiologische Bearbeitung und Auswertung, bzw. der kulturellen Anzucht des Keims, gewonnen.

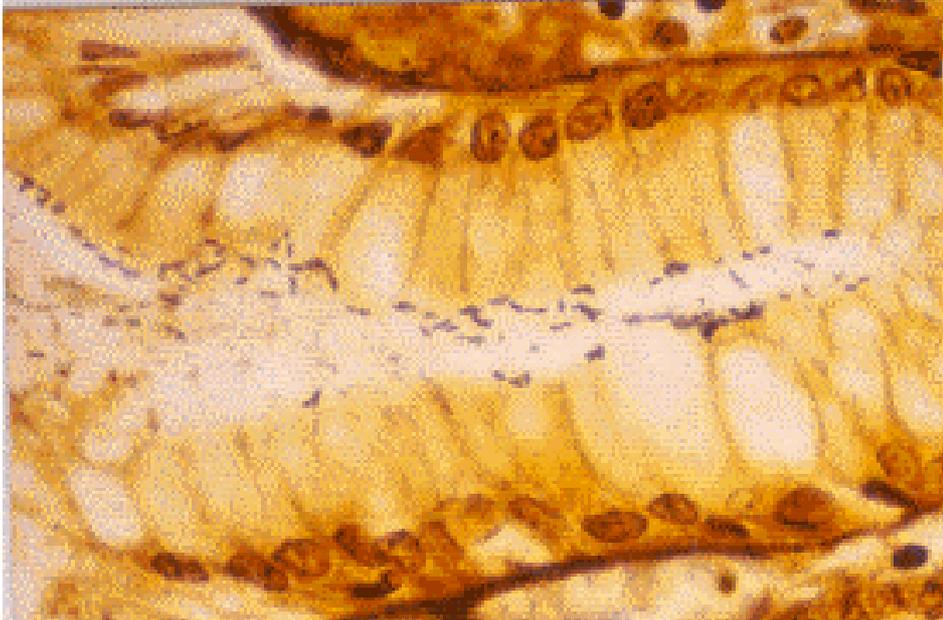
Die Biopsate wurden entweder an das Institut für Mikrobiologie des Universitätsklinikums Regensburg oder an das Institut für medizinische Mikrobiologie der Technischen Universität Dresden eingesandt. Die Patienten, auf deren Daten

diese Arbeit beruht, wurden während des Zeitraums Februar 2001 bis Januar 2002 diagnostiziert.

### 3.2.2. *Histologische Bearbeitung und Auswertung des Biopsiematerials*

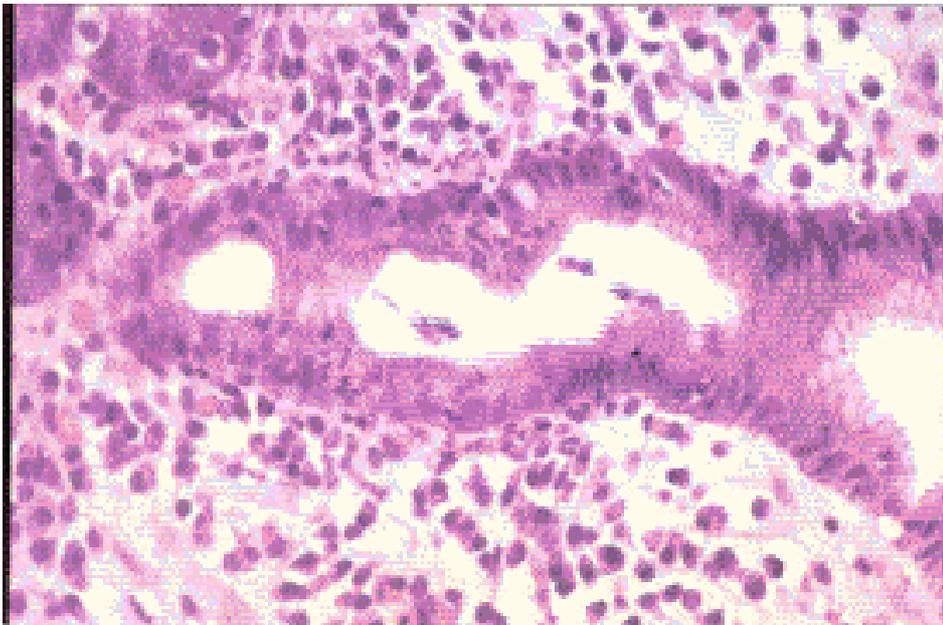
Alle Biopsieproben für die histologische Untersuchung wurden direkt nach Entnahme in 10%iger Formaldehydlösung fixiert. Die weitere Bearbeitung der Präparate erfolgte im Institut für Pathologie des Klinikums Bayreuth unter Leitung von Prof. Dr. M. Stolte nach folgender Methodik: die Präparate wurden erst in aufsteigender Alkoholreihe und Xylol entwässert, dann in Paraffin eingebettet und schließlich in 3-5 µm dünne Gewebsscheiben mittels Mikrotom geschnitten. Danach wurden die Gewebeschnitte der Biopsiepräparate aus den Antrum- und Corpusregionen jeweils mit Hämatoxylin & Eosin, zum Nachweis der Gastritis-Aktivität, und mit der Warthin-Starry-Methode zum Nachweis der *Helicobacter pylori*-Schleimhautkolonisation, angefärbt. Zur Vermeidung einer interindividuellen Variabilität in der Beurteilung der Gastritis und der histologischen Auswertung wurden alle Gewebeproben persönlich von dem oben genannten Pathologen (Prof. Dr. M. Stolte) untersucht. Die histologische Untersuchung der Biopsate im Rahmen dieser Studie diente ausschließlich dem Nachweis der *Helicobacter pylori* Infektion. Es wurden nur die Parameter *Helicobacter pylori* Besiedlung mit Warthin-Starry Färbung und die Aktivität mittels Hämatoxylin & Eosin Färbung bewertet. Die genannte *Helicobacter* Kolonisation (Abb. 4, S. 38) wurde als 0 = nicht vorhanden (keinerlei Nachweis von *Helicobacter pylori*) und 1 = vorhanden (Nachweis von *Helicobacter pylori*, ohne Bewertung der Zahl) graduiert. Die genannten histologischen Veränderungen der *Helicobacter pylori* Gastritis (Abb. 5, S. 38) wurden nur mit 0 = nicht vorhanden (keine neutrophilen Granulozyten in der Tunica propria) und 1 = vorhanden (Nachweis von neutrophilen Granulozyten in der Tunica propria, ohne Bewertung der Zahl) graduiert. Eine Bewertung der Kriterien, wie sie in der auf dem Weltkongress für Gastroenterologie 1990 in Sydney entworfenen Gastritis-Klassifikation, dem „Sydney-System“, und ihrer 1994 revidierten Form, dem „Updated Sydney-System“ festgelegt wurden [42,154], wurde im Rahmen dieser Studie nicht durchgeführt.

**Abb. 4: Warthin-Starry-Färbung von Helicobacter pylori**



Der Versilberung nach Warthin-Starry ist die sensitivste Methode zum Nachweis von Helicobacter pylori.

**Abb. 5: Hämatoxylin & Eosin-Färbung zur Graduierung der Aktivität der Helicobacter pylori Gastritis**



Die Visualisierung von neutrophilen Granulozyten in der Tunica propria, in der Hämatoxylin & Eosin Färbung, dient als Nachweis der Helicobacter pylori Gastritis.

### 3.2.3. *Mikrobiologische Bearbeitung und Auswertung des Biopsiematerials*

Von insgesamt 4 Antrumbiopsaten und 4 Corpusbiopsaten waren je 2 Partikel für die mikrobiologisch-kulturelle Untersuchung bestimmt. Die für die Kulturen vorgesehenen Partikel wurden sofort nach der Entnahme in das „Portagerm-Pylori-Transport-Medium“ (BioMérieux, Marcy l`Etoile, France) und ein vorgekühltes Transportgefäß (Sarstedt, Darmstadt) gegeben und gelangten als Kuriersendung (UPS) innerhalb von 16 Stunden zur Untersuchung in das Institut für Mikrobiologie der Universität Regensburg. Nach Eintreffen des Biopsiematerials wurden die Proben zur Anzucht von *Helicobacter pylori* umgehend auf drei Kulturmedien, 2 selektiven und einem nicht selektiven Medium, kultiviert: dies waren der „Pylori-Agar“ (BioMérieux, Marcy l`Etoile, France), der „Wilkins-Chalgren-Agar“ mit Zusatz von 10% Pferdeblut und „Skirrow`s Supplement“ (Skirrow-Antibiotic-Supplement, Unipath, Wesel, Germany) und der „Schokoladen-Agar“ (Becton & Dickinson, Heidelberg, Germany). Die Inkubation dauerte 5 Tage bei 37<sup>0</sup> C in einem mikroaerophilen Klima von 10% CO<sub>2</sub>, 5% O<sub>2</sub> und 85% N<sub>2</sub>.

Zum Nachweis von *Helicobacter pylori* wurden die erfolgreich angezüchteten Kulturen nach Gram-Färbung lichtmikroskopisch untersucht, und der Keim anhand der typischen Morphologie der Kolonien identifiziert. Zusätzliche biochemische Enzymtests mit Flüssigmedien wiesen *Helicobacter pylori* mit positiven Reaktionen von Oxidase, Katalase und Urease nach.

Die erfolgreich kultivierten *Helicobacter pylori* Stämme wurden prä-therapeutisch auf ihre Empfindlichkeit gegenüber den Antibiotika Amoxicillin, Clarithromycin und Metronidazol getestet. Die Resistenz gegenüber Clarithromycin und Metronidazol war Eingangskriterium für die Aufnahme in die Studie mit der Rifabutin-Tripel-Therapie und der Hochdosis Dualtherapie. Im Falle von Therapieversagen in dieser Studie, wurde *Helicobacter pylori* erneut kulturell angezüchtet und den gleichen prä-therapeutischen Sensibilitätstestungen unterzogen. Da bekannt war, dass die *Helicobacter pylori* Infektion häufig aus einem Spektrum genetisch unterschiedlicher Stämme zusammengesetzt ist, und die Stämme eine gemischte Sensibilität aufweisen können, wurden die Antibiotika-Sensibilitätstestungen mit Abstrichen von 3 unterschiedlichen Kolonien durchgeführt. Fehlinterpretationen aus der Testung einzelner Kolonien sollten so vermieden werden. Als Sensibilitätstestverfahren wurde der Epsilon-Test

angewandt [63] (E-Test-Kit von Difco, Augsburg, Germany). Die von den Kolonien entnommenen Abstriche wurden auf Agar-Platten ausgestrichen und Antibiotika-Teststreifen aufgelegt, die vorgegebene Gradienten von Antibiotika-Konzentrationen enthielten. Die Ausführung des E-Tests erfolgte nach den Anwendungshinweisen des Herstellers zur Inkubation der Platten und der Interpretation der Wachstumsergebnisse. Das Wachstum der Kolonien auf den Agar-Platten wurde in Relation zu den Konzentrationsangaben der MHK-Skala des E-Teststreifen abgelesen, um nach dem Diffusionsprinzip indirekt auf die zugehörigen MHK-Werte der Wachstumszonen der Kolonien zu schließen.

Die Sensibilitätstestung von Metronidazol erfolgte im Konzentrationsbereich von 0.25 mg/l bis 32 mg/l und Metronidazolresistenz wurde bei Wachstum von *Helicobacter pylori* Stämmen  $\geq 16$  mg/l definiert (Ch.-B.:7231488, Bayer, Leverkusen). Clarithromycin wurde im Konzentrationsbereich von 0.016 mg/l bis 5 mg/l getestet. Bei Wachstum von *Helicobacter pylori* Kolonien im Konzentrationsbereich von  $\geq 0.25$  mg/l wurden die Stämme als Clarithromycinresistent definiert (Lot No. 72-001VC, Abbott, Queensborough, England). Die Antibiotikakonzentrationen von Amoxicillin betragen 0.016 mg/l bis 2 mg/l. Amoxicillinresistenz von *Helicobacter pylori* Stämmen wurde bei Werten  $\geq 0.5$  mg/l definiert (Batch No. 37, Smith Kline Beecham, München). Rifabutin wurde in Konzentrationen von 0.016 mg/l bis 2 mg/l getestet und ein Wachstum bei einer Konzentration  $\geq 0.5$  mg/l wurde als Resistenz gewertet (API 18B022-2000, Pharmacia). Für diese Arbeit wurden die *Helicobacter* Stämme nur als resistent oder sensibel definiert, genaue MHKs wurden nicht abgelesen und angegeben. Eine Zusammenfassung der getesteten und als resistent gewerteten Antibiotikakonzentrationen sind in Tabelle 4 zusammengefasst.

**Tabelle 4: Antibiotika-Sensibilitätstestung von Helicobacter pylori**

Antibiotikum	Resistenz	Testbereich	Test-Hersteller
Metronidazol	$\geq 16$ mg/l	0.25 mg/l bis 32 mg/l	Ch.-B.:7231488, Bayer
Clarithromycin	$\geq 0.25$ mg/l	0.016 mg/l bis 5 mg/l	Lot No. 72-001VC, Abbott
Amoxicillin	$\geq 0.5$ mg/l	0.016 mg/l bis 2 mg/l	Batch No. 37, Smith Kline Beecham
Rifabutin	$\geq 0.5$ mg/l	0.016 mg/l bis 2 mg/l	API RA 18B022-2000 Pharmacia

Testbereiche und Resistenzschwellenwerte von Metronidazol, Clarithromycin, Amoxicillin und Rifabutin.

#### 3.2.4. Anamneseerhebung und Monitorig

Die anamnestischen Daten zu früheren Helicobacter pylori- assoziierten Erkrankungen wie peptischen Ulzera, Magenmalignomen, anderen Malignomen, sonstigen schweren Erkrankungen, Einnahme von Medikamenten zum Zeitpunkt der Untersuchung sowie in den letzten 4 Wochen wurde nach Erhalt der histologischen und des mikrobiologischen Ergebnisses vom Monitor und Verfasser der vorliegenden Arbeit (Annett Kroettinger) erfragt. Ferner wurde genauestens die Anzahl und die Zusammensetzung früherer Eradikationsversuche eruiert ggf. durch Nachfrage beim überweisenden Hausarzt. Die demographischen Daten wie Alter und Geschlecht wurden ebenfalls vor Beginn der Therapie dokumentiert. Nach Beendigung der ein bzw. Zwei-wöchigen Therapie wurden alle Patienten telefonisch zur Compliance und möglichen unerwünschten Wirkungen der Therapie befragt (dies wurde ebenfalls von der Verfasserein der Arbeit, Annett Kroettinger, ausgeführt).

