

# Funktions- und Laboruntersuchungen

*A. Ballauff, T. G. Wenzl, R. Bialek, H. Witt, H. Y. Naim*

## **3.1 Atemtests – 107**

3.1.1 Sammlung und Messung des Atemgases – 107

3.1.2 H<sub>2</sub>-Atemtests – 107

3.1.3 <sup>13</sup>C-Atemtests – 107

## **3.2 Motilitätsuntersuchungen – 108**

3.2.1 pH-Metrie – 109

3.2.2 Intraluminale elektrische Impedanzmessung (IMP) – 109

3.2.3 Biliäre Refluxmessung – 110

3.2.4 Manometrie – 110

3.2.5 Messung der Kolontransitzeit (Hinton-Test) – 110

3.2.6 Bernstein-Test – 111

3.2.7 Elektrogastrographie (EGG) – 111

3.2.8 Elektromyographie (EMG) – 111

## **3.3 Mikrobiologische Untersuchung des Stuhls – 112**

3.3.1 Praktisches Vorgehen – 112

3.3.2 Diagnostische Methoden – 115

## **3.4 Stuhlanalysen – 118**

3.4.1 Stuhlgewicht – 118

3.4.2  $\alpha_1$ -Antitrypsin-Clearance – 118

3.4.3 Calprotectin und Laktoferrin – 119

3.4.4 Leukozyten im Stuhl – 119

3.4.5 Stuhl-pH – 119

3.4.6 Reduzierende Substanzen – 119

3.4.7	Elektrolyte, Osmolalität und „osmotische Lücke“	– 120
3.4.8	Gallensäuren	– 120
3.4.9	Okkultes Blut im Stuhl (Haemoccult-Test)	– 120
<b>3.5</b>	<b>Aktivitätsbestimmung der Disaccharidasen</b>	<b>– 120</b>
3.5.1	Messung der Enzymaktivität mittels Hochdruckflüssigkeitschromatographie („high pressure liquid chromatography“, HPLC)	– 120
3.5.2	Photometrische Bestimmungen der Enzymaktivität	– 121
<b>3.6</b>	<b>Bestimmung von Entzündungsparametern und Autoantikörpern</b>	<b>– 121</b>
3.6.1	Entzündungsparameter	– 121
3.6.2	Autoantikörper	– 122
<b>3.7</b>	<b>Leberfunktionstests</b>	<b>– 123</b>
3.7.1	Leberzellschaden	– 124
3.7.2	Cholestase	– 124
3.7.3	Bestimmung der Syntheseleistung	– 125
3.7.4	Dynamische Leberfunktionstests	– 125
3.7.5	Fibrosemarker	– 126
<b>3.8</b>	<b>Diagnostik von Maldigestion und Malabsorption</b>	<b>– 126</b>
3.8.1	Xylosebelastungstest	– 126
3.8.2	Laktosetoleranztest	– 126
3.8.3	Permeabilitätstests	– 127
<b>3.9</b>	<b>Pankreasfunktionsdiagnostik</b>	<b>– 127</b>
3.9.1	Direkte Pankreasfunktionstests	– 127
3.9.2	Indirekte Pankreasfunktionstests	– 128
<b>3.10</b>	<b>Molekulargenetische Diagnostik</b>	<b>– 129</b>
3.10.1	Molekulargenetische Nachweisverfahren	– 129
3.10.2	Probleme der genetischen Diagnostik	– 130
	<b>Literatur</b>	<b>– 131</b>

## 3.1 Atemtests

### A. Ballauff

Atemtests sind wegen der geringen Belastung für den Patienten gerade in der Pädiatrie beliebt. Sie erfordern allerdings die Mitarbeit des Kindes und bei jüngeren Kindern viel Erfahrung des Untersuchers. Die Tests müssen nach einem standardisierten Testprotokoll durchgeführt werden. Bei der Interpretation der Testergebnisse sind mögliche Fehlerquellen zu beachten. Es besteht nicht immer eine direkte Korrelation mit Krankheitssymptomen.

### 3.1.1 Sammlung und Messung des Atemgases

Zur Analyse abgeatmeter Gase muss **endexpiratorische Luft** gewonnen werden, ohne Vermischung mit frühexpiratorischer Luft (sonst Korrektur mit Messung des  $\text{CO}_2$ -Partialdrucks, s. unten). Ältere Kinder blasen nach Anhalten der Atmung über 15 s durch tiefe Ausatmung über einen Strohhalm endexpiratorische Luft in ein Glasröhrchen, das dann luftdicht verschlossen wird (Vacutainer), oder über ein Mundstück oder eine Maske direkt in ein  $\text{H}_2$ -Messgerät oder in Beutel. Bei Säuglingen und Kleinkindern kann mit einer Maske oder einer Sonde, die bis zum nasopharyngealen Übergang vorgeschoben wird, mit einer Spritze atemsynchron expiratorische Luft abgesaugt und in Vacutainer oder direkt in das Messgerät eingegeben werden. In Vacutainern sind Proben über mehr als 30 Tage stabil und können auch zur Analyse verschickt werden.

Die Messung von  $\text{H}_2$  wird heutzutage meist mit kleinen Geräten elektrochemisch direkt vor Ort durchgeführt. Die Messung von  $^{13}\text{C}$  durch das Verhältnis  $^{13}\text{CO}_2/^{12}\text{CO}_2$  erfolgt in spezialisierten Labors durch sehr präzise, hochauflösende Isotopen-Ratio-Massenspektrometer, die nur kleine Proben volumina (Vacutainer) benötigen, oder alternativ mit preiswerteren, einfacher zu bedienenden Geräten mittels naher Infrarotisotopenspektrometrie, allerdings nur aus größeren Proben volumina.

### 3.1.2 $\text{H}_2$ -Atemtests

#### ■ Testprinzip

Nach Einnahme des zu testenden Zuckers entsteht bei unvollständiger Resorption durch bakterielle **Fermentation von Kohlenhydraten** im Kolon das Gas  $\text{H}_2$ . Etwa 20 % davon diffundieren durch die Darmwand in das Blut und werden weniger als 5 min nach Bildung abgeatmet. Etwa 5–25 % aller Menschen haben eine Darmflora, die kein  $\text{H}_2$  bildet ( $\text{H}_2$ -Non-Producer). Bei ihnen sind  $\text{H}_2$ -Atemtests nicht verwertbar.

Nüchtern liegt der  **$\text{H}_2$ -Gehalt der Ausatemluft** bei  $<10$  ppm. Ein erhöhter Basalwert findet sich, wenn der Patient nicht nüchtern ist (Cave: Zahnpasta) oder vorab schwer verdauliche Kohlenhydrate verzehrt hat. Dann muss der Test

verschoben werden. Bei Durchführung des Tests wird nach Verzicht auf ballaststoffreiche Kost für 3 Tage sowie nach einer Nüchternperiode von je nach Alter 8–12 Stunden und nach Mundspülung mit Wasser oder desinfizierender Lösung (morgens nicht Zähneputzen wegen Kohlenhydraten in der Zahnpasta) der Basalwert durch Gewinn von 1–2 Atemproben vor der Gabe der Testsubstanz ermittelt. Nach Trinken der Testlösung werden in der ersten Stunde alle 10 min und dann für 2–3 h alle 30 min Atemproben gewonnen.

#### ■ Indikationen und Testsubstrate

Indikationen und Testsubstrate sind in [Tab. 3.1](#) zusammenfassend dargestellt.

#### ■ Interpretation und Fehlerquellen

Ein Anstieg der  $\text{H}_2$ -Konzentration auf  $>20$  ppm (bei Korrektur mit Messung des  $\text{CO}_2$ -Partialdrucks:  $>0,5$  ppm  $\text{H}_2/\text{mmHg CO}_2$ ) über den Basalwert zeigt an, dass und wann ein relevanter Anteil des verabreichten Kohlenhydrats in Kontakt mit  $\text{H}_2$ -produzierenden Bakterien gelangt ist.

Ein sehr früher Konzentrationsanstieg (vor Ablauf von 30 min) ist ein Hinweis auf eine bakterielle Fehlbesiedlung in Mund oder Dünndarm oder auf eine verkürzte orozökale Transitzeit. Ein später Konzentrationsanstieg beweist nach Gabe nichtresorbierbarer Kohlenhydrate, dass die Darmflora  $\text{H}_2$  produziert, und nach Gabe resorbierbarer Kohlenhydrate eine unvollständige Resorption (Beispiele: [Abb. 3.1](#)).

Bei Verdacht auf eine **Laktose- oder Fruktosemalabsorption** sollten zeitgleich zur  $\text{H}_2$ -Konzentrationsmessung Symptome wie Durchfall und Blähungen protokolliert werden. Ein pathologisches Testergebnis sagt nur aus, dass die gegebene Menge des Zuckers unvollständig resorbiert wurde. Die Korrelation mit klinischen Symptomen ist damit noch nicht erwiesen.

**Probleme der Interpretation** bei Testung auf eine bakterielle Fehlbesiedlung des Dünndarms werden verursacht durch:

- Magenentleerungsverzögerung (später  $\text{H}_2$ -Konzentrationsanstieg, falsch-negativer Befund),
- verkürzte intestinale Transitzeit,
- unzureichende Mundhygiene mit frühzeitiger  $\text{H}_2$ -Produktion durch die Mundflora (früher  $\text{H}_2$ -Konzentrationsanstieg, falsch-positiver Befund).

Die Annahme, dass die Dauer zwischen der Einnahme von Laktulose und dem  $\text{H}_2$ -Konzentrationsanstieg die orozökale Transitzeit widerspiegelt, setzt voraus, dass das Substrat als Bolus das Kolon erreicht und bereits im Zökum ausreichend  $\text{H}_2$ -produzierende Bakterien vorhanden sind, was wahrscheinlich nicht der Realität entspricht.

### 3.1.3 $^{13}\text{C}$ -Atemtests

#### ■ Testprinzip

$^{13}\text{C}$  kommt in etwa 1 % aller Kohlenstoffatome natürlicherweise vor. Nach oraler Gabe einer mit  $^{13}\text{C}$  markierten Substanz wird durch Verdauung, Resorption und Metabolisierung

■ **Tab. 3.1** Indikationen und Testsubstrate für H<sub>2</sub>-Atemtests

Indikation	Substanz	Menge	Konzentration der Lösung (%)
Laktosemalabsorption	Laktose	2 g/kg KG, max. 50 g	20
Fruktosemalabsorption	Fruktose	1 g/kg KG, max. 25 g	10
Bakterielle Fehlbesiedlung des Dünndarms	Glukose	1 g/kg KG, max. 50 g	20
	Laktulose	0,5 g/kg KG, max. 10 g	10
Nachweis der H <sub>2</sub> -Produktion	Laktulose	0,5 g/kg KG, max. 10 g	10
Feststellung der oroökalen Transitzeit	Laktulose	0,5 g/kg KG, max. 10 g (Erwachsene bis 20 g)	10
Saccharase-Isomaltase-Mangel	Saccharose	2 g/kg KG, max. 50 g	20

<sup>13</sup>CO<sub>2</sub> gebildet, was zum Anstieg der **13CO<sub>2</sub>/12CO<sub>2</sub>-Ratio** in der Ausatemluft führt.

