

## 6 ZUSAMMENFASSUNG

*H. pylori* ist ein humanpathogenes Bakterium, das ursächlich an der Genese der chronischen Gastritis und des peptischen Ulkus beteiligt ist. Der Übertragungsmodus des Erregers ist nicht ausreichend aufgeklärt. Deshalb sollte in der vorliegenden Arbeit experimentell geklärt werden, ob Küken und Hühner sich infizieren lassen und als Infektionsquelle für den Menschen in Frage kommen.

Die Untersuchungen wurden an aussortierten, männlichen Küken und Hennen einer Legehennenhybridelinie am Ende der Legeperiode durchgeführt. Dazu wurden drei Gruppen mit je 48 Küken (Grp. A, B u. C) und eine Gruppe (Grp. D) mit 48 Hennen gebildet. Die Küken der Gruppe A wurden am 1. Lebenstag, die der Gruppe B am 3. Lebenstag, die der Gruppe C am 7. Lebenstag und die Legehennen der Gruppe D eine Woche nach Neuaufstellung mit  $10^7$ - $10^8$  KBE *H. pylori* oral infiziert. Der Beginn der Sektion und die Probenentnahme erfolgte innerhalb der ersten 30 Minuten p.i. Am Tag der Inokulation erfolgte die Probenentnahme dann im Abstand von zwei Stunden, in den folgenden sieben Tagen p.i. täglich, sowie während der darauf folgenden fünf Wochen p.i. wöchentlich. Zur Untersuchung kamen Kropf, Speiseröhre, Drüsenmagen, Muskelmagen, Zwölffingerdarm, Leer- und Hüftdarm, Blinddarm, Grimm- und Enddarm, sowie die Leber

Die kulturelle Rückisolierung von *H. pylori* aus Küken der Gruppe A gelang innerhalb 30 Minuten p.i. vom Kropf bis zum Blinddarm. In der Zeit zwischen 2 und 10 Stunden p.i. war dies noch aus Kropf, Drüsen- und Muskelmagen möglich. Danach gelang die Anzüchtung bis zu 20 Stunden p.i. ausschließlich aus Drüsen- und Muskelmagen. Die kulturelle Rückisolierung von *H. pylori* aus den Organen der drei anderen Versuchstiergruppen gelang nur unmittelbar nach der Applikation. Aus Küken der Gruppe B und C wurde *H. pylori* aus Kropf, Speiseröhre und Drüsenmagen kultiviert, aus Hennen der Gruppe D ausschließlich aus Kropf und Speiseröhre.

Als sensitivere Untersuchungsmethoden wurden zusätzlich molekularbiologische Techniken für die Proben der Gruppen A, B u. C vom 1. Tag bis zur 6. Woche p.i. angewandt. Nach Isolierung der DNA wurde zunächst eine Polymerasekettenreaktion (PCR) durchgeführt. In der anschließenden Gelelektrophorese wurde die mit Dimidiumbromid gefärbte DNA von *H. pylori* bei allen Gruppen vor allem aus Drüsen- und Muskelmagen in einem Zeitraum vom 1. bis zum 7. Tag p.i. nachgewiesen.

Dieser Vorgang wurde wiederholt und nach einem Southern-Blot eine nicht-radioaktive Hybridisierung durchgeführt. Durch Verwendung dieser wesentlich empfindlicheren Technik konnte der amplifizierte, spezifische DNA-Abschnitt von *H. pylori* in den oben genannten Organen und zusätzlich in Kropf, Speiseröhre, Zwölffingerdarm aller Gruppen, sowie Grimm- und Enddarm der Gruppe A nachgewiesen werden. Diese Nachweise gelangen im Gegensatz zu der Dimidiumbromidfärbung in der Gelelektrophorese über einen längeren Zeitraum. Bis zu drei Wochen p.i. wurde der spezifische DNA-Abschnitt von *H. pylori* in Muskelmagen der Gruppen A, B und C nachgewiesen.

Aus den vorgelegten Untersuchungsergebnissen ergeben sich keine Anhaltspunkte dafür, daß Küken und Hühner als Vektoren in der Epidemiologie der Helicobacteriose des Menschen eine Rolle spielen.

Gero K.O. Fabig

„Epidemiology of *Helicobacter pylori*: Experimental infection of fowls“

7 SUMMARY

*H. pylori* is a pathogenic bacterium for humans that is etiologically involved in the development of chronic gastritis and peptic ulcers. The way of transmission has not been studied in detail. Therefore, the aim of this study was to clarify if chicken and hens could be infected and whether they are potential sources of infection for man.

The analysis was performed in male chicken of layers and hens at the end of the laying period. Three groups were formed with 48 chicken (grp. A, B and C) and one group (grp. D) with 48 hens. The chicken of group A were inoculated with  $10^7$ - $10^8$  cfu *H. pylori* at the 1<sup>st</sup> day of life, group B at the 3<sup>rd</sup> day of life, group C at the 7<sup>th</sup> day of life and hens of group D after one week in the new stable. Necropsies were performed and samples were taken at the first day within 30 minutes p.i. and for every two hours, thereafter for one week daily and during the next five weeks once a week. The samples were taken from goitre, esophagus, glandular stomach, gizzard, duodenum, jejunum and ileum, appendix, colon and rectum and liver.

*H. pylori* was isolated from chicken of group A from the intestine between goitre and appendix within 30 minutes p.i.. Between two and ten hours p.i. it was still possible to isolate *H. pylori* from goitre, glandular stomach and gizzard. Thereafter *H. pylori* was only isolated from glandular stomach and gizzard to 20 hours p.i. *H. pylori* was isolated culturally only from goitre, esophagus and glandular stomach of chicken of group B and C and from goitre and esophagus of hens of group D immediately after inoculation.

A more sensitive method, techniques of molecular biology were used for additional testings of the samples of the groups A, B and C from the 1<sup>st</sup> day to the 6<sup>th</sup> week p.i.. At first, a

polymerase chain reaction was carried out with the isolated DNA. Following gel electrophoresis and dimidium-bromid stain DNA of *H. pylori* was shown to be present in all groups, predominantly in glandular stomach and gizzard from the 1<sup>st</sup> to the 7<sup>th</sup> day p.i..

This process was repeated and after southern-blotting, a non-radioactive hybridisation was performed. This most sensitive technique demonstrated the presence of *H. pylori* DNA in the same organs mentioned above. *H. pylori*-DNA was additionally detected in goitre, esophagus, duodenum of all groups also in colon and rectum of group A. These results were shown for a longer period of time p.i. in contrast to dimidium-bromid stained gels. The DNA of *H. pylori* was proved from gizzard of the groups A, B and C for three weeks p.i..

The present results do not indicate that chicken and hens are vector and source of *H. pylori*.