#### 3.2.5. Statistische Auswertung

Die statistischen Berechnungen wurden mit dem Softwareprogramm SPSS/PC 10.0 (SPSS Inc. Chicago, Il., USA) durchgeführt. Ein  $p < 0.05$  wurde als signifikant eingestuft.

## 4. ERGEBNISSE

### 4.1. Demographische Daten der Patienten

Die in diese Therapiestudie aufgenommenen ambulanten Patienten wurden ein dem Zeitraum von Februar 2001 bis Januar 2002, aus den Ärztehäusern und den internistisch-gastroenterologischen Praxen, wie unter 3.1. angegeben, rekrutiert. Bei insgesamt 72 (von 83, also 86.8%) Patienten gelang es eine *Helicobacter pylori* Kultur anzuzüchten und Resistenzen gegen Metronidazol und Clarithromycin nachzuweisen, so dass sie in die Studie aufgenommen werden konnten. Alle Patienten hatten mindestens einen Therapieversuch zur Eradikation von *Helicobacter pylori* hinter sich, welchen sie entsprechend der Vorschriften, d.h. vollständig durchgeführt hatten. Mehr als 90 % der vorausgegangenen Therapien waren Protonenpumpeninhibitor- (PPI) kombinierte Tripel-Therapien, d.h. sie setzten sich zusammen aus einem PPI (entweder Omeprazol, Pantoprazol oder Lansoprazol) in der doppelten Standarddosis, kombiniert mit entweder Clarithromycin 2 x 250 mg plus Metronidazol 2 x 400 – 500 mg oder Clarithromycin 2 x 500 mg plus Amoxicillin 2 x 1000 mg. Alle Therapieschemata wurden über jeweils mindestens 7 Tage eingenommen.

**Tabelle 5: Demographische Daten der Patienten**

Therapiegruppe	Therapie 1 ERA		Therapie 2		mOA
Parameter	n	(%)	n	(%)	p
Patienten	38		34		
Männer	14		15		n.s.
Frauen	24		19		n.s.
Alter [Median]	48 (19-72)		49.5 (24-72)		n.s.
Anzahl früherer HP-Therapien					
1 Therapie	21	(55.3)	19	(55.9)	n.s.
2 Therapien	12	(31.6)	12	(35.3)	n.s.
≥ 3 Therapien	5	(13.1)	3	(8.8)	n.s.

ERA = Esomeprazol, Rifabutin und Amoxicillin, mOA = modifizierte Hochdosis-Omeprazol-Amoxicillin-Dualtherapie, n.s. = nicht signifikant

Die demographischen Daten dieser 72 Patienten – Geschlecht, Alter, Anzahl früherer HP (*Helicobacter pylori*)-Therapien – sind in Tabelle 5 zusammengefasst und die assoziierten Erkrankungen werden in Tabelle 6 dargestellt.

**Tabelle 6: *Helicobacter pylori* - assoziierte Erkrankungen der Patienten**

Therapiegruppe	Therapie 1 ERA		Therapie 2 mOA		
Parameter	n	(%)	n	(%)	p
Patienten gesamt	38		34		
peptische Ulcuskrankheit	14	(36.8)	15	(44.1)	n.s.
akut	8	(21.0)	11	(32.4)	n.s.
anamnestisch	6	(15.8)	4	(11.7)	n.s.
Duodenitis	1	( 2.6)	5	(14.7)	n.s.
funktionelle Dyspepsie	15	(39.6)	12	(35.3)	n.s.
Refluxkrankheit	8	(21.0)	2	( 5.9)	n.s.

ERA = Esomeprazol, Rifabutin und Amoxicillin, mOA = modifizierte Hochdosis-Omeprazol-Amoxicillin-Dualtherapie, n.s. = nicht signifikant

## 4.2. Mikrobiologische Ergebnisse

Die Ergebnisse der mikrobiologischen Sensibilitätstestung waren entscheidend für den Einschluss in diese Therapiestudie. Nur Patienten mit doppelresistenten *Helicobacter pylori* Stämmen (Clarithromycin und Metronidazol) wurden in die Studie aufgenommen. Definitionsgemäß lagen alle für Metronidazol gemessenen Sensitivitätswerte bei  $\geq 16$  mg/l und für Clarithromycin bei  $\geq 0.25$  mg/l. Bezüglich Amoxicillin und Rifabutin lagen alle gemessenen Werte im empfindlichen Bereich, mindestens eine Titerstufe unter dem Grenztiter (jeweils  $\geq 0.5$  mg/l).

## 4.3. Therapieergebnisse

### 4.3.1. Ergebnisse der Eradikationstherapie

Die für die Studie rekrutierten Patienten wurden anhand einer Randomisierungsliste

zwei Therapiegruppen zugeordnet. Bei Patienten in der Gruppe 1 wurde die Therapie „ERA“ mit 2 x 20 mg Esomeprazol (Nexium mups®), 2 x 150 mg Rifabutin (Mycobutin®) und 2 x 1000 mg Amoxicillin (Amoxicillin ratiopharm®) in 12-stündigen Abständen um 7h und 19h über 7 Tage durchgeführt. Die Patienten in Gruppe 2 erhielten die Therapie „mOA“ bestehend aus 3 x 40 mg Omeprazol (Antra MUPS<sup>R</sup>) und 3 x 1000 mg Amoxicillin (Amoxicillin ratiopharm®) jeweils um 6h, 14h und 22h über 14 Tage. Bei der endoskopisch-bioptischen Kontrolle 4 – 6 Wochen nach dem Ende der Therapie zeigten in der PP (Per-Protocol)- Analyse 83.3 % (30 von 36) der Patienten der Gruppe 1, und 80.0 % (24 von 30) der Patienten der Gruppe 2 einen negativen Nachweis von *Helicobacter pylori* sowohl in der histologischen als auch in der mikrobiologischen Untersuchung. In der ITT (Intention-To-Treat)-Analyse wurden zusätzlich die Patienten berücksichtigt die randomisiert wurden, eine Therapie erhalten

**Tabelle 7: Ergebnisse der Eradikationstherapie**

Therapiegruppe	Therapie 1 ERA		Therapie 2 mOA			
Parameter	n	(%)	n	(%)	p	
Patienten gesamt	38		34			
Therapieabbruch	2	(5.3)	4	(11.8)	n.s.	
Eradikation erfolgreich (ITT)	30/38	(79.0)	24/34	(70.6)	n.s.	
	(PP)	30/36	(83.3)	24/30	(80.0)	n.s.
Versagen der Eradikation	6	(16.7)	6	(20.0)	n.s.	
Patienten in die						
Cross-over-Therapie	5*		5*			
davon Eradikation erfolgreich	4	(80.0)	4	(80.0)	n.s.	

ERA = Esomeprazol, Rifabutin und Amoxicillin, mOA = modifizierte Hochdosis-Omeprazol-Amoxicillin-Dualtherapie, \* je ein Patient lehnte das Cross-over zur Dualtherapie ab, n.s. = nicht signifikant

haben, aber die Therapie abgebrochen haben oder bislang nicht zur Kontrolle erschienen sind. Dies waren in der Gruppe 1 zwei und in der Gruppe 2 vier Patienten. Die ITT-Analyse ergab eine Eradikationsrate von 79.0 % (30 von 38 Patienten) für die Gruppe 1 und 70.6 % (24 von 34 Patienten) für die Gruppe 2. Die Therapieergebnisse sind in der Tabelle 7 zusammenfassend dargestellt.

#### 4.3.2. Unerwünschte Wirkungen der Therapie

Die während der Therapie aufgetretenen unerwünschten Wirkungen sind in Tabelle 8 zusammengefaßt. Zwei Patienten in der Gruppe 1 haben die Therapie nicht begonnen, weil sie sich nach Randomisierung an eine Penicillin-Allergie zu erinnern glaubten. Vier Patienten in Gruppe 2 haben aufgrund einer mäßig-gradig ausgeprägten Diarrhoe (maximal 4 breiige Stühle über 2 - 3 Tage) sowie Übelkeit und Kopfschmerzen die Therapie abgebrochen. Alle anderen unerwünschten Wirkungen der Therapie (= Ne-

**Tabelle 8: Unerwünschte Wirkungen der Therapie**

Therapiegruppe	Therapie 1 ERA		Therapie 2 mOA		
Parameter	n	(%)	n	(%)	p
Patienten insgesamt	38		34		
Nebenwirkungen insgesamt*#	19	(50.0)	6	(17.7)	< .01
davon mit Therapieabbruch+	2	( 5.3)	4	(11.8)	n.s.
<u>darunter</u>					
Übelkeit	6	(15.8)	3	(8.8)	n.s.
Diarrhoe	5	(13.2)	1	(2.9)	n.s.
Geschmacksveränderungen	4	(10.5)	1	(2.9)	n.s.
Kopfschmerzen	4	(10.5)	1	(2.9)	n.s.
Pruritus	4	(10.5)	1	(2.9)	n.s.
Andere (je 1x)	10	(26.3)	5	(14.7)	n.s.

\* alle unerwünschten Wirkungen waren vorübergehend und verschwanden völlig nach Beendigung der Therapie. # Manche Patienten gaben mehr als eine unerwünschte Wirkung an, n.s. = nicht signifikant,

+ Therapieabbruch aufgrund vorübergehender unerwünschter Arzneimittelwirkungen

benwirkungen) führten nicht zum Therapieabbruch und bildeten sich spätestens innerhalb weniger (max. 3) Tage nach dem Ende der Therapie zurück. Im einzelnen wurden folgende unerwünschte Wirkungen berichtet: in Gruppe 1 (ERA) – Übelkeit (n = 6), Diarrhoe (n = 5), Geschmacksveränderung (n = 4), Kopfschmerzen (n = 4), Pruritus (n = 4), andere (n = 10). In Gruppe 2 (mOA) traten signifikant weniger unerwünschte Wirkungen der Therapie auf: Übelkeit (n = 3), Diarrhoe (n = 1), Geschmacksveränderungen (n = 1), Kopfschmerzen (n = 1), Pruritus (n = 1), andere (n = 5).

#### 4.3.3. Ergebnisse der Cross-over-Therapie

Insgesamt 12 (16.7%) der Patienten zeigten bei der endoskopisch-bioptischen Kontrolle 4 – 6 Wochen nach dem Ende der Therapie einen histologisch positiven Nachweis von *Helicobacter pylori* – waren also Therapieversager. Bei 9 von 12 (75%) der Patienten war auch die Kultur von *Helicobacter pylori* positiv. Die zuvor gegen Metronidazol und Clarithromycin festgestellte Doppelresistenz wurde in allen Fällen bestätigt. Bei keinem der 9 angezüchteten Stämme lies sich eine post-therapeutische Resistenz gegenüber Amoxicillin oder Rifabutin nachweisen.

Bei insgesamt 5 der 6 Patienten, die in der Gruppe 1 mit der Rifabutin-Tripel-Therapie (ERA) nicht erfolgreich behandelt werden konnten, konnte *Helicobacter pylori* angezüchtet werden. Von den 6 Patienten stimmten 5 dem Cross-over zur Dualtherapie (mOA) zu. Vier der 5 Patienten (80%) zeigten bei der post-therapeutischen Kontrolle nach der Cross-over-Therapie einen negativen Nachweis von *Helicobacter pylori*. Bei 4 der 6 (66.7%) Patienten aus der Dualtherapiegruppe (mOA), die keine erfolgreiche Eradikation erfahren hatten, konnte *Helicobacter pylori* wieder angezüchtet werden. Fünf der 6 Patienten stimmten dem Cross-over zur Rifabutin-Tripel-Therapie (ERA) zu und 4 dieser 5 Patienten (80%) zeigten bei der post-therapeutischen Kontrolle einen negativen Nachweis von *Helicobacter pylori*.

Nach Abschluss der Studie wurde die erfolgreiche Eradikation von *Helicobacter pylori* der Erst-Therapie (Therapiegruppe in die die Patienten primär randomisiert wurden), der Cross-over-Therapie und der Gesamt-Therapie (Kumuliertes Eradikationsergebnis) ermittelt und in Tabelle 9 zusammengefasst.

**Tabelle 9: Zusammenfassung der Ergebnisse der Eradikationstherapie,  
(Eradikation nach Erst-Therapie, Cross-over-Therapie, Gesamt)**

Therapiegruppe	Gruppe 1	Gruppe 2
Parameter	n (%)	n (%)
<u>Erst-Therapie</u>	<u>ERA</u>	<u>mOA</u>
Patienten gesamt	38	34
davon abgebrochen	2	4
Eradikation erfolgreich	30 (83.3)	24 (80.0)
<u>Cross-over-Therapie</u>	<u>mOA</u>	<u>ERA</u>
Patienten im Cross-over	5	5
davon abgebrochen	--	--
Eradikation erfolgreich	4 (80.0)	4 (80.0)
<u>Kumulative Eradikation</u>		
Eradikation (alle Pt./Gruppe)	34 (89.5)	28 (82.4)
Eradikation durch ERA (Pt. beider Gruppen)	34/41 (82.9)	
Eradikation durch mOA (Pt. beider Gruppen)	28/35 (80.0)	

ERA = Esomeprazol, Rifabutin, und Amoxicillin, mOA = modifizierte Hochdosis-Omeprazol-Amoxicillin-Dualtherapie, Pt. = Patienten

## 5. DISKUSSION

Mit dieser Arbeit wurde anhand einer multizentrischen Therapiestudie die Wirksamkeit einer neuen Tripel-Therapie bestehend aus Esomeprazol, Rifabutin und Amoxicillin bei Patienten, die gegen Metronidazol und Clarithromycin doppelresistente *Helicobacter pylori* Stämme aufwiesen, untersucht. Die neue Tripel-Therapie wurde erstmals 1998 im Rahmen einer Pilotstudie an unselektierten Patienten mit nicht getesteter Resistenzsituation eingesetzt und als effektiv erwiesen [148]. Die Effektivität bei ausschließlich resistenten Stämmen wurde bisher nicht untersucht.