Inzwischen stehen viele verschiedene <sup>13</sup>C-markierte **Testsubstanzen** zur Verfügung, und zwar für:

- Untersuchung der Leberfunktion,
- Beurteilung von Fettverdauung und -resorption,
- Untersuchung der Kohlenhydratverdauung,
- Messung der Transitzeit,
- Beurteilung der Magenentleerung,
- Nachweis von *Helicobacter pylori*.

Die Testsubstanzen sind z. T. sehr teuer (Alternative zum H<sub>2</sub>-Atemtest nur bei H<sub>2</sub>-Non-Producern). Einige Tests sind für die Pädiatrie nicht ausreichend validiert, so dass für den klinischen Gebrauch aktuell der Test zum Nachweis von *Helicobacter pylori* die größte Bedeutung hat. Protokolle und pädiatrische Normwerte für Tests zur Beurteilung der Magenentleerung wurden in Studien erarbeitet.

### ■ <sup>13</sup>C-Harnstoff-Atemtest

Das Enzym **Urease** aus dem Bakterium *Helicobacter pylori* spaltet Harnstoff zu CO<sub>2</sub> und NH<sub>3</sub>, so dass bei einer *Helicobacter pylori*-Infektion nach Schlucken von <sup>13</sup>C-markiertem Harnstoff vermehrt <sup>13</sup>CO<sub>2</sub> abgeatmet wird.

**Voraussetzungen** zur Durchführung der Untersuchung sind:

- keine Therapie mit Antibiotika in den vorangegangenen 4 Wochen,
- Absetzen von Protonenpumpeninhibitoren 2 Wochen sowie von H<sub>2</sub>-Rezeptor-Antagonisten und Antacida 2 Tage vor dem Test,
- leerer Magen (Kinder mindestens 4 h nüchtern lassen)

Die Durchführung erfolgt in 3 Schritten:

- Entnahme einer Atemprobe zur Messung des Basalwertes,
- Gabe von 75 mg <sup>13</sup>C-markiertem Harnstoff, aufgelöst in wenig saurer Flüssigkeit (Apfelsaft oder Zitronensäure), anschließend Nachspülen mit einem Glas Apfelsaft

(Säure verzögert die Magenentleerung und erhöht die Ureaseaktivität,

- Entnahme einer weiteren Atemprobe nach 30 min (evtl. zusätzlich nach 15 min).

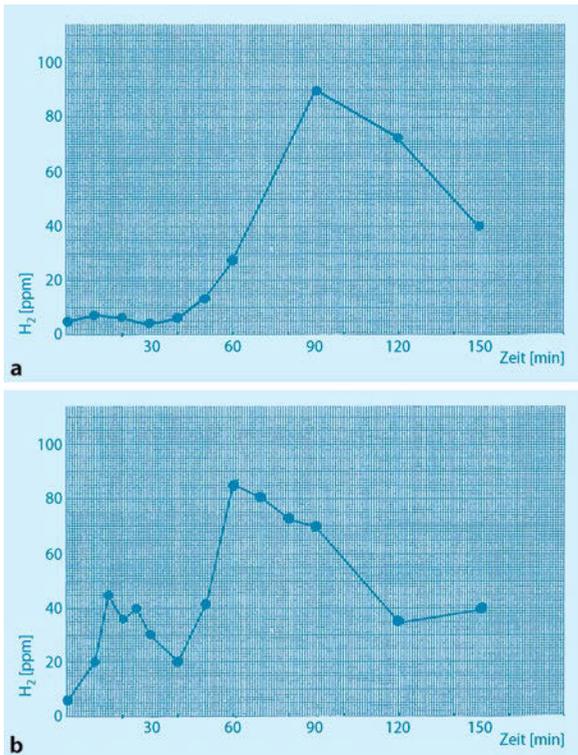
Der Test wird als pathologisch bewertet, wenn die <sup>13</sup>CO<sub>2</sub>/<sup>12</sup>CO<sub>2</sub>-Ratio, ausgedrückt als „**delta over baseline**“ in ‰, um >5 ‰ ansteigt (Grauzone: 2,5 – 5 ‰). Damit betragen Sensitivität und Spezifität dieses Tests für Kinder über 6 Jahre fast 100 %, für jüngere Kindern ist die Spezifität etwas geringer.

## 3.2 Motilitätsuntersuchungen

*T. G. Wenzl*

Die diagnostischen Methoden erfassen unterschiedliche Qualitäten der Motilität. Dieses Kapitel beschreibt die Prinzipien und Anwendungsbereiche der Verfahren. Anamnese und Untersuchung geben entscheidende Hinweise für das weitere Vorgehen.

Die Untersuchungsverfahren erfassen unterschiedliche Aspekte der Motilität. Die Sonographie ergänzt als bildgebendes Verfahren die klinische Untersuchung. Die Darstellung der Anatomie, des Schluckaktes und der Magenentleerung erfolgt durch radiologische Untersuchungen mit und ohne Kontrastmittel. Eine Szintigraphie kann bei rezidivierenden Aspirationssymptomen hilfreich sein. Die pH-Metrie ist nach wie vor das am weitesten verbreitete primärdiagnostische Verfahren. Sie ist für Verlaufsuntersuchungen und zur Therapiesteuerung geeignet. Biliärer duodenogastraler Reflux kann durch entsprechende Elektroden erfasst werden. Die intraluminale elektrische Impedanzmessung (IMP) ist eine pH-unabhängige Langzeitmessmethode. Die IMP mit pH-Messung wird in Zukunft die isolierte pH-Metrie als Standardverfahren bei der Diagnostik des gastroösophagealen Refluxes ersetzen. Die Druckverhältnisse im Ösophagus und Anorektum werden durch die Manometrie dargestellt. Die Messung der Kolontransitzeit erfolgt durch die Verfolgung oral applizierter Markersubstanzen. Der Bernstein-Test ist ein



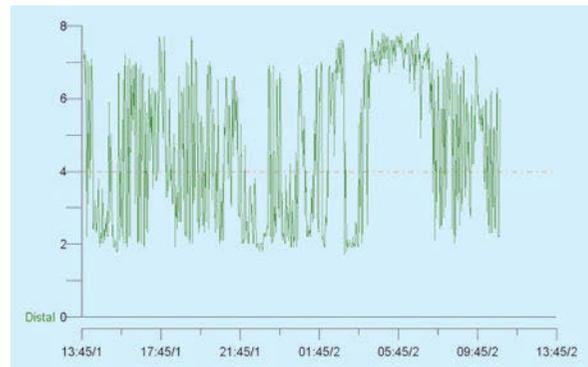
■ **Abb. 3.1 a,b.** Pathologische Befunde des H<sub>2</sub>-Atemtests. **a** Fruktosemalabsorption: 90 min nach Gabe von 1 g Fruktose/kg KG H<sub>2</sub>-Konzentrationsanstieg um 85 ppm, zeitgleich Bauchschmerzen; **b** bakterielle Fehlbesiedlung des Dünndarms und Malabsorption bei Kurzdarmsyndrom: 10 min nach Gabe von 1 g Glukose/kg KG erster H<sub>2</sub>-Konzentrationsanstieg um 40 ppm, nach 50 min erneuter Anstieg als Zeichen der unvollständigen Glukoseresorption und des frühzeitigen Erreichens des Kolons

gelegentlich aussagekräftiges, wenngleich wenig verwandtes Untersuchungsverfahren zur Symptomprovokation. Auch Elektrogastrographie (EGG) und Elektromyographie (EMG) sind in der pädiatrischen Gastroenterologie wenig verbreitet. Die Endoskopie mit Biopsien dient der makroskopischen und histologischen Diagnostik.

- **Keine der zur Verfügung stehenden Untersuchungstechniken ist allein in der Lage, alle Qualitäten der Motilität zu beschreiben. Oft ist die Durchführung verschiedener Untersuchungen für die Diagnosefindung notwendig und sinnvoll.**

### 3.2.1 pH-Metrie

Das Prinzip der intraösophagealen pH-Messung stützt sich auf die unterschiedlichen pH-Bereiche von Magen und Speiseröhre. Eine Erniedrigung (pH <4) oder eine Erhöhung (pH >7,5) des ösophagealen pH-Wertes werden als Auftreten von Magen- bzw. Duodenalinhalt in der Speiseröhre, d. h. als gastroösophagealer Reflux (GÖR) bewertet.



■ **Abb. 3.2** pH-Metrie. Pathologischer Befund mit einem Reflux-Index von >10 %. Dargestellt ist der intraösophageale pH-Wert über der Zeit. *Gestrichelte Linie* Grenz-pH-Wert 4

Mehrkanal-pH-Metriem sind möglich. Die Aufzeichnung erfolgt über 24 h (■ Abb. 3.2). Ausgewertet wird der pH-Verlauf und der relative (prozentuale) Anteil des pH-Wertes unterhalb der Grenzwerte an der Gesamtmesszeit (**Reflux-Index**). Weitere von der Auswertungssoftware ausgegebene Parameter wie die „Anzahl der als Reflux erkannten Episoden“, die „Anzahl der GÖR länger als 5 min“ und die „Dauer der längsten registrierten Episode“ haben sich als wenig zuverlässig erwiesen und sollten zur Beurteilung nicht mehr herangezogen werden.

Altersabhängige **Normalwerte** liegen vor. Als pathologisch gilt ein Reflux-Index >10 % bei Kindern im ersten Lebensjahr und >5 % bei älteren Kindern.

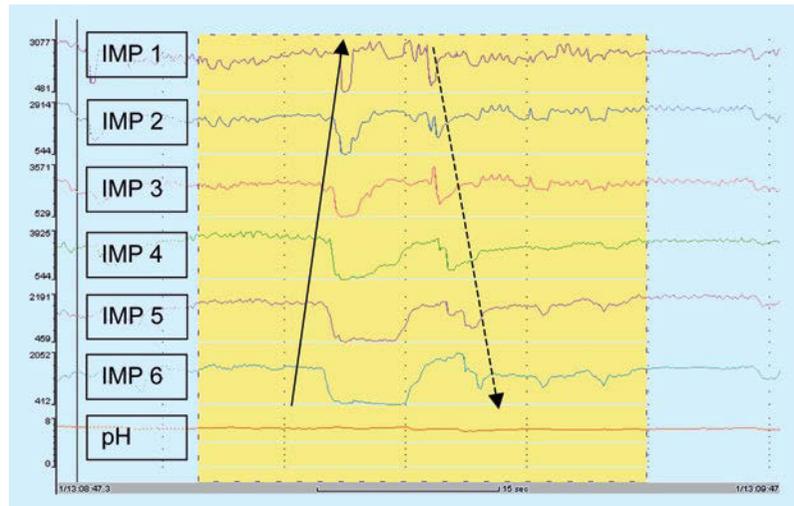
Es handelt sich um ein wenig invasives Verfahren zur **Langzeitmessung** unter nahezu physiologischen Bedingungen. Eine Kombination der pH-Metrie mit anderen Untersuchungsverfahren ist möglich. Die pH-Metrie eignet sich zur Dosisfindung, Therapiesteuerung und zur Verlaufskontrolle des gastroösophagealen Reflux.