In dieser Arbeit wurde die neue Tripel-Therapie mit einer Hochdosis Dualtherapie, bestehend aus Omeprazol und Amoxicillin (OA-Dualtherapie), verglichen. Omeprazol und Amoxicillin wurden als Substanzen der Vergleichstherapie gewählt, da für diese Kombination bereits eine Vielzahl an Effektivitätsdaten (zur Eradikation von *Helicobacter pylori*, inklusive resistenter Stämme) vorliegt. Die hohe Dosis von Omeprazol wurde aufgrund von Studien die einerseits zeigen, dass ein Protonenpumpeninhibitor kombiniert mit einem Antibiotikum die Resistenz von *Helicobacter* gegenüber dem Antibiotikum reduzieren kann und andererseits, dass eine Abhängigkeit der Eradikationsrate von der Omeprazoldosis besteht, genutzt.

*Rifabutin Tripel-Therapie:* Erstmalig zeigte Perri et al. 1998 [148] mit einem Therapieschema mit Rifabutin, Amoxicillin und Pantoprazol (Tabelle 10), dass auch nach einer gescheiterten Erst-/bzw. Zweitlinientherapie bei Vorliegen von Resistenzen gegenüber den bisher verwendeten Antibiotika eine Eradikationsrate von 78,6% erreicht werden kann. Auch die nachfolgenden Studien (Tabelle 10), die Rifabutin, Amoxicillin und PPI verwendeten, bestätigten die Ergebnisse dieser Rescue-Therapie. Die Verträglichkeit war in allen Studien sehr gut, mit einer Nebenwirkungsrate von ca. 4%. Perri et al. [150] verglich die Rifabutin-Therapie mit einer Quadrupel-Therapie (QT: PPI + Wismut + Tetrazyklin + Metronidazol) bei Therapieversagern. Mit einer Dosierung von 300 mg Rifabutin/Tag konnte eine Eradikation von 86,6% gegenüber 66,6% in der QT-Gruppe erreicht werden. Dabei lag die Nebenwirkungsrate in der QT-Gruppe bei 47%, und in der Rifabutin-Gruppe nur bei 9%. Im Unterschied zu den von Perri et al. durchgeführten Studien wurde in der hier vorliegenden Untersuchung eine wesentlich höhere Rate von unerwünschten Wirkungen berichtet. Dies ist vermutlich auf die sorgfältige Befragung und Dokumentation dieser Studie zurückzuführen. Die

Nebenwirkungen waren überwiegend mild ausgeprägt und führten nur in einem einzigen Fall zum Therapieabbruch.

**Tabelle 10: Therapieschemata mit Rifabutin**

Schema	Komponenten Dosis in mg Dauer	E % ITT	E% PP	Referenz Patientenzahl
RAP 300	R: 1 x 300mg; A: 2x1g, P: 2x40mg 10 Tage	78,6%	78,6%	Perri et al. (1998) [148] 28 Patienten
RAP 300	R: 1x300 mg, A: 2x1g, P: 2x40 mg 10 Tage	79%	82% <sup>s</sup>	Perri et al. (2000) [149]; 29 Patienten
RAP 150	R: 1x150 mg, A: 2x1g, P: 2x40 mg 10 Tage	67%	69%	Perri et al. (2000) [149]; 30 Patienten
RAL	R: 2x150 mg, A: 2x1g, L 2x30 mg 7 Tage	72 %	86 %	Bock et al. (2000) [19]; 25 Patienten
RAP 300	R: 1x300 mg, A: 2x1g, P: 2x40 mg 10 Tage	86,6%	86,6 %	Perri et al. (2001) [150]; 45 Patienten
RAP 150	R: 1x150 mg, A: 2x1g, P: 2x40 mg 10 Tage	66,6%	68,1 %	Perri et al. (2001) [150] 45 Patienten

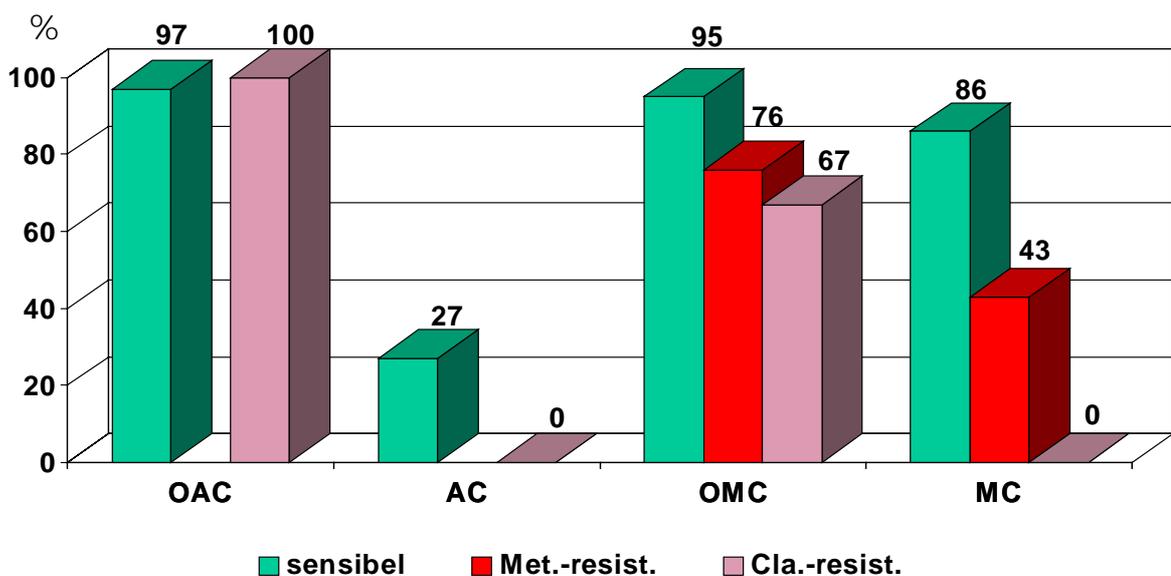
L = Lansoprazol, P = Pantoprazol, A = Amoxicillin, C=Clarithromycin, M = Metronidazol, R = Rifabutin, ITT = Intention-To-Treat Analyse, PP = Per-Protocol Analyse

Die aufgeführten Rifabutin-Therapiestudien haben eines gemeinsam; alle Therapieschemata wurden lediglich an relativ kleinen Kollektiven von höchstens 50 Patienten durchgeführt, und sind somit klinisch nur bedingt aussagekräftig. Da in der vorliegenden Studie ausschließlich Patienten mit kulturell nachgewiesener Doppelresistenz von *Helicobacter pylori* gegenüber Metronidazol und Clarithromycin behandelt wurden, ist die Aussage trotz relativ kleiner Patientenzahl als relevant und klinisch bedeutsam einzuschätzen.

*Abhängigkeit der Eradikationsrate der OA-Dualtherapie von der Omeprazoldosis:* Wie erwähnt bestand die entscheidende Modifikation der OA-Dualtherapie dieser Studie in der hohen Dosis von Omeprazol – 120 mg (= 3 x 40 mg) pro Tag verglichen mit 40mg (2 x 20 mg) pro Tag in der “sogenannten“ Standarddosierung. Zum Verständnis der Bedeutung dieser Modifikation ist wichtig zu wissen, dass Amoxicillin als chemische Substanz ihr Wirkoptimum bei pH 7 entfaltet. Dieser pH-Wert kann im Magen aber nur bei kompletter Suppression der Säuresekretion erreicht werden, wofür die Standarddosis bzw. die doppelte Standarddosis eines Protonenpumpeninhibitors nicht ausreicht [6,13,125]. Um aufzuzeigen, dass eine Abhängigkeit der Eradikationsrate von der Omeprazoldosis besteht, wurde Tabelle 11 eingefügt.

*Reduktion der Resistenzentwicklung von Helicobacter pylori gegen Antibiotika durch Einsatz eines Protonenpumpeninhibitors:* Die MACH2-Studie, eine europäische multizentrische Therapiestudie mit prä-therapeutischer Resistenztestung, zeigte, dass eine prä-therapeutische Resistenz gegenüber Metronidazol und Clarithromycin das Eradikationsergebniss von 90 – 95 % auf 60 – 70 % senkte, und dass es in Europa keine prä-therapeutischen Resistenzen gegenüber Amoxicillin gibt. Außerdem zeigte

**Abb. 6: MACH2 – Studie - Eradikationsraten in Patienten mit sensiblen bzw. resistenten Helicobacter pylori Stämmen**



O = Omeprazol, A = Amoxicillin, C = Clarithromycin, M = Metronidazol

**Tabelle 11: Eradikationsraten bei verschiedenen Modifikationen der Omeprazol-Amoxicillin-Dualtherapie**

Autor / Jahr	Patienten n	Eradikation (%)
<u>20 mg Omeprazol</u>		
Miehlke et al. / 1997 [125]	41	45
<u>40 mg Omeprazol</u>		
Unge et al. / 1993 [182]	118	54
Miehlke et al. / 1997 [125]	41	56
<u>80 mg Omeprazol</u>		
Bayerdörffer et al. / 1992 [14]	30	82
Labenz et al. / 1994 [102]	35	85
Labenz et al. / 1994 [103]	30	80
Koelz et al. / 1995 [93]	78	63
Miehlke et al. / 1997 [125]	41	66
<u>120 mg Omeprazol</u>		
Miehlke et al. / 1997 [125]	41	83
Bayerdörffer et al. / 1995 [15]	135	91
Morgner et al. / 1997 [130]	120	96
<u>160 mg Omeprazol</u>		
Miehlke et al. / 2000* [124]	43	81

\* Patienten nach Therapieversagen einer Eradikationstherapie, infiziert mit multiresistenten *Helicobacter pylori* Stämmen

die MACH2-Studie den hohen Effekt des Protonenpumpeninhibitor Omeprazol auf die Eradikationsraten der OAC- und OCM-Therapieschemata [109, Abb. 6].

Die Analyse der Abb. 6 zeigt, dass es nicht in jedem Resistenzfall zum Therapieversagen kommt. Dies könnte bedeuten, dass die Kombination eines PPI mit einem Antibiotikum die Wirkung des Antibiotikums verstärkt und somit eine begrenzte Potenz zur Eradikation des Keims ermöglicht oder, dass die „in-vitro“ bestimmte Resistenz reversibel ist [62], bzw. nicht notwendigerweise eine Aussage über die „in-vivo“ Wirksamkeit und damit auch keine Aussage über das Eradikationsergebnis erlaubt.

Die Französische Tripel-Therapie (OAC) hatte in der MACH2-Studie bei Vorliegen einer Clarithromycinresistenz 67 % Eradikation erreicht. Funktionell entspricht eine Französische Tripel-Therapie bei Clarithromycinresistenz einer Standarddosis Dualtherapie mit Omeprazol + Amoxicillin als einzige wirksame Komponenten. Das Therapieergebnis von 67 % liegt daher im Bereich des Eradikationserfolges der „Standard-Dualtherapie“ [109, Tabelle 10].

*Die OA-Dualtherapie:* Die OA-Dualtherapie in der hier angewandten Dosierung wurde erstmals 1995 von Bayerdörffer et al. publiziert [13] und danach in weiteren Studien bestätigt [125,130]. Interessanterweise erzielten die initialen Therapiestudien von Labenz & Börsch mit der standard Dualtherapie (Omeprazol 2 x 20 mg und Amoxicillin 2 x 1000 mg, über 14 Tage) Eradikationsergebnisse in der Größenordnung von ca. 80 % [102]. Alle andern zahlreichen seit Ende der 80er Jahre publizierten OA-Therapiestudien wiesen eine breite Streuung der Eradikationsraten von ca. 60 % bis 80 % auf [5,99]. Mit systematischen Studien wurde deutlich, dass die Effektivität der OA-Schemata von mehreren, meist Patienten-bezogenen Einflussgrößen abhängig war [99]. Unzureichende Compliance, kurze Therapiedauer, Rauchverhalten und Vorbe-handlung mit Omeprazol waren Faktoren, die einen negativen Einfluss auf den Therapieeffekt hatten. Prädiktoren für eine höhere Erfolgsrate waren höheres Alter, schwerer Grad und Aktivität der Gastritis oder des Magenculcus.

Wie oben erwähnt hat der intra-gastrische pH-Wert auch einen großen Einfluss auf die Eradikationsergebnisse [5,6,71,72,114]. Bei Anwendung dosis-modifizierter OA-Schemata erklärt die pH-abhängige Wirksamkeit des Amoxicillins die Streuung der Eradikationsraten. Eine Therapiestudie mit 2 x 40 mg Omeprazol über 14 Tage erzeugte eine Eradikationsrate von ca. 80% [14,102]. Das OA-Therapieschema in höherer Omeprazol-Dosierung, mit 3 x 40 mg Omeprazol, wies in einer Studie von

Bayerdörffer et al., die geringste Streuung der Eradikationsraten von durchschnittlich 91% auf [15,125,130]. In einer Arbeit von Miehlke et al. wurden Eradikationsraten von 82% mit 2 x 60 mg, 65% mit 2 x 40 mg, und 56% mit 2 x 20 mg Omeprazol, jeweils kombiniert mit 2 x 1000 mg Amoxicillin, erreicht [125]. Die letzt genannte Eradikationsrate stimmte mit der Eradikationsrate einer kürzlich erstellten Meta-Analyse von 2275 Patienten in 53 Therapiearmen, die nach 14-tägiger Therapie mit gleicher Dosierung eine mittlere Eradikationsrate von 62% fand, überein [187]. Bisher gibt es nur wenige Dualtherapiestudien in der eine prä-therapeutische Resistenztestung vorgenommen wurde (Tabelle 12).