Allerdings beruhen die Ergebnisse einerseits auf empirischen GÖR-Definitionen und hängen andererseits stark von der verwandten Hard- und Software ab. Eine wesentliche Einschränkung der pH-Metrie besteht im fehlenden Nachweis von GÖR im physiologischen ösophagealen pH-Bereich. Hierdurch entziehen sich in Phasen gastrischer Hypoacidität eine Vielzahl von GÖR der Erfassung. Inzwischen stehen miniaturisierte, kabellose pH-Messsysteme zur pH-Metrie in den oberen Atemwegen zur Verfügung. Ihre pädiatrische Evaluation steht allerdings noch aus.

### 3.2.2 Intraluminale elektrische Impedanzmessung (IMP)

Dieses Verfahren beruht auf einer **Änderung der Impedanz** bei der Passage eines Bolus. Die Impedanz wird bipolar zwischen zwei Elektroden gemessen, wobei jeweils ein Elektrodenpaar einen IMP-Kanal darstellt, der ein Hohlorgansegment definierter Länge repräsentiert. Die Impedanz ändert sich charakteristisch abhängig von der Zusammensetzung des Bolus. Sie sinkt

■ **Abb. 3.3** Kombinierte Impedanz- und pH-Wert-Messung, nichtsaurer gastroösophagealer Reflux (GÖR). Dargestellt sind die intraösophageale multiple Impedanzmessung und der pH-Wert über der Zeit. *Durchgehender Pfeil* retrograde Bolusbewegung (GÖR); *gestrichelter Pfeil* antegrade Bolusbewegung (Schluck, GÖR-Clearance); *IMP 1–6* Impedanzkanäle 1 (proximal) bis 6 (distal)



während der Passage eines Bolus mit hoher Leitfähigkeit (z. B. Speichel, Nahrung, gastrointestinales Sekret) und steigt in Phasen niedriger Leitfähigkeit (z. B. Luft, Muskelwand). Durch Aneinanderreihung mehrerer IMP-Kanäle ist es möglich, die Richtung der Bolusbewegung zu bestimmen (■ Abb. 3.3).

Die Untersuchungsbedingungen der IMP entsprechen denen der pH-Metrie, die Auswertung erfolgt softwaregestützt. Das Verfahren ist zur **Langzeitmessung** geeignet und erfasst Bolusbewegungen pH-unabhängig. Steighöhe, Geschwindigkeit und Clearance der Refluxepisodes lassen sich bestimmen.

Allerdings handelt es sich um eine bisher nicht standardisierte Methode, altersabhängige Normwerte liegen bisher nicht vor. Die IMP bietet sich jedoch zur **Kombination** mit anderen Verfahren an, um mögliche Zusammenhänge zwischen GÖR und damit in Verbindung gebrachten Symptomen darzustellen (■ Abb. 3.4). Bei gastral Säuresuppression gibt die IMP über den Fortbestand des Refluxgeschehens Auskunft. Sie ist der isolierten pH-Metrie in der diagnostischen Aussagekraft überlegen. Vor allem bei der Diagnostik laryngopharyngealer Reflux (LPR) gewinnt die multiple Impedanzmessung in zunehmendem Maße an Bedeutung. Zur Ermittlung aller GÖR-Qualitäten sollte der IMP-Katheter zusätzlich mit einer oder mehreren pH-sensitiven Elektroden versehen sein. Ein Einsatz der IMP in Duodenum und Anorektum ist möglich.

### 3.2.3 Biliäre Refluxmessung

Der Einsatz photometrischer Messelektroden soll der Diagnostik **galliger, duodenogastroösophagealer Reflux (DGÖR)** dienen. Bei Verdacht auf biliären Reflux kann diese kathetergestützte Methode zur Messung von duodenalem Reflux im Magen und in der Speiseröhre zur Anwendung kommen. Der Einsatz in der Pädiatrie ist bisher wenig verbreitet, eine Kombination mit einer pH-Messung erscheint sinnvoll.

### 3.2.4 Manometrie

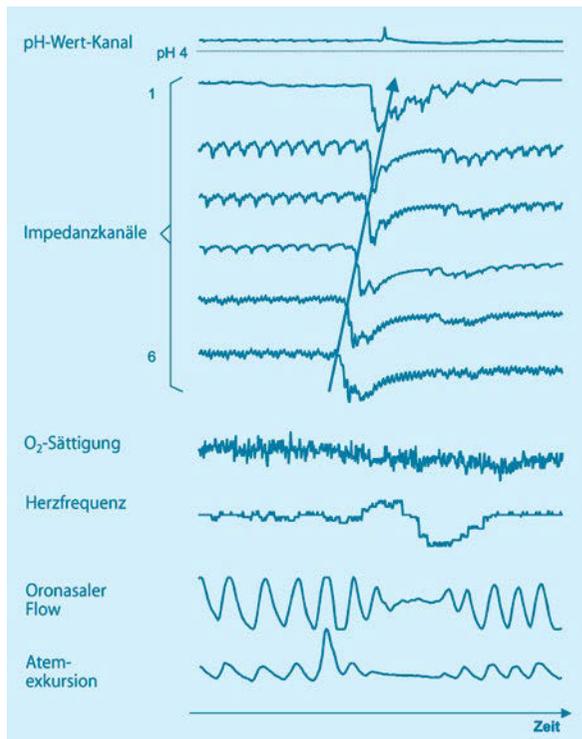
Sie dient der Ermittlung der **kontraktilen Aktivität**. Mittels ösophagealer Manometrie lassen sich Lage, Ausdehnung und Stärke des unteren Ösophagusphinkters (UÖS) ermitteln. Infolge der Miniaturisierung ist die intraluminale Mikromanometrie inzwischen auch bei Frühgeborenen möglich. Die Peristaltik beim Schluckakt lässt sich anhand des Druckverlaufes bei Mehrkanalmessung rekonstruieren.

Die Manometrie wird nicht zur GÖR-Diagnostik empfohlen, sie ist aber bei der **Differenzialdiagnose** des GÖR elementar. Ihr Einsatz ist bei der Indikationsstellung für eine chirurgische Therapie hilfreich und empfiehlt sich für die postoperative Nachsorge.

Darüber hinaus ist eine antroduodenale, eine anorektale sowie eine Sphinktermanometrie möglich. Sie kommt bei der Diagnostik der Achalasie, der Hiatushernie und des M. Hirschsprung zum Einsatz. Die **Barostat-Technik** erlaubt die Untersuchung der Zusammenhänge zwischen Volumen und Druck und die Quantifizierung der sensorischen Schwelle mittels intraluminalem Ballon. Durch Entfalten des Ballons wird die rektale Füllungswahrnehmung und der rektale Relaxationsreflex (normales Erschlaffen des inneren Schließmuskels bei Füllung des Enddarmes) geprüft. Inzwischen stehen hochauflösende Manometrieanlagen als Prototypen zur Verfügung. Ihre pädiatrische Evaluation steht allerdings noch aus.

### 3.2.5 Messung der Kolontransitzeit (Hinton-Test)

Allen Methoden zur Messung des Kolontransits gemeinsam ist die Verwendung von **Markersubstanzen** (Pellets, radioaktive Substanzen, Farbstoffe), die in vivo oder im Stuhl leicht nachweisbar sind. Die Marker dürfen nicht resorbiert werden, müssen gleich schnell transportiert werden wie der übrige Darminhalt und dürfen die Motilität nicht beeinflussen.



■ **Abb. 3.4** Kombinierte Impedanz- und pH-Wert-Messung sowie Polygraphie, nichtsaurer gastroösophagealer Reflux (GÖR) und zentrale Apnoe. Dargestellt sind die Befunde der intraösophagealen multiplen Impedanzmessung, die pH-Werte und die Ergebnisse der Polygraphie über der Zeit. *Durchgehender Pfeil* retrograde Bolusbewegung (GÖR); 1–6 Impedanzkanäle 1 (proximal) bis 6 (distal)

Am besten geeignet sind röntgendichte Pellets in Verbindung mit Röntgenaufnahmen des Abdomens (■ Abb. 3.5). Durch Verwendung von mehreren Kapseln, die jeweils verschiedene auf dem Röntgenbild sichtbare Marker enthalten und in einer vorgegebenen Reihenfolge und Frist geschluckt werden müssen, lässt sich mittels einer Röntgenaufnahme die Tätigkeit des Dickdarmes während der einwöchigen Untersuchungsperiode rekonstruieren.

### 3.2.6 Bernstein-Test

Im Wechsel erfolgt die ösophageale Infusion von 0,9% NaCl und 0,1 N HCl. Bei Provokation von Symptomen durch **Säureinfusion** kann eine GÖR-Symptom-Assoziation als gesichert angesehen werden. Der Bernstein-Test ist der einzige Provokationstest unter Verwendung des vermutlich symptomauslösenden Agens.

### 3.2.7 Elektrogastrographie (EGG)

Bei der EGG wird mit Oberflächenelektroden die elektrische Aktivität der **glatten Muskulatur des Magens** gemessen. Meist erfolgt die Aufzeichnung während einer Fastenphase,



■ **Abb. 3.5** Messung der Kolontransitzeit (Hinton-Test), Abdomenaufnahme im Stehen p.-a. Nachweis runder, ringförmiger und länglicher Marker im Bereich des Colon ascendens, des Colon transversum und des Colon descendens sowie in Projektion auf das kleine Becken (Rektum)

einer standardisierten Mahlzeit und anschließend für zwei Stunden postprandial. Analysiert wird softwaregestützt, nach Verstärkung und Filterung, die dominante Frequenz, der Anteil normaler langsamer Wellen und der Anteil gastrischer Dysrhythmie.

Die EGG ist eine noninvasive Technik, allerdings ist die Durchführung aufwendig und nicht standardisiert. Für das Kindesalter liegen nur begrenzte Daten vor.