**Tabelle 12: Eradikationsraten mit der modifizierten Dualtherapie bei Patienten mit Imidazol- und Makrolidresistenten *Helicobacter pylori* Stämmen**

Autor / Jahr	Patienten n	Eradikation (%)
Miehlke et al. / 2000 [124]	43	81
Jaup / 1999 [83]	50	80
Peitz et al. / 1999 [146]	13	83

*Die Rate der unerwünschten Ereignisse der beiden in dieser Studie eingesetzten Therapieschemata:* Die Nebenwirkungsrate der OA-Therapie lag mit ca. 5 – 15% deutlich niedriger als die der Rifabutin-Tripel-Therapien von ca. 15 – 25%. Die Nebenwirkungen beider Therapieschemata bestanden hauptsächlich im Auftreten von geringgradig ausgeprägten gastrointestinalen Beschwerden, die alle nach Beendigung der Therapie verschwanden [109,110]. Die Compliance liegt entsprechend den Nebenwirkungsraten bei der Dualtherapie höher als bei der Tripel-Therapie, was zu einer mit 0.5 – 2% geringeren Therapieabbruchrate führt [14,15,126] als bei der Tripel-Therapie mit 2 – 3% [109,110]. Auch in dieser Studie waren die unerwünschten Ereignisse in der Dualtherapie-Gruppe deutlich niedriger (18%) als die der Rifabutin-Tripel-Therapie-Gruppe (50%). Alle Nebenwirkungen waren aber vorübergehend und

verschwanden maximal 3 Tage nach Beendigung der Therapie völlig. Beide der Therapien können also bedenkenlos je nach Indikation eingesetzt werden.

*Antibiotika- Resistenz- bzw. Sensibilitätstestung:* Für die vorliegende Arbeit waren nicht nur die Therapieschemata, sondern auch die prä- und post-therapeutische Testung von besonderer Bedeutung. Bezüglich der Bewertung der „in-vitro“ bestimmten mikrobiologischen Resistenz von *Helicobacter pylori* gegenüber den Antibiotika Metronidazol und Clarithromycin haben molekularbiologische Untersuchungen bestätigt, dass Patienten häufig mit mehreren *Helicobacter pylori* Stämmen gleichzeitig infiziert sind und diese Stämme unterschiedliche Sensibilitäten gegenüber unterschiedlichen Antibiotika aufweisen können [63]. Wenn die Kulturen nur von einzelnen Biopsaten stammen, kann diese Besonderheit der *Helicobacter pylori* Infektion zu einer Fehlinterpretation der Sensibilitätstestung führen. Die Genauigkeit und Zuverlässigkeit der Kultur- und Sensibilitätstestergebnisse ist eine Voraussetzung, um die Eradikationsraten, nach Antibiotika-Sensibilitätstestung, in unterschiedlichen Therapiestudien miteinander vergleichen zu können. Um zuverlässige Ergebnisse der nachfolgenden Kulturverfahren zu erhalten ist von dem Endoskopiker daher zu fordern, Proben nach anerkannten Biopsieschemata zu entnehmen, [16,155,175]. Die in dieser Studie genutzten Kulturverfahren sind unter 3.2. beschrieben. Von den biopsierten Fällen waren in dieser Pilotstudie 87% erfolgreich kultivierbar, was geringfügig niedriger ausfiel als die 94% der MACH2-Studie. Dies könnte durch die simple Nutzung von UPS und einem Kühlbehälter im Vergleich zu der logistisch aufwendigen Kühltransportkette, die in der MACH2-Studie genutzt wurde, erklärt werden.

Mit der molekularbiologischen Ribotyping-Methode wurden *Helicobacter pylori* Stämme vor und nach einer Eradikationstherapie bzw. Therapieversagen, mit Wismut, Amoxicillin und Metronidazol, mit identischen rRNA-Muster gefunden, was den Schluss auf genetisch identische Stämme zulässt [156]. Damit wurde die Hypothese bestätigt, dass Therapieversagen in den meisten Fällen nicht durch Reinfektion mit einem neuen *Helicobacter* Stamm, sondern durch Rekrudescenz aus Stämmen des initialen Spektrums resultiert. Intraindividuell wurde eine multiple Besiedelung mit bis zu 6 genetisch unterschiedlichen *Helicobacter pylori* Stämmen nachgewiesen [84,202]. Die Antibiotika-Sensibilitätstestungen der einzelnen koexistierenden Stämme ergaben

auch dann eine gemischt vorliegende Sensibilität, wenn die Patienten zuvor noch keine Eradikationstherapie durchlaufen hatten. Nach Therapieversagen wurden die Isolate erneut mit der RAPD-PCR-Methode analysiert und bei der Mehrzahl der Patienten wurde der prä-therapeutisch dominante Stamm rekultiviert, seltener entwickelte sich aus dem Spektrum ein anderer Stamm dominant.

Studien zur Sensibilitätstestung von *Helicobacter pylori* Kulturen ergaben fließende cut-off-Werte und bimodale Verteilungsmuster der Metronidazolsensibilität, die auf eine gleichzeitige Besiedlung mit Stämmen unterschiedlicher Empfindlichkeit hindeuten [121,122,193]. In wenigen Fällen koexistierten Kolonien von zwei genetisch unterschiedlichen Stämmen auf den Kulturmedien, die einer einzigen Biopsiestelle zugehörig waren. In einer weiteren Studie wurde aufgezeigt, wie unterschiedlich die Ergebnisse der Sensibilitätstestungen einzelner Proben ausfallen können. Zunächst wurde bei 156 Patienten eine Prävalenz der Metronidazolresistenz von 24% ermittelt. Bei 33% (52 Patienten) wurden Stämme mit heterogener Sensibilität gefunden. Nach erneuter Testung wurden dann davon 28 Fälle als Metronidazol-resistent festgestellt, womit die Gesamtzahl der mit resistenten Stämmen infizierten Patienten auf 65 und entsprechend von 24 % auf 42 % korrigiert werden musste [193]. Damit wurde deutlich, dass aus der Analyse einzelner Kolonien Fehlinterpretationen der Antibiotika-Resistenztestung resultieren, so dass Abstriche und Suspensionen zur Empfindlichkeitstestung von mehreren Kolonien anzufertigen sind, wie auch in dieser Studie erfolgt ist.

Da Antibiotika-Sensibilitätstestungen nicht standardisiert sind, können die Ergebnisse von verfahrensspezifischen Einflüssen wie unterschiedlichen Kulturmedien, Inkubationsbedingungen und Methoden abhängig sein. Mit der Agar-Dilutionsmethode sind prinzipiell zuverlässige und valide MHK-Schwellenwerte entsprechend den Konzentrationen der Verdünnungsreihen zu bestimmen. Die Diffusionsmethoden, auf denen das E-Test Verfahren basiert, werden in der Zuverlässigkeit unterschiedlich bewertet. Mégraud berichtete von einer Überschätzung der Häufigkeit Metronidazol-resistenter Stämme nach dem E-Testverfahren [122]. In der Studie von Lerang et al. wurden verschiedene E-Testkits angewandt [105] und in der MACH2-Studie von Lind et al. wurde die Agar-Dilution Methode eingesetzt [105,109,122]. Lerang et al. berichteten bei Vorliegen von Metronidazolresistenz über eine abweichend höhere HP-

Eradikationsrate von 94% nach ITT-Analyse im Vergleich mit der MACH2-Studie von 76% [105]. Die von Lerang et al. um 18% höher gefundene Eradikationsrate wird mit der methodenspezifisch überhöht eingeschätzten Metronidazolresistenz erklärt [105,109]. Die Antibiotika-Sensibilitätstestungen erfolgten in dieser Therapiestudie mit dem E-Test (AB Biodisc, Solna, Schweden) und Metronidazolresistenz war bei einem  $MHK_{90}$ -Wert von  $\geq 16$  mg/l, verglichen mit einem  $MHK_{90}$ -Wert von  $\geq 8$  mg/l in der MACH2-Studie, definiert [109]. Für ein spezifisches Kultivierungsverhalten, wie zum Beispiel eine niedrigere Kultivierungsrate Metronidazolresistenter *Helicobacter pylori* Stämme fanden sich keine Hinweise.

*Die Behandlung von Therapieversagern:* Nach Auswertung vorhandener sowie der dieser Arbeit zugrunde liegenden Studie, stellt sich die Frage nach der optimalen Behandlung, nach Versagen der bekannten und empfohlenen Erst-Therapien. Wie bei anderen Infektionskrankheiten auch, sollte insbesondere nach Versagen einer PPI-Tripel-Therapie vor einer sekundären Behandlung eine Antibiotika-Sensibilitätstestung erfolgen, wenn Kosten, Techniken und Zeitfaktoren bezüglich der Erkrankung dies machbar erscheinen lassen. Es ist aber davon auszugehen, dass in der klinischen Routinebehandlung der *Helicobacter pylori* Infektion Antibiotika-Sensibilitätstestungen nur in einem geringen Prozentsatz der Fälle ausgeführt werden können. Nach Therapieversagen und ohne Möglichkeit einer Antibiotika-Sensibilitätstestung ist die Kenntnis der Antibiotika-Komponenten der Indextherapie hilfreich, da nach Versagen einer OCM- und OCA-Therapie eine hohe Rate Metronidazol-resistenter *Helicobacter* Infektionen (bis zu 100%) sowie eine geringere Quote doppeltresistenter Stämme (Metronidazol und Clarithromycin) zu erwarten ist. Da soweit bisher bekannt, keine Resistenz gegenüber Amoxicillin besteht, kann auch ohne Sensibilitätstestung des *Helicobacter pylori* die modifizierte OA-Therapie mit 120 mg Omeprazol pro Tag als Reservetherapie zur Eradikation von *Helicobacter pylori* eingesetzt werden. Wenn nach erfolgloser Anwendung einer OCM-Therapie Antibiotika-Sensibilitätstestungen vor der sekundären Therapie durchgeführt werden, sind dem Ergebnis entsprechend zwei der Antibiotika Clarithromycin, Metronidazol und Amoxicillin auszuwählen, um eine auf Omeprazol basierende Tripel-Therapie zu gestalten oder die neue auf Rifabutin basierende Tripel-Therapie einzusetzen. Alternative Therapieformen sind erforderlich wenn, bei symptomatischen *Helicobacter pylori* infizierten Patienten, auch

im Rahmen einer Second-line-Therapie, nach Resistenzprüfung, keine Eradikation erreicht werden kann. Insbesondere bei Vorliegen einer Clarithromycin- und Metronidazol-Doppelresistenz ist das in dieser Studie eingesetzte Rifabutin eine interessante Substanz in der Behandlung von Therapieversagern, denn bisher wurden nur selten Resistenzen nachgewiesen.

Die vorliegenden Daten zeigen, dass sowohl die neue Rifabutin-Tripel-Therapie als auch die modifizierte Hochdosis Dualtherapie gleichermaßen geeignete und effektive Reserveschemata zur Therapie von Patienten sind, die mit einem gegen Metronidazol und Clarithromycin doppelresistenten *Helicobacter pylori* Stamm infiziert sind.

Bei bekannter Resistenzsituation empfiehlt sich ein Vorgehen gemäß Tabelle 13. Die Erfolgsraten einer Zweitlinientherapie liegen deutlich unter den Erfolgsraten der publizierten Erfolgsraten der Erstlinientherapie [21]. Dies gilt insbesondere auch für die Quadrupel-Therapie, die von der Konsensuskonferenz der European Helicobacter Study Group 1997 für diese Indikation empfohlen wurde [116]. Gründe für diese reduzierte Wirksamkeit sind nicht bekannt.

**Tabelle 13: Zweitlinientherapie bei bekannter Resistenzlage**

<b>H. pylori Resistenz</b>	<b>Initialtherapie</b>	<b>Zweitlinientherapie</b>
Nitroimidazol sensibel / Makrolid sensibel	PPI-MC PPI-AC	Quadrupel / mOA ERA
Nitroimidazol resistent/ Makrolid sensibel	PPI-AC	Quadrupel / mOA ERA
Nitroimidazol sensibel/ Makrolid resistent	PPI-MC PPI-M2*A	Quadrupel / mOA ERA
Nitroimidazol resistent/ Makrolid resistent	Keine	Quadrupel / mOA ERA

PPI = Protonenpumpeninhibitor (O = Omeprazol 2 x 20 mg, L = Lansoprazol 2 x 30 mg, P = Pantoprazol 2 x 40 mg, R = Rabeprazol 2 x 20 mg, E = Esomeprazol 2 x 20 mg) A = Amoxicillin, C = Clarithromycin, M = Metronidazol, R = Rifabutin, Nitroimidazol = Metronidazol oder Tinidazol, Makrolid = Clarithromycin  
 Quadruple-Therapie: Omeprazol + Wismutcitrat + Tetracyclin + Metronidazol.

## 6. ZUSAMMENFASSUNG

Die Heilung der chronischen *Helicobacter pylori* Gastritis hat erstmals die Heilung der chronisch rezidivierenden Ulcuskrankheit ermöglicht und ist damit eine lebensrettende Therapie für viele Tausend Patienten, die bis dahin in Deutschland jährlich an einer Komplikation des peptischen Ulcusleidens verstarben. Außerdem ermöglicht die Beseitigung der *Helicobacter pylori* Infektion die Heilung oder Milderung weiterer Folgeerkrankungen (z.B. NSAR-Gastropathie, nicht-ulzerösen Dyspepsie (NUD), erosive und hypertrophische Gastritis) und führt zur Heilung der niedrig-malignen MALT-Lymphome sowie der Verhinderung von zumindest einem Teil der *Helicobacter pylori*-assoziierten distalen Magenkarzinome.

Mehrere Therapiestudien, vor allem die MACH2-Studie, haben gezeigt, dass eine prätherapeutisch bestehende Resistenz von *Helicobacter pylori* gegenüber Metronidazol oder Clarithromycin zu einer Minderung der Eradikationsrate von 20 – 30 % führt. Ist ein *Helicobacter pylori* Stamm gegen beide Antibiotika resistent, führt dies in der Regel zum Versagen der Eradikationstherapie.

Bedingt durch den inzwischen weit verbreiteten und oft nicht indizierten Einsatz der *Helicobacter pylori*-Eradikationstherapie nimmt die Zahl der Patienten mit doppelresistenten *Helicobacter pylori* Stämmen rasch zu. Dies macht die Suche nach einer alternativen bzw. Reservetherapie erforderlich und ist Gegenstand der in dieser Arbeit dargestellten und diskutierten Therapiestudie.

In der Therapiestudie wurden 72 Patienten, nach vorherigem Therapieversagen und kulturell nachgewiesenem gegen Metronidazol und Clarithromycin doppeltresistentem *Helicobacter pylori*, mit der Rifabutin-Tripel-Therapie ( ERA – 2 x 20 mg Esomeprazol, 2 x 150 mg Rifabutin und 2 x 1000 mg Amoxicillin über 7 Tage) oder der modifizierten Hochdosis-Dualtherapie (mOA – Omeprazol 3 x 40 mg und 3 x 1000 mg Amoxicillin über 14 Tage) behandelt. Die ERA-Therapie wurde von allen Patienten ohne nennenswerte unerwünschte Wirkungen absolviert und sie führte in 30 von 36 Patienten (83.3 %) zur Heilung der chronischen *Helicobacter pylori* Infektion. In der mOA-Gruppe wurden 24 von 30 Patienten (80.0 %) erfolgreich therapiert. Vier Patienten der mOA-Gruppe brachen die Therapie wegen einer mäßig ausgeprägten Diarrhoe ab. Ansonsten konnten auch hier keine nennenswerten unerwünschten Wirkungen beobachtet werden.

Insgesamt 17% der therapierten Patienten wurden bei der endoskopischen Kontrolle 4 – 6 Wochen nach Ende des ersten Therapieschemas dieser Studie als Therapieversager identifiziert. Von Ihnen erhielten 83,3% die vorgesehene Cross-over-Therapie. Bei der nächsten Kontrolluntersuchung konnte in 80% der Gruppe 1 (mOA Cross-over-Therapie) sowie 80% der Gruppe 2 (ERA- Cross-over-Therapie) ein negativer Nachweis von *Helicobacter pylori* gezeigt werden.

Die ersten Daten zeigen, dass sowohl die Rifabutin-Tripel-Therapie als auch die Hochdosis-Dualtherapie geeignete und effektive Reserveschemata zur Eradikation von gegen Metronidazol und Clarithromycin doppelresistente *Helicobacter pylori* Stämme sind. Basierend auf der Literaturrecherche sowie den Ergebnissen der Studie auf der diese Arbeit beruht, empfehlen wir die Hochdosis Dualtherapie (mOA) als First-line-Therapie für doppelresistente *Helicobacter pylori* Stämme mit vorherigem Therapieversagen. Die Rifabutin-Tripel-Therapie (ERA) bleibt so für mOA Therapieversager und Penizillin allergische Patienten reserviert und höhere Nebenwirkungsraten sowie eventuelle Resistenzbildung gegen Rifabutin (auch bei Keimen wie z.B. *Mycobacterium -tuberculose* und *-avium*) können so minimiert werden.

## 7. REFERENZEN

- 1 Adamek RJ, Wegener M, Labenz J et al. Mediumterm results of oral and intravenous omeprazole/amoxicillin *Helicobacter pylori* eradication therapy. *Am J Gastroenterol* 1994; 89:39-42.
- 2 Akada JK, Shirai M, Fujii K, Okita K, Nakazawa T. In Vitro anti-*Helicobacter pylori* activities of new rifamycin derivates, KRM-1648 and KRM-1657. *Antimicrob Agents Chemother* 1999; 43:1072-1076.
- 3 Akopyants NS, Kersulyte D, Berg DE. CagII, a new multigene locus associated with virulence in *Helicobacter pylori*. *Gut* 1995; 37:A1.
- 4 Atherton JC, Caol P, Peek RM, Tummuru MKR, Blaser MJ, Cover TL. Mosaicism in vacuolating cytotoxin alleles of *Helicobacter pylori*. *J Biol Chem* 1995; 270:151-156.
- 5 Atherton JC, Hudson N, Kirk GE et al. Amoxicillin capsules with omeprazole for the eradication of *Helicobacter pylori*. Assessment of the importance of antibiotic dose timing in relation to meals. *Aliment Pharmacol Ther* 1994; 8:495-498.
- 6 Axon ATR. The role of acid inhibition in the treatment of *H. pylori*-infection. *Scand J Gastroenterol* 1994; 29(Suppl 201):16-23.
- 7 Bamford KB, Bickley J, Collins JS, Johnston BT, Potts S, Boston V, Owen RJ, Sloan JM. *Helicobacter pylori*: comparison of DNA-fingerprints provides evidence for intrafamilial infection. *Gut* 1993; 34:1348–1350.
- 8 Banatvala N, Davies GR, Abdi Y et al. High prevalence of *Helicobacter pylori* metronidazole resistance in migrants to east London with previous nitroimidazole exposure and gastroduodenal disease. *Gut* 1994; 5:1562-1566.
- 9 Banatvala N, Mayo K, Megraud F, Jennings R, Deeks JJ, Feldman RA. The cohort effects and *Helicobacter pylori*. *J Infect Dis* 1993; 168:219-221.
- 10 Bardhan K, Bayerdörffer E, van Zanten SJ, Lind T, Mégraud F, Delchier JP, Hellblom M, Stubberod A, Burmann CF, Gromark P, Zeijlon L. The HOMER-Study: the effect of increasing the dose of metronidazole when given with omeprazole and amoxicillin to cure *Helicobacter pylori* infection. *Helicobacter* 2000, 4:196-201.
- 11 Bayerdörffer E, Lehn N, Hatz R, Mannes GA, Oertel H, Sauerbruch T, Stolte M. Difference in expression in *Helicobacter pylori* gastritis in antrum and body. *Gastroenterology* 1992; 102:1575 – 1582.
- 12 Bayerdörffer E, Lind T, Dite P, Bardhan KD, O’Morain C, Delchier JC, Spiller R, van Zanten SJ, Sipponen P, Mégraud F, Zeijlon L. Omeprazole, amoxycillin and metronidazole for the cure of *Helicobacter pylori* infection; *Eur J Gastroenterol Hepatol* 1999; 11(Suppl 2):S19-22.

- 13 Bayerdörffer E, Lonovics J, Dite P, Dite U, Kisfalvi I, Mégraud F, Pap A, Siponnen P, Burman CF, Zeijlon L. Efficacy of two different dosage regimens of omeprazole, amoxicillin and metronidazole for cure of *Helicobacter pylori* infection (HERA study) *Aliment Pharmacol Ther* 1999; 13:1639-1645.
- 14 Bayerdörffer E, Mannes GA, Sommer A, Höchter W, Weingart J, Hatz R, Lehn N, Ruckdeschel G, Dirschedl F, Stolte M. High dose omeprazole treatment combined with amoxicillin eradicates *Helicobacter pylori*. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 1992; 4:697-702.
- 15 Bayerdörffer E, Miehke S, Mannes GA, Sommer A, Höchter W, Heldwein W, Weingart J, Klann H, Simon T, Schmitt W, Bästlein E, Eimiller A, Hatz R, Lehn N, Dirschedl P, Stolte M. Double blind trial of 120mg Omeprazole and amoxycillin to cure *Helicobacter pylori* infection in duodenal ulcer patients. *Gastroenterology* 1995; 108:1412-1417.
- 16 Bayerdörffer E, Oertel H, Lehn N, Kaspar G, Sauerbruch T, Stolte M. Topographic association between active gastritis and *Campylobacter pylori*-colonisation. *J Clin Pathol* 1989; 42:834 – 839.
- 17 Bazzoli F, Zagari RM, Fossi P, Pozzato P, Roda A, Roda E. Short-term low dose triple therapy for eradication of *Helicobacter pylori*. *Eur J Gastroentol Hepatol* 1994; 6:773-777.
- 18 Bizzozero G. Über die schlauchförmigen Drüsen des Magen-Darmkanals und die Beziehung ihres Epithels zu dem Oberflächenepithel der Schleimhaut. *Arch Mikr Anat* 1893; 42:82-86.
- 19 Bock H, Koop H, Lehn N, Heep. Rifabutin-based triple therapy after failure of *Helicobacter pylori* eradication treatment: preliminary experience. *J Clin Gastroenterol* 2000; 31: 222-225.
- 20 Borody TJ, Andrews P, Shorties NP et al. Non-ulcer dyspepsia sub-groups and therapy for *Helicobacter pylori*. *Am J Gastorenterol* 1994; 89:1365.
- 21 Borody TJ, Shortis NP, Chongnan J, Reyes E, O'Shea JE. Eradication failure (EF) after *Helicobacter pylori* treatment - further therapies. *Esophageal, Gastric and Duodenal Disorders* 1996; 5:A67.
- 22 Carrick J, Lee A, Hazell S, Ralstrom M, Daskalopoulos G. *Campylobacter pylori*, duodenal ulcer and gastric metaplasia: possible role of functional heterotopic tissue in ulcerogenesis. *Gut* 1989; 30:790 – 797.
- 23 Caspary WF, Arnold R, Bayerdörffer E, Behrens R. et al. Diagnosis and therapy of *Helicobacter pylori* Infection. Guidelines of German Society of Digestive and Metabolic Diseases. Working Group of the German Society of Digestive and Metabolic Diseases. *Leber Magen Darm* 1996; 26:301-309.

- 24 Cederbrant G, Kahlmeter G, Schalén C, Kamme C. Additive effect of clarithromycin with 14-hydroxyclearithromycin, erythromycin, amoxicillin, metronidazole or omeprazole against *Helicobacter pylori*. *J Antimicrob Chemother* 1994; 34:1025-1029.
- 25 Chang K, Wyle F, Skankey J et al. Clarithromycin achieves highest gastric mucosa tissue concentrations among anti-*Helicobacter pylori* antibiotics. *Gastroenterology* 1993; 104:203 – 209.
- 26 Chiba N, Rao BV, Rademaker JW, Hunt RH. Metaanalysis of the efficacy of antibiotic therapy in eradicating *Helicobacter pylori*. *Am J Gastroenterol* 1992; 87:1716–1727.
- 27 Ching CK, Leung KP, Yung RW et al. Prevalence of metronidazole resistant *Helicobacter pylori* strains among Chinese peptic ulcer disease patients and normal controls in Hong Kong. *Gut* 1996; 38: 675-678.
- 28 Cooreman MP, Krausgrill P, Hengels KJ. Local gastric and serum amoxicillin concentrations after different oral application forms. *Antimicrob Agents Chemother* 1993; 37:1506–1509.
- 29 Cover TL, Blaser MJ. Purification and characterization of the vacuolating toxin from *Helicobacter pylori*. *J Biol Chem* 1992; 267:10570–10575.
- 30 Crabtree JE, Covacci A, Famery SM, Ziang Z, Tompkins DS, Perry S et al. *Helicobacter pylori* induced interleukin-8-expression in gastric epithelial cells is associated with CagA positive phenotype. *J Clin Pathol* 1995; 48:41-45.
- 31 Crabtree JE, Farmery SM, Lindley IJD, Figura N, Peichl N, Tompkins DS. CagA/cytotoxic strains of *Helicobacter pylori* and interleukin-8 in gastric epithelial cells. *J Clin Pathol* 1994; 47:945-950.
- 32 Crabtree JE, Peichl P, Wyatt JI, Stachl U, Lindley IJD. Gastric IL-8 and IL-8 IgA autoantibodies in *Helicobacter pylori* infection. *Scand J Immunol.* 1993; 37:65–70.
- 33 Crabtree JE, Taylor ED, Wyatt JI, Healthley RV, Shallcross TM, Tompkins DS et al. Mucosal IgA recognition of *Helicobacter pylori* 120 kDA protein, peptic ulceration, and gastric pathology: *Lancet* 1991; 338:332–335.
- 34 Crabtree JE, Xiang Z, Lindley IJD, Tompkins DS, Rappuoli R, Covacci A. Induction of interleukin-8 secretion from gastric epithelial cells by cagA negative isogenic mutant of *Helicobacter pylori*. *J Clin Pathol* 1995; 48:967–969.
- 35 Craig PM, Territo MC, Karnes WE, Walsh JH. *Helicobacter pylori* secretes a chemotactic factor for monocytes and neutrophils. *Gut* 1992; 33:1020–1023.
- 36 Crowe SE, Alvarez L, Dytoc M, Hunt RH, Müller M, Sherman H et al. Expression of interleukin-8 and CD 45 by human gastric epithelium after *Helicobacter pylori* infection in vitro. *Gastroenterology* 1995; 108:65–74.

- 37 Cullen DJ, Collins BJ, Christiansen KJ, Epis J, Warren JR, Surveyor I, Cullen KJ. When is *Helicobacter pylori* infection acquired? *Gut* 1993; 34:1681–1682.
- 38 De Bernhard M, Papini E, de Filippis V, Gottardi E, Telford J, Mantetti R, Fontana A, Rappuoli R, Montecucco C. Low pH activates the vacuolating toxin of *Helicobacter pylori*, which becomes acid and pepsin resistant. *J Biol Chem* 1995; 270:23937–23940.
- 39 De Boer W, Driessen WMM, Potters VPJ, Tytgat GNJ. Randomized study comparing 1 with 2 weeks of quadruple therapy for eradicating *Helicobacter pylori*. *Am J Gastroenterol* 1994; 89: 1993-1997.
- 40 De Cross AJ, Marshall BJ, McCallum RW, Hoffman SR, Barrett LJ, Guerrant RL. Metronidazole susceptibility testing for *Helicobacter pylori*: comparison of disk and agar dilution methods and their clinical relevance. *J Clin Microbiol* 1993; 31:1971-1974.
- 41 Dill S, Payne-James JJ, Misiewicz JJ, Grimble GK, McSwiggan D, Pathak K, Wood AJ, Scrimgeour CM, Renni MJ. Evaluation of the <sup>13</sup>C-urea breath test in the detection of *Helicobacter pylori* and in monitoring the effect of tripotassium dicitrato bismuthate in non-ulcer dyspepsia. *Gut* 1990; 31:1237.
- 42 Dixon MF, Genta RM, Yardley JH, Correa P et al. Classification and grading of gastritis. The updated Sydney-System. *Am J Surg Pathol* 1996; 20:1161-1181.
- 43 Doenges JL. Spirochaetes in gastric glands of *Macaca rhesus* and humans without definite history of related disease. *Proc Soc Esp Med Biol* 1938; 38:536-538.
- 44 Dore MP, Leandro G, Realdi G, Sepulveda AR, Graham DY. Effect of pretreatment antibiotic resistance to metronidazole and clarithromycin on outcome of *Helicobacter pylori* therapy: a meta-analytical approach. *Dig Dis Sci* 2000; 45:68-76.
- 45 Dore MP, Osato MS, Ralidi G et al. Amoxicillin tolerance in *Helicobacter pylori*. *J Antimicrob Chemother* 1999; 43:47–54.
- 46 Drumm B, Perez-Perez GI, Blaser MJ, Sherman PM. Intrafamilial clustering of *Helicobacter pylori* infection. *N Engl J Med* 1990; 322:359-363.
- 47 Eidt S, Stolte M. Chronische Erosionen der Magenschleimhaut – eine *Helicobacter pylori* assoziierte Läsion. *Verh Dtsch Ges Pathol* 1990; 74:634.
- 48 Elster K. Gastritis, Stadien und Formen. In Demling L, Ottenjann R, Elster K. *Die Gastrobiopsie*. *Ergebn Inn Med* 1968; 27:32–78.
- 49 Eurogast Study Group: Epidemiology of and risk factors for *Helicobacter pylori* infection among 3194 asymptomatic subjects in 17 populations. *Gut* 1993; 34:1672-1676.
- 50 European Study Group on Antibiotic Susceptibility of *Helicobacter pylori*. Results of a multicenter European survey in 1991 of metronidazole resistance in *Helicobacter pylori*. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1992; 11:777-781.