### 3.2.8 Elektromyographie (EMG)

Die EMG kann bei Verdacht auf eine **Dyssynergie der Beckenbodenmuskulatur** hilfreich sein. Sie wird als Nadel-EMG oder als Oberflächen-EMG durchgeführt. Darüber hinaus kann die Nervenleitgeschwindigkeit des N. Pudendus untersucht werden. Der Einsatz der EMG ist in der pädiatrischen Gastroenterologie wenig verbreitet.

### 3.3 Mikrobiologische Untersuchung des Stuhls

#### R. Bialek

Die mikrobiologische Stuhl Diagnostik wird angefordert, um die Ätiologie abdominaler Beschwerden einzugrenzen. Der Kliniker will zudem anhand der Ergebnisse klären, ob weitere diagnostische und therapeutische Konsequenzen erforderlich sind. Eine „blinde“ Diagnostik nach dem Motto „Einmal Stuhl auf alles“ (vermutlich alle pathogenen Erreger) ist ausgesprochen kostenträchtig und meist wenig ergiebig. Es kann nicht überbetont werden, dass präanalytische Überlegungen helfen, die Anzahl negativer Laborergebnisse und die Kosten erheblich zu reduzieren. Der anfordernde Arzt muss die Nachweisgrenzen der eingesetzten Methoden zumindest orientierend kennen, um die Diagnostik zu optimieren und ggf. zu ergänzen, aber auch um Ergebnisse korrekt einzuordnen und weitere sinnvolle Maßnahmen wie eine Therapie oder auch eine Umgebungsprophylaxe einzuleiten. Vom Mikrobiologen kann bei Konsultation diesbezüglich Hilfestellung erwartet werden, aber gerade Stuhlproben werden typischerweise nur mit Patientendaten versehen und mit der Anforderung auf Nachweis pathogener Erreger eingesandt. Im Labor wird dann entsprechend der Qualitätsstandards in der mikrobiologisch-infektiologischen Diagnostik (Kist 2000) vorgegangen. Das Resultat ist meist eine „breit angelegte“ festgeschriebene Diagnostik (Tab. 3.2), die jede im Labor ankommende Stuhlprobe durchläuft, damit „nichts vergessen“ wird.

Das **Erregerspektrum** bei kindlichen Durchfallerkrankungen ist u. a. von der Jahreszeit, dem Alter, der Schwere der Symptomatik sowie der Region abhängig (Essers et al. 2000; Klein et al. 2006; Oleson et al. 2005; Vernacchio et al. 2006). Nach derzeitiger Studienlage werden mehr als 50–80 % der Durchfallerkrankungen durch Viren verursacht, insbesondere durch Rota- und Noroviren, während Bakterien für 10–20 % der Erkrankungen verantwortlich und noch seltener Parasitosen ursächlich sind. Je jünger das Kind ist, desto eher sind Viren Verursacher von Gastroenteritiden. In Studien ist die Nachweisrate von darmpathogenen Bakterien vom Umfang der durchgeführten Untersuchungen abhängig und liegt bei 7–20 %. Jedoch konnten in einer Studie auch bei gesunden, asymptomatischen Kindern im Alter von 6 Monaten bis 3 Jahren bei bis zu 15 % fakultativ pathogene Bakterien im Stuhl gefunden werden. In dieser prospektiven Studie blieb die Ätiologie von 80 % der berichteten Durchfallepisoden ungeklärt (Vernacchio et al. 2006).

Nach dem Infektionsschutzgesetz besteht für den Nachweis diverser darmpathogener Erreger eine **Meldepflicht**, der die meisten Laboratorien in Deutschland auch nachkommen. Gemeldet werden pro Jahr die Erregernachweise von 90.000 Campylobacterinfektionen und Salmonellosen sowie von weiteren etwa 11.000 Yersiniosen, Escherichia-coli-Enteritiden, Infektionen mit EHEC, Shigellosen und Typhuserkrankungen, außerdem knapp 200.000 Noro- und Rotavirusinfektionen sowie etwa 5.000 Lamblieninfektionen und Kryptosporidiosen (Robert Koch Institut 2011a). Nach

Lankisch et al. (2006) leiden pro Jahr 30 % der Bevölkerung (82 Mio. Menschen in Deutschland) an einer Durchfallerkrankung, und pro Patient werden 1,7 Episoden beobachtet, was 42 Mio. Episoden entspricht. Im Verhältnis würden die etwa 310.000 nachgewiesenen Erreger gerade 7 % der Ursachen klären. Dabei bleibt unberücksichtigt, dass nicht jeder Arztbesucher mit Durchfall einer weiteren Diagnostik zugeführt wird und dass einige Ätiologien, wie Clostridium-difficile-assoziierte Diarrhöen, nicht in der Statistik erfasst werden.

Die **Kosten** für den Nachweis eines fakultativ pathogenen Bakteriums werden mit 952–1.200 US \$ beziffert, bei einer Nachweisrate (positive Kultur) von 1,5 % bis max. 5,6 % aller untersuchten Proben (Thielman u. Guerrant 2004). Insbesondere im Kindesalter hat jedoch nicht jeder Nachweis auch therapeutische Konsequenzen. Es ist daher verständlich, wenn in Leitlinien zur Diarrhö angemerkt wird, dass ein Erregernachweis nicht in jedem Fall anzustreben ist – leider bleibt aber offen, wann welche Diagnostik sinnvoll ist oder sein kann.

Dieses Kapitel soll den gastroenterologisch tätigen Pädiater ermuntern, durch Einblicke in die Möglichkeiten und Grenzen der Methoden präanalytische Überlegungen zu intensivieren und diese ggf. mit dem Mikrobiologen zu teilen, um die mikrobiologische Stuhl Diagnostik zu optimieren.

#### 3.3.1 Praktisches Vorgehen

Es klingt zwar redundant, aber die Anamnese ist für eine optimale Diagnostik essenziell. Wesentliche Aspekte dabei sind:

- **Patientenalter:** Im Säuglingsalter stehen virale Infektionen, insbesondere durch Rota- und Noroviren, ätiologisch im Vordergrund, seltener bakterielle Enteritiden, während bei Schulkindern eher Noroviren und Bakterien wie Salmonellen- und Campylobacterarten bedeutsam sind.
- **Grunderkrankungen:** Bei Immunsuppression ist die Anzahl der in Betracht kommenden Ätiologien deutlich höher als bei Immungesunden, bei denen anhaltende Darminfektionen mit Mykobakterien, Mikrosporidien, Histoplasma capsulatum oder dem Zytomegalievirus quasi nicht vorkommen.
- **Symptombeginn, Erbrechen, Nahrungsmittel:** Typisch für virale Darminfektionen, die immer als Gastroenteritis ablaufen, ist das initiale Erbrechen, gefolgt von Diarrhöen. Auch durch Bakterientoxine verursachte Gastroenteritiden beginnen häufig mit Erbrechen, was für bakterielle und parasitäre Enteritiden wesentlich seltener ist. Während die genannten Darmerkrankungen häufig abrupt beginnen und auch rasch sistieren, beginnt eine Amöbenkolitis schleichend, typischerweise mit langsam zunehmenden, dann blutigen Durchfällen. Erbrechen und Durchfälle, die mit einer neurologischen Symptomatik wie Kribbelparästhesien oder Umkehr des Kalt-warm-Empfindens einhergehen, deuten auf eine Vergiftung hin, wie sie bei Genuss von Muscheln oder Raubfischfleisch („Ciguatera“) beobachtet wird.

**Tab. 3.2** Erregerspektrum und Untersuchungsgänge bei Verdacht auf eine Darminfektion entsprechend den Qualitätsstandards in der mikrobiologisch-infektiologischen Diagnostik. (Nach Kist 2000)

Klinische Situation	Infrage kommende Erreger und Untersuchung
<i>Ambulante Patienten</i>	
Unauffälliger Stuhl	Salmonellen, Shigellen, Yersinien
Wässrige Diarrhö	Salmonellen, Shigellen, Yersinien, Campylobacter Zusätzliche Erreger: - Kinder unter 6 Jahren: EPEC, EHEC - Vorangegangener Auslandsaufenthalt: Aeromonas spp., Vibrio spp., Protozoen - Nach Operationen oder Antibiotikatherapie: Clostridium difficile, Pilze (quantitativ)
Blutige Diarrhö	Salmonellen, Shigellen, Yersinien, Campylobacter spp., Clostridium difficile, EHEC, Aeromonas spp., Vibrio spp., Rota- und Adenoviren Zusätzliche Erreger: - Kinder unter 3 Jahren: EPEC, Kryptosporidien - Vorangegangener Auslandsaufenthalt: Protozoen - Bei Immunsuppression: EPEC, Mykobakterien, fakultativ darm-pathogene Bakterien <sup>a</sup> , Pilze (quantitativ), Protozoen, Mikrosporidien; Antibiogramme für nachgewiesene Bakterien
<i>Stationäre Patienten (ab 4. Tag)</i>	
Diarrhö	Clostridium difficile (Toxinnachweis und/oder Kultur)
Kinder unter 3 Jahren	Clostridium difficile, EHEC, EPEC, Rota- und Adenoviren
Nosokomialer Enteritisausbruch	Clostridium difficile, Salmonellen, Shigellen, Yersinien, EHEC, Rota- und Adenoviren
Immunsuppression	Clostridium difficile, Salmonellen, Shigellen, Yersinien, Campylobacter spp., EPEC, Aeromonas spp., Mykobakterien, fakultativ darm-pathogene Bakterien <sup>a</sup> , Pilze (quantitativ), Protozoen, Mikrosporidien; Antibiogramme für nachgewiesene Bakterien
<i>Sonderfälle</i>	
Nierenversagen, HUS, TTP und anamnestisch bekannte Diarrhö	EHEC, Salmonellen, Shigellen, Campylobacter spp., Yersinien
Appendizitis, Arthritis, Erythema nodosum	Salmonellen, Shigellen, Campylobacter spp., Yersinien, Yersinienanreicherung
Persistierende oder rezidivierende Diarrhö für mehr als 3 Wochen	Salmonellen, Shigellen, Campylobacter spp., Yersinien, Yersinienanreicherung, Clostridium difficile, EPEC, EHEC, Protozoen, enteroaggregative Escherichia coli
Kinder bis 6 Jahre bei stationärer Aufnahme wegen Diarrhö	Salmonellen, Shigellen, Campylobacter spp., Adeno- und Rotaviren, EHEC, EPEC

*EHEC* enterohämorrhagische Escherichia coli; *EPEC* enteropathogene Escherichia coli; *HUS* hämolytisch-urämisches Syndrom; *TTP* thrombotisch-thrombozytopenische Purpura.

<sup>a</sup> u. a. Pseudomonas spp., Xanthomonas spp., Enterobacter spp, Citrobacter freundii, Edwardsiella tarda, Hafnia alvei, Clostridium spp.