- 51 Evans DG, Evans DJJ, Moulds JJ, Graham DY. N-acetylneuraminylactose-binding fibrillar heamagglutinin of *Campylobacter pylori*: a putative colonization factor antigen. *Infect Immun* 1988; 56:2896–2906.
- 52 Evans DG, Karjalainen TK, Evans DJJ, Graham DY, Lee CH. Cloning, nucleotide sequence, and expression of a gene encoding an adhesin subunit protein of *Helicobacter pylori*. *J Bacteriol* 1993; 175:674-683.
- 53 Fallone CA. Epidemiology of the antibiotic resistance of *Helicobacter pylori* in Canada; *Can J Gastroenterol* 2000; 14:879-882.
- 54 Ferrero RL, Thiberge J-M, Huerre M, Labigne A. Recombinant antigens prepared from the urease subunits of *Helicobacter* spp.: Evidence of protection in a mouse model of gastric infection. *Infect Immun* 1994; 62:4981–4989.
- 55 Figura N, Guglielmetti P, Rossolini A, Barberi A, Gusi G, Musmanno RA et al. Cytotoxin production by *Campylobacter pylori* strains isolated from patients with peptic ulcers and from patients with chronic gastritis only. *J Clin Microbiol* 1989; 27:225–226.
- 56 Freedberg LS, Baron LE. The presence of spirochaetes in human gastric mucosa. *Am J Dig Dis* 1940; 7:443-445.
- 57 Frommer DJ, Carrick J, Lee A, Hazell SL. Acute presentation of *Campylobacter pylori* gastritis. *Am J Gastroenterol* 1988; 83:1592–1595.
- 58 Galpin OP, Whitaker CJ, Dubiel AJ. *Helicobacter pylori* infection and overcrowding in childhood. *Lancet* 1992; 339:619.
- 59 Geis G, Leying H, Suerbaum S, Mai U, Opferkuch W. Ultrastructure and chemical analysis of *Campylobacter pylori* flagella. *J Clin Microbiol* 1990; 28:930–932.
- 60 Geis G, Leying H, Suerbaum S, Opferkuch W. Unusual fatty acid substitution in lipids and lipopolysaccharides of *Helicobacter pylori*. *J Clin Microbiol* 1990; 28:930-932.
- 61 Geis G, Suerbaum S, Forsthoff B, Leying H, Opferkuch W. Ultrastructure and biochemical studies of *Helicobacter pylori* flagellar sheath. *J Med Microbiol* 1993; 38:371–377.
- 62 Gisbert JP, Pajares JM, Valle. Ranitidine bismuth citrate therapy regimes for treatment of *Helicobacter pylori* infection: a review. *Helicobacter* 1999; 4:58-66.
- 63 Glupczynski Y, Labbé M, Hansen W, Crokaert F, Yourassowsky F. Evaluation of the E-test for quantitative antimicrobial susceptibility testing of *Helicobacter pylori*. *J Clin Microbiol* 1991; 29:2072-2075.
- 64 Goddard AF, Jessa MJ, Barret DA et al. Effect of omeprazole on the distribution of antibiotics in gastric juice. *Gastroenterology* 1995; 108:A102.

- 65 Goldmann AF, Zakula D, Flamm R et al. Tight binding of clarithromycin, its 14-(R)-hydroxy metabolite, and erythromycin to *Helicobacter pylori* ribosomes. *Antimicrob Agents Chemother* 1994; 38:1496–1500.
- 66 Goodwin CS, Armstrong JA, Chilvers T et al. Transfer of *Campylobacter pylori* and *Campylobacter mustelae* to *Helicobacter* gen. nov. as *Helicobacter pylori* comb. nov. and *Helicobacter mustelae* comb. nov. respectively. *Int J Syst Bacteriol* 1989; 39:397-405.
- 67 Graham DY, Alpert LC, Smith JL. *Campylobacter pyloridis* is a cause of epidemic achlorhydria. *Am J Gastroenterol* 1988; 83:974–980.
- 68 Graham DY, Hoffmann J, El-Zimaity HMT et al. Twice a day quadruple therapy (bismuth subsalicylate, tetracycline, metronidazole plus lansoprazole) for treatment of *H. pylori* infection. *Aliment Pharmacol Ther* 1997; 11:935-938.
- 69 Graham DY, Lew GM, Malaty HM et al. Factors influencing the eradication of *Helicobacter pylori* with triple therapy. *Gastroenterology* 1992; 102:493-496.
- 70 Graham DY, Saeed MA, Hoffmann J, El-Zimaity HMT, Kwon DH, Osato MS. Nitrofurantoin quadruple therapy for *Helicobacter pylori* infection: effect of metronidazole resistance. *Aliment Pharmacol Ther* 2001; 15:513-518.
- 71 Grayson ML, Eliopoulos GM, Ferraro MJ, Moellering RC Jr. Effect of varying pH on the susceptibility of *Campylobacter pylori* to antimicrobial agents. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1989; 8:888-889.
- 72 Gustavson LE, Kaiser JF, Edmonds AL et al. Effect of omeprazole on concentration of clarithromycin in plasma and gastric tissue at steady state. *Antimicrob Agents Chemother* 1995; 39:2078-2087.
- 73 Hammar M, Tyskiewicz T, Wadström T, O'Toole PW. Rapid detection of *Helicobacter pylori* in gastric biopsy material by polymerase chain reaction. *J Clin Microbiol* 1992; 30:54.
- 74 Hazell SL, Evans DJJ, Graham DY. *Helicobacter pylori* catalase. *J Gen Microbiol* 1991; 137:57–61.
- 75 Hazell SL, Lee A, Brady L, Hennessy W. *Campylobacter pyloridis* and gastritis: association with intercellular spaces and adaptation to an environment of mucus as important factors in colonization of the gastric epithelium. *J Infect Dis* 1986; 153:658–663.
- 76 Heep M, Beck D, Bayerdörffer E, Lehn N. Rifampicin and rifabutin resistance mechanism in *Helicobacter pylori*. *Antimicrob Agents Chemother* 1999; 43:1497–1499.

- 77 Heep M, Kist M, Strobel S, Beck D, Lehn N. Secondary resistance among 554 isolates of *Helicobacter pylori* after failure of therapy; *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2000; 19:538-541.
- 78 Heilmann KL, Stolte M, Borchard F et al. Gastritis-Graduierung und Klassifikation. *Pathologe* 1989; 10:194–196.
- 79 Hentschel E, Brandstätter G, Dragosics B et al. Effect of ranitidine and amoxicillin plus metronidazole on the eradication of *Helicobacter pylori* and the recurrence of duodenal ulcer. *N Engl J Med* 1993; 28:308-312.
- 80 Hyams KC, Taylor DN, Gray GC, Knowles JB, Hawkins R, Malone JD. The risk of *Helicobacter pylori* infection among U.S. military personnel deployed outside the United States. *Am J Trop Med Hyg* 1995; 52:109–112.
- 81 International Agency for Research on Cancer: Schistosomes, liver flukes and *Helicobacter pylori*. IARC monographs on the evaluation of the carcinogenic risks to humans. Geneva: WHO publications 1994; 61:177–240.
- 82 Jablonowski H, Hengels KJ, Kraemer N, Geis G, Opferkuch W, Strohmeyer G. Effects of *Helicobacter pylori* on histamin and carbachol stimulated acid secretion by human parietal cells. *Gut* 1994; 35:755–757.
- 83 Jaup B. Dual „rescue“ therapy for eradication of *H. pylori* in previous triple therapy failure. *GUT* 1999; 45(Supl III):A118.
- 84 Jorgensen M, Daskalopoulos G, Warburton V, Mitchell HM, Hazell SL. Multiple strain colonization and metronidazole resistance in *Helicobacter pylori* infected patients; identification from sequential and multi biopsy specimens. *J Infect Dis* 1996; 174:631–635.
- 85 Kalach N, Bergeret M, Benhamou PH, Dupont C, Raymond J. High levels of resistance to metronidazole and clarithromycin in *Helicobacter* strains in children. *J Clin Microbiol* 2001; 39:394-397.
- 86 Katelaris PH, Adamthewaite D, Midolo P, Yeomans ND, Davidson G, Lambert J. Randomized trial of omeprazole and metronidazole with amoxicillin or clarithromycin for *Helicobacter pylori* eradication, in a region of high primary metronidazole resistance: the HERO study. *Aliment Pharmacol Ther* 2000; 14:751-758.
- 87 Katelaris PH, Nguyen TV, Robertson GJ, Bradbury R, Ngu MC. Prevalence and demographic determinants of metronidazole resistance by *Helicobacter pylori* in a large cosmopolitan cohort of Australian dyspeptic patients. *Austr N Z J Med* 1998; 28: 633-638.

- 88 Kato M, Yamoka Y, Kim JJ, Reddy R, Asaka M, Kashima K, Osato MS, El-Zaatari FA, Graham DY, Kwon DH: Regional differences in metronidazole resistance and increasing clarithromycin resistance among *Helicobacter pylori* isolates from Japan. *Antimicrob Agents Chemother* 2000; 44:2214-2216.
- 89 Klein PD, Graham DY, Gaillour A, Opekun AR, Smith EO. Water source as risk factor for *Helicobacter pylori* infection in Peruvian children. *Gastrointestinal Physiology Working Group. Lancet* 1991; 337:1503–1506.
- 90 Klinkenberg-Knol EC, Festen HPM, Jansen JBMJ, Lamers CBHW, Nelis F, Snel P, Lückers A, Dekkers CPM, Havu M, Meuwissen SGM. Long-term treatment with Omeprazole for refractory reflux esophagitis: efficacy and safety. *Ann Intern Med* 1994; 121:161-167.
- 91 Knipp U, Birkholz S, Kaup W, Mahnke K, Opferkuch W. Suppression of human mononuclear cell response by *Helicobacter pylori*: Effects on isolated monocytes and lymphocytes. *FEMS Immunol Med Microbiol* 1994; 8:137–166.
- 92 Knipp U, Birkholz S, Kaup W, Opferkuch W. Immune suppressive effects of *Helicobacter pylori* on human peripheral blood mononuclear cells. *Med Microbiol Immunol Ber* 1993; 182:63–76.
- 93 Koelz HR, Beglinger C, Inauen W, et al. Double-blind comparison of three different amoxicillin plus omeprazole regimes for eradication of *Helicobacter pylori* in patients with peptic ulcer. *Gastroenterology* 1995; 108:A133.
- 94 Konjetzny GE. Die Entzündung des Magens. In Henke F, Lubarsch O (Hrsg.): *Handbuch der speziellen pathologischen Anatomie und Histologie*. Bd. 4/2. Springer, Berlin 1928.
- 95 Kuipers EJ, Pena AS, van Kamp G, Uytendiele AM, Pals G, Pels NF, Pohlmann K, Meuwissen SG. Seroconversion for *Helicobacter pylori*. *Lancet* 1993; 342:328–331.
- 96 Kunin CM. Antimicrobial activity of rifabutin. *Clin Infect Dis* 1996; 22(suppl 1):S3-S13.
- 97 Labenz J. *Helicobacter pylori*-Therapie mit Omeprazol und Clarithromycin: Heutiger Stand. *Leber Magen Darm* 1994; 24:203-209.
- 98 Labenz J, Gynes G, Rühl GH, Weczorek M, Hluchy J, Börsch G. Ist die *Helicobacter pylori* Gastritis eine makroskopische Diagnose? *Dtsch Med Wochenschrift* 1993; 118:176-180.
- 99 Labenz J, Leverkus F, Börsch G. Omeprazol plus amoxicillin for cure of *Helicobacter pylori* infection: Factors governing the treatment success. *Scand J Gastroenterol* 1994; 29: 1070-1075.
- 100 Labenz J, Malfertheiner P. *Helicobacter pylori* in gastro-oesophageal reflux disease: causal agent, independent or protective factor? *Gut* 1997; 41:277–280.