*Anmerkung:* Da bei Erarbeitung der Empfehlungen weder Bedeutung noch Diagnostik der Noroviren ausreichend bekannt und verbreitet waren, fehlen die Indikationen dafür. Bei wässrigen Diarrhöen ambulanter Patienten wie auch bei stationär behandelten Patienten mit Immunsuppression sollte danach gesucht werden.

- Dauer der Symptome:** Bakterientoxine und Virusinfektionen führen binnen Stunden bis Tagen zu einer Symptomatik, die schnell, also nach wenigen Stunden bis wenigen Tagen, wieder sistiert, während bakterielle Darminfektionen mehrere Tage bis zur spontanen Ausheilung benötigen und nur in ganz seltenen Fällen anhaltende abdominale Beschwerden verursachen. Infektionen mit Parasiten bedingen hingegen anhaltende, also chronische, meist intermittierende Diarrhöen.
- Darmentleerungen:** Es besteht eine erhebliche Variabilität dahingehend, was als Durchfall angesehen wird, so dass Konsistenz und Anzahl der Darmentleerungen

besser erfragt und begutachtet werden sollten. Bei einer Kolitis werden typischerweise viele, kleinvolumige Stühle abgesetzt, während eine Enteritis durch eher großvolumige Stühle mit geringerer Frequenz gekennzeichnet ist. Reiswasserartige Stühle sind charakteristisch für die Wirkung von Toxinen, während Blutbeimengungen auf eine invasive bakterielle oder parasitäre Infektion hinweisen. Das Erfragen der Stuhlfarbe ist mäßig ergiebig; sie ist grünlich bei Salmonellosen oder Shigellosen, aber auch bei Rotavirusinfektionen und bei Clostridium-difficile-assoziiertes Diarrhö. Stinkende Stühle und Blähungen sind typisch für Lamblieninfektionen, kommen aber zudem sowohl bei Virus- als auch bei Bakterieninfektionen des Darmes vor.

- **Fieber, andere Begleitsymptome:** Fieber tritt vor allem bei bakteriellen Darminfektionen, also Salmonellosen, Shigellenruhr und Infektionen mit Campylobacter spp., aber auch bei der Amöbenkolitis und der Clostridium-difficile-assoziierten Diarrhö auf, während es bei Virusinfektionen eher geringer ausgeprägt ist. Während Allgemeinsymptome wie Unwohlsein, Kopfschmerzen, Schwindelgefühl und Abgeschlagenheit bei Virusinfektionen rasch rückläufig sind, persistieren sie bei bakteriellen Infektionen oder nehmen sogar zu.
- **Gruppenerkrankung:** Bei toxininduzierten Diarrhöen kommt es meist gleichzeitig zu einer Symptomatik bei vielen Personen, die Kontakt zu einer gemeinsamen Infektionsquelle hatten, was auch bei Salmonellosen oder Cyclospora-Infektionen der Fall sein kann, wenn Nahrungsmittel die Infektionsquelle sind. Bei Virusinfektionen kommt es aufgrund der Infektiosität zu zeitlich nachfolgenden Symptomen bei Kontaktpersonen, die noch nicht immun sind. Rotavirusinfektionen betreffen meist Kleinkinder und damit auch Stationen in Kinderkrankenhäusern (je jünger die Kinder, desto ausgeprägter die Symptome), während Norovirusinfektionen sowohl Kinder als auch Erwachsene betreffen.
- **Auslandsaufenthalte:** Parasitosen werden überwiegend oder ausschließlich in Endemiegebieten im Ausland erworben, d. h. nur bei entsprechender Anamnese sind diesbezügliche Untersuchungen überhaupt indiziert.

Hilfreich wäre ein einziges Testverfahren, dessen Ergebnis eine Zuordnung zur Therapie mit ausschließlicher Rehydrierung oder zusätzlichen Antiinfektiva ermöglichen würde. In Studien untersucht wurden der Blutnachweis im Stuhl, die Beurteilung von Leukozyten im Stuhl und die Quantifizierung des Laktoferrins im Stuhl. Sensitivität und Spezifität dieser Verfahren liegen auch bei Kindern bei <80 %, so dass es den einen Test zur therapielevanten Indikationsstellung bisher nicht gibt (Chen et al. 2011; Gill et al. 2003; Mercado et al. 2011).

- **Aufgrund der hohen Kosten und der geringen therapeutischen Konsequenz wird eine Stuhl Diagnostik nicht empfohlen, wenn die Dauer der Durchfallsymptomatik weniger als 24 h beträgt. Ausnahmen sind**

■ **Tab. 3.3** Erreger entzündlicher Durchfälle mit Leukozytennachweis oder sogar makroskopisch sichtbarem Blut

Klinische Situation	Mögliche Erreger
Fieber und Tenesmen (Dysenterie)	<ul style="list-style-type: none"> <li>– Shigella spp.</li> <li>– Campylobacter spp.</li> <li>– Salmonella spp.</li> <li>– Enteroinvasive Escherichia coli</li> <li>– Vibrio parahaemolyticus</li> <li>– Entamoeba histolytica</li> </ul>
Meist kein Fieber	<ul style="list-style-type: none"> <li>– Enterohämorrhagische Escherichia coli</li> <li>– Yersinia enterocolitica</li> <li>– Balantidium coli</li> <li>– Clostridium difficile und dessen Toxine</li> </ul>
Anhaltende Diarrhöen (>14 Tage)	<ul style="list-style-type: none"> <li>– Protozoen wie Kryptosporidien, Lamblien, Cyclospora cayetanensis, Cystoisospora (ehemals: Isospora) belli und Entamoeba histolytica</li> <li>– Enteropathogene Escherichia coli</li> </ul>

**Durchfälle bei Säuglingen, blutige Diarrhöen, Durchfälle mit Fieber, ausgeprägte Dehydratation, neurologische Symptomatik und ausgeprägte abdominale Schmerzen.**

Bei Durchfallepisoden einzelner Patienten, die erst 3 Tage nach Beginn eines Krankenhausaufenthaltes auftreten, handelt es sich bei Säuglingen und Kleinkindern meist um **Hospitalinfektionen** mit vor allem Rota- oder auch Noroviren sowie bei Antibiotikatherapie auch um Clostridium-difficile-assoziierte Diarrhöen. Querschnittstudien zeigen jedoch, dass Clostridium difficile und/ oder dessen Toxine auch bei asymptomatischen Kindern häufig nachweisbar sind, so dass die Pathogenität des Nachweises bei fehlender Enterokolitis nicht eindeutig ist (Wilson 2006). Dennoch wird die entsprechende Diagnostik zwecks Hygienemaßnahmen und/ oder Therapie angeraten. Andere Ätiologien sind bei Einzelerkrankungen eher unwahrscheinlich, so dass erst bei negativen Befunden der genannten Diagnostik weitere mikrobiologische Untersuchungen durchgeführt werden sollten.

Für die **Präanalytik** dienen nachstehende Angaben als Orientierungshilfe:

- Gastroenteritis – primär Erbrechen, Durchfall möglich: am ehesten verursacht durch Noroviren, Rotaviren oder Bakterientoxine, seltener durch Bakterien.
- Bakterien als Verursacher von Enteritiden wahrscheinlicher im Sommer, nach Auslandsaufenthalten, bei mehr als 10 Darmentleerungen/24 h und bei Kindern, die älter sind als 3 Jahre; bei Kindern unter 4 Jahren mit plötzlichem Beginn ohne Erbrechen, aber mit mehr als 4 Darmentleerungen pro Tag.
- Wässrige, unblutige (kein Leukozytennachweis im Stuhl) Diarrhöen, meist ohne Fieber oder abdominale Beschwerden: können durch alle Enteropathogene verursacht werden, jedoch vor allem durch enteropatho-

gene Viren, *Campylobacter* spp., *Clostridium*-perfringens-Toxin, *Giardia intestinalis*, *Cryptosporidium* spp., *Cyclospora cayetanensis*, enterotoxische *Escherichia coli* und *Vibrio cholerae* (Reiseanamnese)

Ursächliche Erreger entzündlicher Durchfälle sind in **Tab. 3.3** aufgeführt.

### Diarrhöen im Zusammenhang mit Auslandsaufenthalten

Während Viren für 50–70 % der hiesigen Diarrhöen ursächlich sind, werden 50–80 % der Reisediarrhöen durch Bakterien verursacht. Die häufigste Ursache sind enterotoxische *Escherichia coli*, die 20–50 % der bakteriellen Reisediarrhöen verantworten, in der Häufigkeit gefolgt von anderen pathogenen *Escherichia coli* sowie *Campylobacter*-, *Salmonellen*- und *Shigellen*arten, die jeweils einen Anteil von 5–15 % ausmachen. Seltener sind Non-Cholera-Vibrionen, *Aeromonas* spp. und *Plesiomonas* spp. für Reisedurchfälle verantwortlich. Wie zu erwarten, bestehen erhebliche saisonale und regionale Unterschiede. Aus den Tropen werden weder *Yersinien* noch enterohämorrhagische *Escherichia coli* importiert. Protozoen sind für weniger als 10 % der Reisedurchfälle ursächlich, müssen aber insbesondere bei chronischen, länger als 4 Wochen anhaltenden Durchfällen ausgeschlossen werden.

#### 3.3.2 Diagnostische Methoden

##### Viren

Generell können Viren durch Elektronenmikroskopie, Zellkultur oder den Nachweis spezifischer Antigene, z. B. mittels Enzymimmunassay oder Erkennung spezifischer RNA-/DNA-Sequenzen auf der Basis der Polymerasekettenreaktion (PCR), im Stuhl diagnostiziert werden. Der erstmalige Nachweis von Viren als Verursacher einer Gastroenteritisepidemie im Jahre 1969 gelang 3 Jahre später mittels Elektronenmikroskopie. Diese wird zum Virusnachweis vornehmlich in der Forschung verwendet, da nicht alle Viren in der Zellkultur wachsen; sie hat jedoch in der Routinediagnostik keine Bedeutung, u. a. weil ihre Sensitivität geringer ist als die anderer Verfahren. Die Zellkultur ist aufwendig, und bei unbekanntem Erreger sind verschiedene Kulturen erforderlich, um möglichst alle Viren zu erfassen. Die Identifizierung beginnt indirekt über die mikroskopischen Veränderungen der Zellen, um dann durch Elektronenmikroskopie, Bindung markierter spezifischer Antikörper oder Nachweis von spezifischen Antigenen oder Gensequenzen im Überstand komplettiert zu werden. Auch dieses Verfahren ist allerdings für die Routinediagnostik zu teuer und zu aufwendig. Der Nachweis virusspezifischer Antigene im Stuhl mittels Enzymimmunassay oder mittels immunchromatographischer Schnelltests ist einfach und schnell durchführbar, das Ergebnis liegt je nach Testverfahren innerhalb von Minuten bis 2 h vor. Diese Verfahren stellen daher die Methode der Wahl dar, deren Nachweisgrenze bei  $\geq 10^5$  Viren/ml Stuhl liegt. Sensitiver, spezifischer und bei zunehmender Verbreitung auch immer kostengünstiger sind

PCR-Verfahren zum Nachweis von Teilen des Virusgenoms (Nachweisgrenze: etwa  $10^2$  Viren/ml Stuhl).