- 101 Labenz J, O'Morain C. Eradication. *Curr Opin Gastroenterol* 1995; 11(Suppl 1):47-51.
- 102 Labenz J, Rühl GH, Bertrams J, Börsch G. Medium- or high dose omeprazole plus amoxicillin eradicates *Helicobacter pylori* in gastric ulcer disease. *Am J Gastroenterol* 1994; 89:726-730.
- 103 Labenz J, Stolte M, Domian C et al. High-dose omeprazole plus amoxicillin or clarithromycin cures *Helicobacter pylori* infection in duodenal ulcer disease. *Digestion* 1994; 56:14-20.
- 104 Labenz J, Stolte M, Rühl GH, Becker T, Tillenburg B, Sollböhmer M, Börsch G. One week low-dose triple therapy for the eradication of *Helicobacter pylori* infection. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 1995; 7:9-11.
- 105 Lerang F, Moum B, Haug JB, Tolas P, Breder O, Aubert E, Hoie O, Sodberg T, Flaaten B, Farup P, Berge T. Highly effective twice-daily triple therapies for *Helicobacter pylori* infection and peptic ulcer disease: does in vitro metronidazole resistance have any clinical relevance? *Am J Gastroenterol* 1997; 92:248-253.
- 106 Leunk RD, Johnson PT, David BC, Kraft WG, Morgan DR. Cytotoxic activity in broth-culture filtrates of *Campylobacter pylori*. *J Med Microbiol* 1988; 26:93-99.
- 107 Leyer H, Suerbaum S, Geis G, Haas R. Cloning and genetic characterization of a *Helicobacter pylori* flagellin gene. *Mol Microbiol* 1992; 6:2863-2874.
- 108 Lim SK, Lambert JR, Schembri MA, Nicholson L, Korman MG. *Helicobacter pylori* prevalence in endoscopy and medical staff. *J Gastroenterol Hepatol* 1994; 9:319-324.
- 109 Lind T, Mégraud F, Unge P, Bayerdörffer E, O'Morain C, Spiller R, van Zanten SJO, Bardhan KD, Hellblom M, Wrangstadh M, Zeijlon L, Cederberg C. The MACH2 study: the role of omeprazole in eradication of *Helicobacter pylori* with one week triple therapies. *Gastroenterology* 1999; 116:248-253.
- 110 Lind T, van Zanten SJO, Unge P, Spiller R, Bayerdörffer E, O'Morain C, Wrangstadh M, Idström JP. Eradication of *Helicobacter pylori* using one week triple therapies combining omeprazole with two antimicrobials: the MACH1 study. *Helicobacter* 1996; 1:138-144.
- 111 Lingwood CA, Wasfy G, Han H, Huesca M. Receptor affinity purification of a lipid-binding adhaesin from *Helicobacter pylori*. *Infect Immun* 1993; 61:2474-2478.
- 112 Logan RPH, Walker MM, Misiewicz JJ et al. Changes in the intragastric distribution of *Helicobacter pylori* during treatment with omeprazole. *Gut* 1995; 36:12-16.
- 113 Mai UEH, Perez-Perez GI, Allen JB, Wahl SM, Blaser MJ, Smith PD. Surface proteins from *Helicobacter pylori* exhibit chemotactic activity for human leukocytes and are present in gastric mucosa. *J Exp Med* 1992; 175:517-525.

- 114 Malfertheiner P, Bayerdörffer E, Diете U, Gil J, Lind T, Misiuna P, O'Morain C, Sipponen P, Spiller R, Stasiewicz J, Treichel H, Unge P, van Zanten SJO, Zeijlon L. The GU-MACH study: the effect of 1-week omeprazole triple therapy on *Helicobacter pylori* infection in patients with gastric ulcer. *Aliment Pharmacol Ther* 1999; 13:703-712.
- 115 Malfertheiner P, Dominguez-Munoz JE, Heller J, Sauerbruch T. Clarithromycin versus amoxicillin in a dual high-dose omeprazole-based regimen for *H. pylori* eradication. *Gastroenterology* 1995; 108:A156.
- 116 Malfertheiner P, Megraud F, O'Morain C, Bell D, Bianchi Porro G, Deltenre M, Forman D, Gasbarrini G, Jaup B, Misiewicz JJ, Pajares J, Quina M, Rauws E for the European *Helicobacter pylori* Study Group. Current European concepts in the management of *Helicobacter pylori* infection - the Maastricht Consensus Report. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 1997; 9:1-2.
- 117 Marshall B, Armstrong JJA, McGeachie DB, Glancy RJ. Attempt to fulfill Koch's postulates for pyloric *Campylobacter*. *Med J Aust* 1985; 142:429-436.
- 118 McCarthy C, Patchett S, Collins RM et al. Long term prospective study of *Helicobacter pylori* in nonulcer dyspepsia. *Dig Dis Sci* 1995; 40:114-119.
- 119 McHenry L Jr, Vuyuru L, Schubert ML. *Helicobacter pylori* and duodenal ulcer disease: the somatostatin link? *Gastroenterology* 1993; 104:1573-1575.
- 120 Megraud F. Epidemiology of *Helicobacter pylori* infection. *Gastroenterol Clin North Am* 1993; 22:73-88.
- 121 Mégraud F. *H. pylori* resistance to antibiotics. In: Hunt RH, Tytgat GNJ (eds.) *Helicobacter pylori. Basic Mechanisms to Clinical Cure*. Dordrecht, Boston, London: Kluwer Academic Publishers 1994; pp570-583.
- 122 Mégraud F. Resistance of *Helicobacter pylori* to antibiotics. *Aliment Pharmacol Ther* 1997; 11:43-53.
- 123 Mégraud F, Nerman Simba V, Brugmann D. Further evidence of the toxic effect of ammonia produced by *Helicobacter pylori* urease on human epithelial cells. *Infect Immun* 1992; 60:1858-1863.
- 124 Miehke S, Kirsch C, Ochsenkühn T, Vieth M, Haferland C, Papke J, Neumeyer M, Ziegler K, Jacobs E, Lehn N, Stolte M, Bayerdörffer E. High-dose omeprazole/amoxicillin combination therapy versus quadruple therapy against *Helicobacter pylori* resistant against both metronidazole and clarithromycin – a prospective randomised cross-over study. *Gut* 2000; 47(Suppl1):A99.

- 125 Miehke S, Mannes GA, Lehn N, Bayerdörffer E, Hele C, Stolte M. An increasing dose of omeprazole combined with amoxicillin cures *Helicobacter pylori* infection more effectively. *Aliment Pharmacol Ther* 1997; 11:323-329.
- 126 Miehke S, Meining A, Lehn N, Höchter W, Weingart J, Simon T, Krämer W, Klann H, Bolle K, Sommer A, Stolte M, Bayerdörffer E. Comparison of omeprazole, metronidazole and clarithromycin with omeprazole/amoxicillin dual therapy for the cure of *Helicobacter pylori* infection. *Digestion* 1998; 59:646-650.
- 127 Misiewicz JJ, Harris AW, Bardhan KD et al. One week triple therapy for *Helicobacter pylori*: a multicentre comparative study. *Gut* 1997; 41:735–739.
- 128 Mitchell HM, Bohane T, Hawkes RA, Lee A. *Helicobacter pylori* infection within families. *Int J Med Microbiol Virol Parasitol Infect Dis* 1993; 280:128–136.
- 129 Mobley HLT, Island MD, Hausinger RP. Molecular biology of microbial ureases. *Microbiol Rev* 1995; 59:451-480.
- 130 Morgner A, Bayerdörffer E, Neubauer A, Thiede C, Lehn N, Seifert E, Chalybäus C, Frevel M, Sommer A, Schulz H, Merkt J, Stolte M. Remission of primary gastric low-grade MALT lymphoma after cure of *Helicobacter pylori* infection - German MALT lymphoma trial. *Gastroenterology* 1997; 112:A618.
- 131 Morris AJ, Nicholson G. Ingestion of *Campylobacter pyloridis* causes gastritis and raised fasting gastric pH. *Am J Gastroenterol* 1987; 82:192-199.
- 132 Nielsen H, Andersen LP. Activation of human phagocytic oxidative metabolism by *Helicobacter pylori*. *Gastroenterology* 1992; 103:1747–1753.
- 133 Nielsen H, Birkholz S, Andersen LP, Moran AP. Neutrophil activation by *Helicobacter pylori* lipopolysaccharide. *J Infect Dis* 1994; 170:135–139.
- 134 NIH Consensus Conference: *Helicobacter pylori* in peptic ulcer disease. *JAMA* 1994; 272:65-69.
- 135 Noach LA, Bosma NB, Jansen J, Hoek FJ, van Deventer SJ, Tytgat GNJ. Mucosal tumor necrosis factor alpha, Interleukin-1 beta, and interleukin-8 production in patients with *Helicobacter pylori* infection. *Scand J Gastroenterol* 1994; 29:425–429.
- 136 Norgaard A, Andersen LP, Nielsen H. Neutrophil degranulation by *Helicobacter* proteins. *Gut* 1995; 36:345–357.
- 137 O'Garra A, K Murphy. Role of cytokines in determining T-lymphocyte function. *Curr Opin Immunol* 1994; 64:458–466.
- 138 Osato MS, Reddy R, Graham DY. Metronidazole and clarithromycin resistance among *Helicobacter pylori* isolates from a large metropolitan hospital in the United States. *Int J Antimicrob Agents* 1999; 12: 341-347.

- 139 Osato MS, Reddy SG, Piergies AA, Bochenek WJ, Testa RT, Graham DY. Comparative efficacy of a new investigational agents against *Helicobacter pylori*. *Aliment Pharmacol Ther* 2001; 15:487-492.
- 140 Owen RJ, Bell GD, Desai M, Moreno M, Gant PW, Jones PH, Linton D. Biotype and molecular fingerprints of metronidazole-resistant strains of *Helicobacter pylori* from antral gastric mucosa; *J Med Microbiol* 1993; 38:6-12.
- 141 Parsonnet J, Friedman GD, Vanderstee DP, Chan Y, Vogelmann JH, Orentreich H, Sibley R. *Helicobacter pylori* infection and the risk of gastric carcinoma. *N Engl J Med* 1991; 325:1127–1131.
- 142 Parsonnet J, Shemueli H, Haggerty T. Fecal and oral shedding of *Helicobacter pylori* from healthy infected adults. *JAMA* 1999; 282:2240–2245.
- 143 Patel P, Mendall MA, Khulusi S, Molineaux N, Levy J, Maxwell JD, Northfield TC. Salivary antibodies to *Helicobacter pylori*: screening dyspeptic patients before endoscopy. *Lancet* 1994; 344:511–512.
- 144 Patel P, Mendall MA, Khulusi S, Northfield TC, Stachan DP. *Helicobacter pylori* infection in Childhood: Risk factors and effect on growth. *Br Med J* 1994; 309:1119–1123.
- 145 Pavcic MJA, Namavar F, Verboom T et al. In vitro susceptibility of *Helicobacter pylori* to several antimicrobial combinations. *Antimicrob Agents Chemother* 1993; 37:1184–1186
- 146 Peitz U, Hackelsberger A, Malfertheimer P. A practical approach to patients with refractory *Helicobacter pylori* infection, or who are re-infected after standard therapy. *Drugs* 1999; 57:905-920.
- 147 Peitz U, Nusch A, Tillenburg B, Starke T, Stolte M, Börsch G, Labenz J. Impact of treatment duration and metronidazole resistance on *H. pylori* cure with omeprazole, metronidazole, and clarithromycin. *Gastroenterology* 1997; 112:A255.
- 148 Perri F, Festa V, Andriulli A. Treatment of antibiotic-resistant *Helicobacter pylori*. *N Engl J Med* 1998; 339:53.
- 149 Perri F, Festa V, Clemente R, Quitadamo M, Andriulli A: Rifabutin-based „Rescue-Therapy“ for *Helicobacter pylori* infected patients after failure of standard regimes. *Aliment Pharmacol Ther* 2000; 14:311-316.
- 150 Perri F, Festa V, Clemente R, Villani MR, Quitadamo M, Caruso N, Bergoli ML, Andriulli A. Randomized study of two „rescue“ therapies for *Helicobacter pylori*-infected patients after failure of standard triple therapies. *Am J Gastroenterol* 2001; 96:58-62.
- 151 Piccolomini R, Di Bonaventura G, Picciani C, Laterza F, Vecchiet J, Nerri M. In vitro activity of clarithromycin against Intracellular *Helicobacter pylori*; *Antibicrob Agents Chemother* 2001; 45:1568-1571.

- 152 Pilotto A, Franceschi M, Rasso M, Leandro G, Bozzola L, Furlan F, Di Mario F. Incidence of secondary *Helicobacter pylori* resistance to antibiotics in treatment failures after 1-week proton pump inhibitor-based triple therapies: a prospective study. *Dig Liver Dis* 2000; 32:673-675.
- 153 Pilotto A, Rasso M, Leandro G, Franceschi M, Di Mario F. Prevalence of *Helicobacter pylori* resistance to antibiotics in Northeast Italy: a multicenter study. GISU. Interdisciplinary Group for the Study of Ulcer. *Dig Liver Dis* 2000; 32:763-768.
- 154 Price AB. The Sidney System: Histological division. *J Gastroenterol Hepatol* 1991; 6:209–222.
- 155 Rautelin H, Wee T, Seppälä K, Kosunen TU. Ribotyping pattern and emergence of metronidazole resistance in paired clinical samples of *Helicobacter pylori*. *J Clin Microbiol* 1994; 32:1079-1082.
- 156 Rothenbacher D, Bode G, Berg G, Knayer U, Gonser T, Adler G, Brenner H. *Helicobacter pylori* among preschool children and their parents; evidence of parent-child transmission. *J Infect Dis* 1999; 179:398-402.
- 157 Salmeron M, Desplaces N, Lavergne A, Houdart R. Campylobacter-like organisms and acute purulent gastritis. *Lancet* 1986; II:975–976.
- 158 Schindler, R. Gastritis. Heinemann, London 1947.
- 159 Schmitt W, Haas R. Genetic analysis of the *Helicobacter pylori* vacuolating cytotoxin: structural similarities with the IgA protease type of exported protein. *Mol Microbiol* 1994;12:307–319.
- 160 Segal ED, Shon J, Tomkins LS. Characterization of *Helicobacter pylori* urease mutants. *Infect Immun* 1992; 60:1883–1889.
- 161 Sieber CC, Frei R, Beglinger C et al. Resistenz von *Helicobacter pylori* gegen Metronidazol in der Schweiz. Implikation für die Eradikationstherapie? *Schweiz Med Wochenschrift* 1994; 124:1381–1384.
- 162 Sipponen P, Helske T, Jarvinen P, Hyvarinen H, Seppälä K, Siurala M. Fall in the prevalence of chronic gastritis over 15 years: analysis of a outpatient series in Finland from 1977, 1985 and 1992. *Gut* 1994; 35:1167–1171.
- 163 Sipponen P, Varis K, Fraki O, Korri UM, Seppälä K, Siurala M. Cumulative 10-year risk of symptomatic duodenal and gastric ulcer in patients with and without gastritis: a clinical follow-up of 454 patients. *Scand J Gastroenterol* 1990; 25:966-973.
- 164 Sitas F, Forman D, Yarnell JW, Burr ML, Ehwood PC, Edlwy S, Marks KJ. *Helicobacter pylori* infection rates in relation to age and social class in a population of Welsh men. *Gut* 1991; 32:25-28.