Üblicherweise werden Antigennachweise mittels **ELISA** („enzyme-linked immunosorbent assay“) eingesetzt. Dabei sind folgende Aspekte zu berücksichtigen:

- Bei **Adenoviren** ist das Zielantigen ein für alle Adenoviren spezifisches Kapselprotein (Hexon), so dass nicht nur die enteritisverursachenden Adenovirustypen 40 und 41 erkannt werden. Entsprechend ist die zufällige Anwesenheit des Antigens bei Kolonisation der Atemwege mit anderen Adenovirustypen nicht zu differenzieren.
- Ein ELISA zum Nachweis von **Astrovirusantigen** erfasst alle humanpathogenen Serotypen.
- Als **Caliciviren** werden in der Literatur alle „small rounded structured particles“ bezeichnet, von denen die humanpathogenen den 2 Gattungen Noro- und Sapovirus zugeordnet werden. Caliciviren weisen wie Influenzaviren einen Antigen-Shift und einen Antigen-Drift auf. Entsprechend variiert der vorherrschende Antigentyp, so dass die Sensitivität von Antigennachweisverfahren erheblich schwanken kann. Noroviren (früher „Norwalk-like virus“) können bisher nicht kultiviert werden. Die nachgewiesenen Gensequenzen werden daher in ein Expressionssystem kloniert, das die Antigene exprimiert. Diese sind dann Grundlage der Antigennachweisverfahren. Die derzeit auf dem Markt befindlichen Antigen-ELISA-Methoden der 3. Generation sollen eine Sensitivität und Spezifität von  $>95\%$  im Vergleich zur PCR aufweisen. Während sie für epidemiologische Studien gut geeignet sind, wird für eine individuelle Diagnosestellung ein positives Ergebnis von mindestens 2 der 3 verfügbaren Verfahren – Antigentest, PCR und Elektronenmikroskopie – gefordert.
- Die Zielstruktur des **Rotavirus-ELISA** ist das Kapselprotein VP6, das Grundlage zur Differenzierung der 7 bekannten Serogruppen ist. Somit erfassen die Antigennachweisverfahren alle Rotaviren der Serogruppe A, die für die meisten Rotavirusinfektionen in Europa verantwortlich ist (Desselberger et al. 2006).

##### Bakterien

Die für die sog. **Lebensmittelvergiftungen** verantwortlichen Bakterientoxine von *Bacillus cereus* der *Bacillus-subtilis*-Gruppe sowie von *Staphylococcus aureus* (Enterotoxine) sind in Speisen präformierte Toxine, die mittels Antigennachweisverfahren in Nahrungsmitteln sowie ggf. in Erbrochenem detektiert werden. Unter Umständen, z. B. bei Antibiotikatherapie, kann das Überwuchern durch toxinbildende Bakterien wie *Clostridium perfringens* oder *Staphylococcus aureus* eine der *Clostridium-difficile*-assoziierten Diarrhö ähnliche Symptomatik bedingen. Während die Clostridientoxine mittels ELISA auch in Stuhlproben nachweisbar sind, müssen die Staphylokokken erst kultiviert und dann mittels Agglutinationstests oder PCR hinsichtlich Toxinbildung untersucht werden.

Bakterielle Enteritiserreger werden üblicherweise über die **kulturelle Anzucht** mit nachfolgender biochemischer,

immunologischer und/oder molekularbiologischer sowie zunehmend auch lasergestützter (Maldi-tof) Identifizierung nachgewiesen. Da die verschiedenen pathogenen Bakterien unterschiedliche Nährstoffansprüche und Temperaturoptima haben, reicht ein Nährmedium oder eine gewählte Inkubationstemperatur keinesfalls aus, um alle potenziell pathogenen Bakterien zu erfassen! Die Nachweisrate von Salmonellen kann durch einen Über-Nacht-Anreicherung der Stuhlprobe in Selenitbouillon erhöht werden, und angeblich verbessert eine nur kurzzeitige Anreicherung über 4–8 h den Nachweis von Shigellen. Obwohl bei Shigellen zur Auslösung einer Enteritis nur eine geringe Infektionsdosis erforderlich ist, sind sie ausgesprochen pH-empfindlich, d. h. wenn die Stuhlprobe nicht unmittelbar nach Entnahme kultiviert oder gepuffert wird, bleiben weniger als 50 % der Shigellosen kulturell beweisbar. Die Ausbeute an Yersinien kann durch eine bis zu 21 Tage andauernde Kälteanreicherung gesteigert werden; zudem werden die Spezialnährböden bei 30 °C bebrütet und nicht wie diejenigen zum Nachweis anderer Erreger bei 36 °C. Zum Nachweis von *Campylobacter* spp. benötigt man Spezialnährböden, die im Gegensatz zu anderen nicht bei Raumluft, sondern unter mikroaerophilen Bedingungen für mindestens 48 h bebrütet werden müssen.

Die verschiedenen durchfallverursachenden **Escherichia (E.) coli** wachsen auf herkömmlichen Nährmedien bei 36 °C – jedoch lassen sich ihre Kolonien von denen apathogener Verwandter morphologisch nicht differenzieren. Der außergewöhnliche Kenntnisgewinn zur Pathogenität diverser E.-coli-Stämme in den vergangenen Jahren konnte die Diagnostik leider nicht vereinfachen (Clarke et al. 2003; Servin 2005). Im Gegenteil, bisher wurden bei der Suche nach enterohämorrhagischen E. coli (EHEC) sorbitolhaltige Nährmedien verwendet, da sich die pathogenen Stämme durch eine Sorbitolfermentation von den übrigen Artgenossen unterscheiden. Allerdings zeigen nun neuere Daten, dass es auch nicht-sorbitolfermentierende EHEC-Isolate gibt (Friedrich et al. 2007). Wie beim Versuch, Isolate enteropathogener E. coli (EPEC) nachzuweisen, ist man daher in der Routine weiterhin auf den Nachweis spezifischer Oberflächenantigene durch Agglutination einzelner Kolonien angewiesen. Allerdings gehören EHEC nicht nur der O-Serogruppe 157 an, sondern können auch eines der diversen anderen Oberflächenantigene aufweisen. Der Nachweis einer für EHEC oder EPEC typischen O-Antigenengruppe stellt jedoch noch keinen Beweis für die Anwesenheit pathogener Isolate dar, weil es auch apathogene Vertreter dieser Serogruppe gibt. Es muss eine Subkultur angelegt werden, mit nachfolgendem molekularbiologischem Nachweis von Pathogenitätsfaktoren wie dem *eae*-Gen, das für die Bildung von Intimin kodiert. Die alleinige PCR-Diagnostik aus einer Stuhlprobe zum Nachweis von Pathogenitätsfaktoren wie dem *eae*-Gen ist allerdings nicht sensitiv genug – zudem gibt es apathogene Isolate, welche dieses Gen tragen können. Andererseits hat der EHEC-Ausbruch im Mai/Juni 2011 in Norddeutschland in eigenen vergleichenden Studien gezeigt, dass die Amplifikation von Zielsequenzen der Shiga-Toxin kodierenden Gene mittels PCR direkt im Stuhl das mit Abstand sensitivste und

schnellste Verfahren zum frühen Nachweis oder Ausschluss einer EHEC-Infektion ist (Bialek et al., unveröffentlichtes Manuskript; Robert Koch Institut 2011b).

Der Nachweis der anderen fakultativ pathogenen E. coli – enteroinvasive (EIEC), enterotoxische (ETEC), enteroaggregative (EAEC oder EaggEC) und diffus adhärierende (DAEC) E. coli – ist alles andere als banal und daher sehr kostenintensiv. Bei limitierter therapeutischer Konsequenz muss daher der von der Deutschen Gesellschaft für Hygiene und Mikrobiologie (DGHM) vorgeschlagenen Routinediagnostik (■ Tab. 3.2) bezüglich EHEC- und EPEC-Nachweis bei Kleinkindern mit Diarrhö widersprochen werden, um keine unnötigen Kosten zu verursachen. Die Suche nach EHEC sollte sich auf Kinder mit blutigen Durchfällen beschränken – Ausnahmen sind Ausbruchssituationen mit Empfehlung zur Durchführung von Suchtests bei jeglicher Art von Diarrhö. Die Suche nach EPEC im Stuhl von Kindern mit chronischen Diarrhöen sollten spezialisierte Laboratorien durchführen. Nach allen anderen pathogenen Varianten von E. coli sollte nur im Rahmen von Studien gesucht werden. Damit wird auch verhindert, dass bei der Routinediagnostik Bakterienisolate von Serogruppen mit möglicher Pathogenität nachgewiesen werden, was zur Meldung und zu Kontrolluntersuchungen trotz Beschwerdefreiheit führt.

➤ **Nur die Kombination aus Anzucht eines E. coli mit O-Antigenen einer Serogruppe mit bekannter Pathogenität und molekularem Nachweis bekannter Pathogenitätsfaktoren bei entsprechendem klinischen Bild erlaubt die Diagnose einer Durchfallerkrankung durch eine der genannten pathogenen Varianten von E. coli.**

Während bei Nachweis eines EHEC die Gabe von Antibiotika kontraindiziert ist, können bei anderen Varianten Antibiotika nach Antibiogramm eingesetzt werden, sofern eine zu erwartende Spontanheilung ausbleibt.

Einige Laboratorien führen routinemäßig einen ELISA zum Nachweis von **Verotoxin** durch, womit die in Deutschland seltenen *Shigella dysenteriae* (<5 % der hier nachgewiesenen Shigellen) und EHEC erfasst werden. Der Toxin-nachweis ist jedoch kein Beweis für eine Infektion mit einem E. coli 0157, da auch andere Serotypen dieses Toxin produzieren und Durchfall verursachen können. Die verschiedenen Oberflächenantigene werden immunologisch mittels Agglutinationsversuch der kultivierten Kolonien identifiziert. Auch dieses aufwendige, kostenträchtige Verfahren ist daher nur bei gezielter Fragestellung bei blutiger Diarrhö sinnvoll.

Andere pathogene Bakterien, die nicht zu den Enterobacteriaceae gehören, sondern zu den **Vibrionaceae** oder ähnlichen Arten (*Vibrio cholerae*, *Aeromonas* und *Plesiomonas* spp.) müssen über spezielle Nährmedien bzw. Identifizierungssysteme nachgewiesen werden. Üblicherweise wird nur bei gezielter Fragestellung danach gesucht.