- 165 Solnick JV, Josenhans C, Suerbaum S, Tompkins LS, Labigne A. Construction and characterization of an isogenic urease-negative mutant of *Helicobacter mustelae*. *Infect Immun* 1995; 63:3718–3721.
- 166 Sonnenberg A, Townsend WF. Costs of duodenal ulcer therapy with antibiotics. *Arch Intern Med* 1995; 155:922–928.
- 167 Spiegelhalder C, Gerstenecker B, Kersten A, Schiltz E, Kist M. Purification of *Helicobacter pylori* superoxide dismutase and cloning and sequencing of the gene. *Infect Immun* 1993; 61:5315–5325.
- 168 Stadelmann O. *Helicobacter pylori*: Indikationen und Praxis der Therapie. *Deutsches Ärzteblatt* 1995; 92:A2567–A2569.
- 169 Stadelmann O, Elster K, Stolte M, Miederer SE, Deyhle P, Demling I, Siegenthaler H. The peptic gastric ulcer - histo-topographic and functional investigations. *Scand J Gastroenterol* 1971; 6:613–623.
- 170 Steer HW, Colin-Jones DG. Mucosal changes in gastric ulceration and their response to carbenoxolone sodium. *Gut* 1975; 16:3718–3722.
- 171 Stolte M, Bethke B, Blum AL, Sulser E, Stadelmann O. Antacid treatment has a deleterious effect on the severity and activity of gastritis of the corpus mucosa. *Irish J Med Sci* 1992; 16(Suppl 10):6.
- 172 Stolte M, Eidt S, Ohnsmann M. Differences in *Helicobacter pylori* associated gastritis in the antrum and body of the stomach. *Z Gastroenterol* 1990; 28:229–233.
- 173 Stolte M, Eidt S, Ritter M, Bethke B. *Campylobacter pylori* und Gastritis: Assoziation oder Induktion? *Pathologe* 1989; 10:21–26.
- 174 Stolte M, Stadelmann O, Bethke B, Burkard G. Relationship between the degree of *Helicobacter pylori* colonisation and the degree and activity of gastritis, surface epithelial degeneration and mucus secretion. *Z Gastroenterol* 1995; 33:89–93.
- 175 Strickland RG, Mackay IR. A reappraisal of the nature and significance of chronic atrophic gastritis. *Dig Dis Sci* 1973; 18:426–440.
- 176 Sumii M, Sumii K, Tari A, Kawaguchi K, Yamamoto G, Fukino Y, Kamiasy T, Hamada M, Tsuda T, Yoshibara M et al. Expression of antral gastrin and somatostatin mRNA in *Helicobacter pylori* infected subjects. *Am J Gastroenterol* 1994; 89:1515–1519.
- 177 Telford JL, Ghiara P, Dell'Orco M, Comanducci M, Burroni D, Bugnoli M et al. Gene structure of the *Helicobacter pylori* cytotoxin and evidence of its key role in gastric disease. *J Exp Med* 1994; 179:1653–1658.
- 178 Tillenburg B, Siehoff S, Becker T, Peitz U, Labenz J. Primäre Resistenz von *Helicobacter pylori* in Deutschland. *Z Gastroenterol* 1997; 35:165–169.

- 179 Trespi E, Broglia F, Villani L et al. Distinct profiles of gastritis in dyspepsia subgroup. The different clinical responses to gastritis healing after *Helicobacter pylori* eradication. *Scand J Gastroenterol* 1994; 29:884–888.
- 180 Triebeling AT, Korsten MA, Dlugosz JW, Paronetto F, Lieber C. Severity of *Helicobacter*-induced gastric injury correlates with gastric juice ammonia. *Dig Dis Sci* 1991; 36:1089–1096.
- 181 Unge P. What other regimes are under investigation to treat *Helicobacter pylori* infection? *Gastroenterology* 1997; 113:S131-S148.
- 182 Unge P, Gad A, Eriksson K et al. Amoxicillin added to omeprazole prevents relapse in the treatment of duodenal ulcer patients. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 1993; 5:325–331.
- 183 Vaira D, Holton J, Cirns S, Polydorou A, Falzon M, Dowsett J, Salomon PR. Urease tests for *Campylobacter pylori*: Care interpretation. *J Clin Pathol* 1988; 41:812-813.
- 184 Vaira D, Holton J, Menegatti M, Ricci C, Landl, Ali A, Gatta L, Acciradi C, Farinelli S, Crosatti M, Geradi S, Miglioli M. New immunological assays for the diagnosis of *Helicobacter pylori* infection. *Gut* 1999; 45(Suppl 1):123–127.
- 185 Vaira D, Malfertheimer P, Mégraud F, Axon AT, Deltenre M, Hirschl AM, Gasbarrini G, O`Morain C, Garcia JM, Quina M et al. Diagnosis of *Helicobacter pylori* infection with a new non-invasive antigen based assay. HpSA European study group. *Lancet* 1999; 354:30–33.
- 186 Van der Hulst RWM, Keller JJ, Rauws EAJ, Tytgat GNJ. Treatment of *H. pylori*-infection: a review of the world literature. *Helicobacter* 1996; 1:6-9.
- 187 Veldhuyzen van Zanten S, Lauritsen K, Delchier JC, Labenz J, De Argliia CM, Lind T, Treichel HC, Stubberod A, Cockeram A, Hasselgren G, Grothe L, Wrangstadh M, Sinclair P. One-week triple therapy with esomeprazole provides effective eradication of *Helicobacter pylori* in duodenal ulcer disease. *Aliment Pharmacol Ther* 2000; 14:1605-1610.
- 188 Verdú E, Viani F, Armstrong D et al. Effects of omeprazole on intragastric bacterial counts, nitrates, nitrites, and N-nitroso compounds. *Gut* 1994; 35:455-460.
- 189 Vincent P, Gottrand F, Pernes P, Husson MO, Lecomte Houcke M, Turck D, Ledere H. High prevalence of *Helicobacter pylori* infection in cohabiting children. Epidemiology of a cluster, with special emphasis on molecular typing. *Gut* 1994; 35:313–316.
- 190 Vogt K, Hahn H. Influence of omeprazole on urease activity of *Helicobacter pylori* in vitro. *Zbl Bakt* 1993; 280:273-278.
- 191 Warren JR, Marshall BJ. Unidentified curved bacilli on gastric epithelium in active chronic gastritis. *Lancet* 1983; 1:1273-1275.

- 192 Webb PM, Knight T, Greavers S, Wilson A, Newell DG, Elder J, Forman D. Relation between infection with *Helicobacter pylori* and living conditions in childhood: evidence for person to person transmission in early life. *Br Med J* 1994; 308:750–753.
- 193 Weel JFL, van der Hulst RWM, Gerrits Y, Tytgat GNJ, van der Ende A, Dankert J. Heterogeneity in susceptibility to metronidazole among *Helicobacter pylori* isolates from patients with gastritis or peptic ulcer disease. *J Clin Microbiol* 1996; 34:2158–2162.
- 194 Wilhoite SL, Ferguson DAJ, Soike DR, Kalbfleisch JH, Thomas E. Increased prevalence of *Helicobacter pylori* antibodies among nurses. *Arch Intern Med* 1993; 153:708-712.
- 195 Wong BC, Wong WM, Wang WH, Fung FM, Lai KC, Chu KM et al. One week ranitidine bismuth citrat-based triple therapy for the eradication of *Helicobacter pylori* in Hong Kong with high prevalence of metronidazole resistance. *Aliment Pharmacol Ther* 2001; 15:403-409.
- 196 Wyatt JI, Dixon MF. Chronic gastritis – a pathogenetic approach. *J Pathol* 1988; 154:113–124.
- 197 Wyatt JI, Rathbone BJ. Immune response of gastric mucosa to *Campylobacter pylori*. *Scand J Gastroenterol* 1988; 23:44–49.
- 198 Wyatt JI, Rathbone BJ, Sobola GM, Shalleross T, Heatley RI, Axon ATR. Gastric epithelium in the duodenum: its association with *Helicobacter pylori* and inflammation. *J Clin Pathol* 1990; 43:981-986.
- 199 Xia HH, Kalentar J, Talley NJ. Metronidazole- and clarithromycin-resistant *Helicobacter pylori* in dyspeptic patients in western Sydney as determined by testing multiple isolates from different gastric sites. *J Gastroenterol Hepatol* 1998; 13:1044-1049.
- 200 Xia HX, Keane CT, O'Morain CA. Prevalence and stability of clarithromycin resistance in *Helicobacter pylori*: clinical implications. *Am J Gastroenterol* 1994; 89:1391-1393.
- 201 Xia HX, Windle HJ, Marshall DG et al. Recrudescence of *Helicobacter pylori* after apparently successful eradication: novel application of randomly amplified polymorphic DNA-fingerprinting. *Gut* 1995; 37:30-34.
- 202 Yoshida N, Granger DN, Evans DJ, Evans DG, Graham DY, Anderson DC et al. Mechanisms involved in *Helicobacter pylori*-induced inflammation. *Gastroenterology* 1993; 105:1431–1440.
- 203 Yu JK, Goodwin K, Cooper M, Robinson J. Intracellular vacuolization caused by the urease of *Helicobacter pylori*. *J Infect Dis* 1990; 161:1302–1304.

## **8. DANKSAGUNG**

Ich danke Herrn Prof. Dr. E. Bayerdörffer für seine geduldige Betreuung meiner Arbeit und für die Gelegenheit an vorliegender Therapiestudie mitarbeiten zu können.

Mein besonderer Dank gilt den ärztlichen Kollegen aus dem Einsenderkreis des Instituts für Medizinische Mikrobiologie des Universitätsklinikums Regensburg und des Instituts für Mikrobiologie des Universitätsklinikums der Technischen Universität Dresden, die Biopsate von Therapie-resistenten Patienten eingeschickt haben und so diese Therapie-Studie ermöglicht haben.

Mein Dank gilt auch Herrn Prof. Dr. N. Lehn für seine Hilfestellung in der Beantwortung von Fragen aus dem mikrobiologischen Gebiet.

Mein ganz besonderer Dank gilt allen Schwestern und Pflegern sowie den technischen Assistent(inn)en für ihre wertvolle Arbeit bei den endoskopischen und mikrobiologischen Untersuchungen.

## 9. LEBENS LAUF / ANNETT I. KROETTINGER MD, MPH

**Adresse:** Werinherstr. 16, 83700 Rottach-Egern  
**Telefon:** home: (08022) 26045, Handy: (0177) 651 4775  
**E-Mail:** annett\_kroettinger@im.post.harvard.edu  
**Geburtsdatum:** 17.03.67, Hamburg

### BERUFSERFAHRUNG

- 06/01-heute **KROETTINGER CONSULTING, München**  
**Selbstständige Tätigkeit**
- Strategische Beratung von Medizin-Produkte-Herstellern, insbesondere Bereich der Telemedizin
  - Medizinische Beratung von Firmen im Gesundheitswesen
- 11/00-06/01 **CLINIC NET AG, München**  
**Business Development**
- Definition Software-Produktpalette und Geschäftsstrategie
  - Betreuung von Investoren, Partnern, und Kunden
- 10/98-11/00 **McKINSEY&COMPANY, München**  
**Beraterin**
- Entwicklung und Implementierung von Turnaround- Programmen für eine deutsche Krankenversicherung und Krankenhäuser
  - Unterstützung von Start-Up Unternehmen
  - Entwicklung von Produkt- und Marktstrategien
- 06/93 - 08/93 **ILAC PUBLIC HEALTH PROGRAM, Santiago, Domin. Rep.**  
**Foreign Service Delegate**
- Aufbau einer Klinik zur Behandlung medizinischer Probleme
  - Implementierung von Gesundheitserhaltungsprogrammen
- 06/92 - 08/92 **SANKT MARIEN WOERTH KRANKENHAUS, Bad Kreuznach**  
**Nurse's Aid**
- 06/91 - 08/91 **TOP ZEITARBEIT, Hamburg**  
**Health Care Aid**
- 08/86 - 05/90 **WALDORF CHILD CARE PROGRAMM, Sacramento, USA**  
**Gründerin und Leiterin**
- Aufbau des nachschulischen Betreuungsprogramms
  - Treffen operativer, finanzieller und personeller Entscheidungen

**AUSBILDUNG**

- 08/97 - 05/98 **HARVARD UNIVERSITY, SCHOOL OF PUBLIC HEALTH**, Boston, USA  
**M.P.H., „Master of Public Health” - Healthcare Management**  
 · Schwerpunkt Management im Gesundheitswesen und internationale Gesundheitssysteme
- 06/94 - 06/97 **CREIGHTON UNIVERSITÄT**, Omaha, USA  
**Facharzt Innere Medizin, „Board Certified”**  
 · Betreuung von ambulanten und stationären Patienten aus den unterschiedlichen Fachbereichen der Inneren Medizin  
 · Organisation und Präsentationen von/auf Konferenzen
- 08/90 - 05/94 **CREIGHTON UNIVERSITY, SCHOOL OF MEDICINE**, Omaha, USA  
**M.D., „Doctor of Medicine”**  
 · Auszeichnung für „outstanding performance“ in Allgemeinmedizin  
 · „Medical Dean’s“ Forschungsstipendium  
 · Forschungsarbeit *“Effects of Substance P on Superoxide Anion Release from Eosinophils of Allergic Subjects”*, American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine, Vol.153, No. 4, April 1996, A201.
- 08/86 - 06/90 **SACRAMENTO STATE UNIVERSITY**, Sacramento, USA  
**B.A., Biologie**  
 · „Dean’s List”;  
 · „Golden Key National Honor Society Mitglied ”
- 08/85 - 06/86 **RUDOLF STEINER SCHULE**, Hamburg  
**Abitur: Biologie, Englisch**
- 10/82 - 05/85 **SACRAMENTO WALDORF SCHOOL**, Sacramento, USA  
**High School Degree**

**KENNTNISSE**

**Sprachen:** Fließend in Wort und Schrift – English, Deutsch  
 Grundkenntnisse - Spanisch  
**Computer:** Word, PowerPoint, Excel, Access, SPSS, Internet