➤ **Die bakteriologische Untersuchung mehrerer Stuhlproben kann die Nachweisrate pathogener Bakterien**

■ **Tab. 3.4** Intestinale Parasiten

Pathogenität	Parasiten
Humanpathogen	– Giardia intestinalis (Synonym: G. lamblia, G. duodenalis)
	– Entamoeba histolytica
	– Balantidium coli
	– Dientamoeba fragilis
	– Kokzidien: Cryptosporidium hominis, Cryptosporidium parvum und weitere Kryptosporidienarten Cystoisospora belli Cyclospora cayetanensis
Fakultativ pathogen	– Blastocystis hominis
Apathogen	– Jodamoeba bütschlii
	– Endolimax nana
	– Entamoeba dispar
	– Andere

erhöhen, da z. B. Shigellen sehr vulnerabel sind – aber üblicherweise werden 85 % der viralen und bakteriellen Verursacher einer Diarrhö mit der ersten Stuhlprobe identifiziert.

## Pilze

Der Nachweis von **Hefe- und Schimmelpilzen** im Stuhl ist nahrungsabhängig und hängt zudem von den Lagerungsbedingungen des Stuhls bis zur Diagnostik ab. Es fehlt bisher der Beweis, dass Pilze beim Immungesunden eine gastrointestinale Erkrankung verursachen, so dass weder qualitative noch quantitative Stuhlkulturen auf Pilze sinnvoll erscheinen. Bei Immunsupprimierten kann der Pilznachweis im Stuhl Hinweise auf die Gefährdung für bzw. auf die bereits stattgefundenen Ausbildung von invasiven Mykosen geben. Erreger endemischer Systemmykosen wie Histoplasma capsulatum können gastrointestinale Erkrankungen verursachen, insbesondere bei Immunsupprimierten, werden aber typischerweise in Biopsien mittels Histologie, PCR und / oder Kultur entdeckt. Die ebenfalls zu den Pilzen zählenden **Mikrosporidien**, insbesondere Encephalitozoon intestinalis und Enterocytozoon bieneusi, können bei Immunsupprimierten schwere Diarrhöen hervorrufen. Ihr Nachweis gelingt mittels Fluoreszenzmikroskopie von Stuhlproben oder Biopsien nach Färbung mit Stilbenfarbstoffen oder mittels Elektronenmikroskopie in Darmbiopsien sowie mittels PCR aus Darmbiopsien oder Stuhlproben. Eine gezielte Anforderung ist erforderlich.

## Parasiten

Intestinale Parasiten sind in ■ Tab. 3.4 aufgelistet.

Die vom Menschen ausgeschiedenen Protozoenstadien dienen der Übertragung, so dass sie üblicherweise umweltresistent und überwiegend als Zystenformen im Stuhl nachweisbar sind. Nur bei der **Amöbenruhr**, verursacht durch Entamoeba histolytica, finden sich temperatursensible Trophozoiten im

blutig-schleimigen Stuhl, die nur bei noch „warmer“ Stuhlprobe mikroskopisch nachweisbar und identifizierbar sind, so dass eine Probe entweder direkt im Labor entnommen werden sollte oder diese warm zu transportieren ist.

In allen anderen Fällen reicht der Transport bei Raumtemperatur aus, um ausgeschiedene Parasitenstadien mikroskopisch nachweisen zu können. Der Transport sollte umgehend erfolgen, aber selbst in mehrere Tage alten Proben lassen sich die sog. Dauerformen (Zysten) der Protozoen wie auch Wurmeier noch nachweisen – vorausgesetzt, die Stuhlprobe trocknet nicht aus. Bevorzugt wird die direkte Fixation einer entnommenen Stuhlprobe in gepuffertem Formalin, dies ist aber nicht unbedingt erforderlich. Üblicherweise werden bei Routineanforderungen Anreicherungen wie Sedimentations- oder Flotationsverfahren durchgeführt, die nach Färbung, z. B. mit Jod, den simultanen mikroskopischen Nachweis von Protozoen wie auch von Eiern der meisten humanpathogenen Helminthen ermöglichen. Mit dieser Methode nicht nachweisbar sind Dientamoeba fragilis, Kryptosporidien, Cyclospora spp. sowie Larvenstadien des Zwergfadenwurms Strongyloides spp. In der angloamerikanischen Literatur wird eine **Trichromfärbung** der nativen wie auch der angereicherten Stuhlprobe empfohlen, die den Nachweis aller humanpathogenen Protozoenarten ermöglicht; lediglich die Nachweisrate der fakultativ pathogenen Blastocystis hominis ist mit dieser Methode signifikant geringer.

Zum Nachweis von **Kryptosporidien** werden direkte Fluoreszenzverfahren eingesetzt sowie Antigennachweisverfahren mittels ELISA, wie sie auch für Amöben und Lamblien Anwendung finden. Die Antigennachweisverfahren sind hinreichend sensitiv und spezifisch – jedoch lassen sich weitgehend asymptomatische Ausscheider von Zysten von Entamoeba histolytica und Lamblien, die als Infektionsquelle anzusehen sind, nicht sicher erfassen, da üblicherweise Trophozoitenantigene mit dem ELISA nachgewiesen werden.

Eine Differenzierung zwischen *Entamoeba histolytica* und der immer apathogenen *Entamoeba dispar* ist allein aufgrund der mikroskopischen Morphologie unmöglich, so dass bei entsprechender Fragestellung eine PCR empfohlen wird. PCR-Verfahren werden auch zum Nachweis der schwer diagnostizierbaren *Dientamoeba fragilis* und von Lamblien eingesetzt. Damit kann die Nachweisrate der gelegentlich für chronische Diarrhöen und abdominalen Beschwerden ursächlichen *D. fragilis* signifikant erhöht werden. Vergleichende parasitologische Untersuchungen zeigen, dass trotz Mikroskopie und Antigen-nachweisverfahren mehrerer Stuhlproben nur etwa 60 % der Parasiten gefunden werden, deren spezifische DNA mittels PCR im Stuhl nachweisbar ist. Bei Zunahme der Anbieter spezifischer PCR-Verfahren zum Nachweis von Parasiten-DNA sinken auch die Kosten, so dass die PCR auch in der parasitologischen Stuhl Diagnostik die Methode der Wahl werden wird.

Ausgeschiedene Wurmeier lassen sich mit den genannten Anreicherungsverfahren üblicherweise gut nachweisen. Ausnahmen stellen die Fadenwürmer der Gattung *Strongyloides* sowie *Enterobius vermicularis* dar. Bei der Zwergfadenwurminfektion werden Larven in nur geringer Anzahl ausgeschieden, die sich nur unzureichend anreichern lassen. Bei entsprechender Fragestellung, z. B. bei unklarer Eosinophilie und/oder perianaler *Larva currens*, sollten daher ergänzend **Strongyloideskulturen** angelegt werden. Aus den auf einen Nährboden platzierten Stuhlproben wandern die Larven bei Raumtemperatur aus. Da sie sich von Bakterien ernähren und diese transportieren, lassen sich ihre „Wanderwege“ anhand der entstehenden Bakterienstraßen nachweisen, an deren Ende sie mittels Lupenvergrößerung sichtbar werden. Alternativ oder ergänzend kann eine Anreicherung nach Baerman durchgeführt werden, die eine Mikroskopie der Larven nach Auswanderung aus einer Stuhlprobe vorsieht.

Weibliche **Oxyuren** legen ihre Eier perianal ab, so dass diese in Stuhlproben üblicherweise nicht nachweisbar sind. Empfohlen werden morgendlich vor dem Waschen perianal aufgeklebte transparente Klebestreifen, die nach Entfernen auf einen Objektträger aufgeklebt und mikroskopiert werden. Da es sich um infektiöse Stadien handelt, die wochenlang lebensfähig bleiben, kann man Bewegungen der in den Eiern liegenden Larven auch noch nach Tagen beobachten. Die Sensitivität dieser Methode beträgt etwa 50 % und sollte durch mindestens 3-malige Durchführung erhöht werden.

Zum Nachweis importierter Parasitosen wie der **Schistosomiasis**, bei der die adulten Würmer extraintestinal liegen, die Eier aber über den Darm ausgeschieden werden, setzt man die Immundiagnostik zum Nachweis spezifischer Antikörper im Serum als Suchtest ein.

Für die parasitologische Stuhl Diagnostik sind folgende Aspekte wichtig:

- Parasitenstadien werden intermittierend ausgeschieden, daher gelingt der Nachweis intestinaler Parasitosen mit nur einer Stuhlprobe lediglich in etwa 50 % der Fälle. Werden 3 Stuhlproben von verschiedenen Tagen untersucht, steigt die „Trefferquote“ auf über 95 %.
- „Warme“ Stuhlproben sind nur bei Verdacht auf Amöbenruhr erforderlich.

- Bei Verdacht auf Parasitosen sind die Präpatenzzeiten, also die Zeit von der Infektion bis zur Ausscheidung von Parasitenstadien, die bis zu 2 Monate betragen können, zu berücksichtigen.
- Bei Parasitosen, bei denen der Mensch „nur“ Zwischenwirt oder Fehlwirt ist, wie z. B. bei der Echinokokkose oder der Toxokariosis, kommt es nicht zur Bildung und damit nicht zur Ausscheidung von Nachkommen, so dass diese Parasitosen mittels Stuhl Diagnostik weder ausgeschlossen noch nachgewiesen werden können.

## 3.4 Stuhlanalysen

### H. Witt

Direkte und indirekte Testverfahren zur exokrinen Pankreasfunktion werden in ► Abschn. 3.9 (Pankreasfunktionsdiagnostik) dargestellt. Die Ursachenklärung einer akuten und insbesondere einer chronischen Diarrhö stellt eine Herausforderung dar. Anamnese und körperlicher Befund in Verbindung mit einer „Stuhlvisite“ sind der Grundstein für den gezielten Einsatz weiterer diagnostischer Maßnahmen. Zur Differenzierung organischer versus funktioneller Darmerkrankungen wie auch zur Unterscheidung zwischen osmotischer und sekretorischer Diarrhö können Stuhlanalysen einen hilfreichen Beitrag leisten. Die Fettsäureausscheidung im Stuhl ist in ► Abschn. 3.9, die Keimzahlbestimmung im Duodenalsaft in ► Abschn. 10.8 dargestellt.

### 3.4.1 Stuhlgewicht

In industrialisierten Ländern beträgt das tägliche mittlere Stuhlgewicht bei Erwachsenen 100–150 g (Bereich: 60–195 g/Tag); bei Säuglingen und Kleinkindern bis zu 10 g/kg Körpergewicht. Bei einem Stuhlgewicht von mehr als 200 g am Tag und mehr als dreimaligen täglichen Stuhlentleerungen spricht man von einer **Diarrhö**. Die Konsistenz ist dabei verringert oder flüssig und der Wassergehalt des Stuhls liegt über 80 %. Stuhlgewicht, -frequenz und -konsistenz sind abhängig von der Ernährung, von psychischen und von exogenen Faktoren wie Stress und Medikamenten. Bei ballaststoffreicher und insbesondere bei vegetarischer Ernährung kann das Stuhlgewicht bis zu 350 g täglich betragen.

Die Bestimmung des Stuhlgewichtes ist dann indiziert, wenn das Vorliegen einer echten Diarrhö bei Patienten mit vermehrter Stuhlfrequenz fraglich ist. Eine vermehrte Stuhlfrequenz bei normalem Stuhlgewicht (sog. falsche Diarrhö) ist kein Durchfall und findet sich u. a. beim Colon irritabile (s. auch „toddler's diarrhea“) sowie bei analer Inkontinenz oder Proktitis.

### 3.4.2 $\alpha_1$ -Antitrypsin-Clearance

Die Untersuchung dient der Diagnostik eines enteralen Eiweißverlustes, insbesondere der Abklärung einer **Hypoalbuminämie**.

**minämie** (nach Ausschluss von Leber- und Nierenerkrankungen). Da  $\alpha_1$ -Antitrypsin kein Nahrungsbestandteil ist und bei enteralem Verlust weder resorbiert noch nennenswert im Darmlumen abgebaut wird, eignet es sich als Parameter für einen intestinalen Eiweißverlust.

Die Stuhlsammlung erfolgt über 48 oder 72 h. Parallel dazu erfolgt eine Bestimmung der Serumkonzentration. Die Clearance wird analog zur Kreatinin-Clearance berechnet:

Stuhlvolumen  $\times$  Stuhlkonzentration : Serumkonzentration.

Erhöhte Werte finden sich bei:

- intestinalen Entzündungen wie M. Crohn und Colitis ulcerosa,
- bakteriellen Infektionen,
- Zöliakie sowie
- Lymphabflussstörungen (z. B. intestinale Lymphangiectasie).

Die Spezifität und vor allem Sensitivität des Tests sind nicht sehr zufriedenstellend. Eine normale Clearance schließt einen enteralen Eiweißverlust nicht aus. Die Clearance korreliert bei chronisch-entzündlichen Darmerkrankungen nicht mit der Krankheitsaktivität. Da  $\alpha_1$ -Antitrypsin bei einem pH-Wert  $<3$  rasch degradiert wird, wird eine exsudative Gastropathie nur nach vorangegangener Säuresuppression (Gabe eines Protonenpumpenhemmers) erfasst. Die Brauchbarkeit der Bestimmung aus einzelnen Stuhlproben anstatt aus Sammelstuhl wird kontrovers diskutiert.

### 3.4.3 Calprotectin und Laktoferrin

Calprotectin ist ein kalzium- und zinkbindendes Protein, das sich vorwiegend in neutrophilen Granulozyten findet, wo es 5 % des Gesamtproteins und 60 % des im Zytosol lokalisierten Proteins ausmacht. Laktoferrin ist ein eisenbindendes Glykoprotein, das in aktivierten neutrophilen Granulozyten gebildet wird. Bei Entzündungen und Tumoren des Darms gelangen aufgrund der gestörten mukosalen Barrierefunktion vermehrt Granulozyten in das Darmlumen, aus denen in der Folge Calprotectin und Laktoferrin freigesetzt und somit im Stuhl bestimmbar werden.

Beide Parameter können zur Differenzierung organischer versus funktioneller Darmerkrankungen sowie zur Diagnostik, Verlaufs- und Aktivitätsbeurteilung bei chronisch-entzündlichen Darmerkrankungen herangezogen werden. Eine Differenzierung zwischen verschiedenen Formen entzündlicher Diarrhöen, insbesondere zwischen Colitis ulcerosa, M. Crohn und invasiven Infektionen, ist jedoch nicht möglich.

Da beide Moleküle bei Raumtemperatur über mehrere Tage stabil sind, kann die Stuhlprobe über den normalen Postweg versandt werden. Bei längerer präanalytischer Lagerung empfiehlt sich für die Laktoferrin-Bestimmung ein Einfrieren der Probe. Die Bestimmung erfolgt mittels Enzymimmunoassay (ELISA). Zur Bestimmung des Calprotectins werden mo-

noklonale oder polyklonale Antikörper verwendet, wobei der monoklonale Test anscheinend eine höhere Spezifität aufweist. Die Referenzbereiche des Calprotectins sind ausgesprochen altersabhängig: Insbesondere Neugeborene zeigen 20-fach höhere Werte als Jugendliche.

### 3.4.4 Leukozyten im Stuhl

Die mikroskopische Bestimmung der Leukozyten im Stuhl dient der Diagnostik einer **invasiven Darminfektion** (Granulozyten bei E. coli und Shigellen) bzw. einer **chronisch-entzündlichen Darmerkrankung** (Lymphozyten). Der Test ist negativ bei endotoxinproduzierenden Keimen. Bei Salmonellen und Typhus sind Monozyten, bei eosinophiler Gastroenteritis Eosinophile nachweisbar.

➤ Die Qualität der Untersuchung ist jedoch stark von der Erfahrung des Untersuchers abhängig, so dass die Bestimmung zugunsten validerer Parameter wie Calprotectin und Laktoferrin häufig nicht mehr angefordert wird.

### 3.4.5 Stuhl-pH

Ein niedriger Stuhl-pH ist charakteristisch für eine **Malabsorption von Kohlenhydraten**. Die nicht resorbierten Zucker werden im Kolon bakteriell zu Laktat und kurzkettigen Fettsäuren vergärt. Folge ist ein vermehrter Stuhlgehalt an organischen Säuren und ein verminderter pH-Wert des Stuhls.

Bei Säuglingen, insbesondere bei Muttermilchernährung, finden sich niedrigere pH-Werte von bis zu 4,5. Bei älteren Kindern schwankt der pH-Wert zwischen 6,5 und 7,5. Der Stuhl-pH-Wert wird auf Station mit einem pH-Indikatorpapier oder im Labor mittels pH-Meter bestimmt. Jenseits des Säuglingsalters ist ein Stuhl-pH-Wert von  $<5,5$  pathologisch und kennzeichnend für eine Kohlenhydratmalabsorption.

### 3.4.6 Reduzierende Substanzen

Die Bestimmung reduzierender Substanzen (Clinitest-Tabletten) im Stuhl ergänzt die pH-Messung in der **Malabsorptionsdiagnostik**. Der Nachweis erfolgt semiquantitativ als Farbreaktion mittels Fehling-Probe, bei der Kupfersulfat zu Kupferoxid umgewandelt wird. Hierbei werden allerdings nur reduzierende Zucker wie Glukose, Galaktose, Fruktose, Laktose und Maltose erfasst, nicht aber nichtreduzierende Zucker wie Saccharose und Laktose oder Zuckeralkohole wie Sorbitol und Mannitol. Zur Bestimmung der Saccharose muss die Probe unter Zugabe von Salzsäure vorher kurz aufgekocht werden. Ein Wert von 0,5 % oder mehr gilt als pathologisch. Bei Neugeborenen, insbesondere bei gestillten, und bei Zustand nach Kolektomie sind jedoch Werte von 0,5 % oder höher beschrieben worden. Auch größere Mengen von Vita-

min C und Medikamente wie Penicilline oder Cephalosporine können falsch-positive, eine lange präanalytische Probenlagerung falsch-negative Ergebnisse verursachen.

### 3.4.7 Elektrolyte, Osmolalität und „osmotische Lücke“

Die Messung von Natrium und Kalium im Stuhl dient zur Berechnung der „osmotischen Lücke“, die zur Differenzierung von **sekretorischer und osmotischer Diarrhö** herangezogen wird. Bei der sekretorischen Diarrhö bewirken Elektrolyte die Wasserretention im Darmlumen, während bei osmotischer Diarrhö Nichtelektrolyte wie Kohlenhydrate die Wasserretention verursachen.

Die osmotische Lücke berechnet sich nach der Formel:

$$290 \text{ mOsm/kg} - 2 \times ([\text{Na}^+] + [\text{K}^+]).$$

Zur Berechnung sollte die geschätzte „normale“ Osmolalität von 290 mOsm/kg und nicht die gemessene herangezogen werden, da die Stuhlosmolalität im Sammelbehältnis sekundär durch fortgesetzte bakterielle Fermentation nicht resorbierter Kohlenhydrate rasch ansteigt.

Bei rein osmotischer Diarrhö beträgt die osmotische Lücke >125 mOsm/kg, bei rein sekretorischer Diarrhö <50 mOsm/kg.

### 3.4.8 Gallensäuren

Gallensäuren unterliegen dem enterohepatischen Kreislauf und werden zu über 90% aus dem terminalen Ileum wieder aufgenommen. Bei gestörter Resorption gelangen sie in den Dickdarm, in dessen Lumen sie von Darmbakterien verstoffwechselt werden. Folge ist ein **Gallensäureverlustsyndrom** mit Schleimhautreizung und chologener Diarrhö.

Erkrankungen, die das terminale Ileum betreffen wie z. B. der M. Crohn, können zu einer Störung der Gallensäurereabsorption führen. Oft ist auch die Aufnahme von Fetten und fettlöslichen Vitaminen vermindert.

Die Bestimmung der Gallensäuren im Stuhl dient der differenzialdiagnostischen Abklärung einer Diarrhö oder Steatorrhö bzw. dem Nachweis eines Gallensäureverlustsyndroms. Da die Analyse vorwiegend mittels chromatographischer Methoden erfolgt, wird sie jedoch nur in wenigen spezialisierten Laboren durchgeführt.

### 3.4.9 Okkultes Blut im Stuhl (Haemoccult-Test)

Der Test auf okkultes Blut im Stuhl (Haemoccult-Test) ist ein Suchtest auf **intestinalen Blutverlust**. Kleinere Blutmengen (1–2 ml/Tag) sind physiologisch im Stuhl zu finden. Die kommerziellen Test-Kits sind so ausgelegt, dass erst größere Mengen zu einem positiven Ergebnis führen.

➤ **Erfolgt der Blutverlust im oberen Gastrointestinaltrakt (Ösophagus, Magen), wird das Hämoglobin im Magen durch Salzsäure zu Hämatin umgewandelt, das mit dem Testbrief üblicherweise nicht erfasst wird.**

Es werden 3 Stuhlproben an hintereinander folgenden Tagen gesammelt. Der Testbriefnachweis beruht auf einer enzymatischen Farbreaktion, bei der Hämoglobin aufgrund seiner Pseudoperoxidaseaktivität Guajakharz zu einem blauen Farbstoff oxidiert. Hohe Dosen von Vitamin C können aufgrund ihrer antioxidativen Wirkung falsch-negative, rohe Fleischprodukte, Fisch sowie Früchte und Gemüse, die Peroxidasen enthalten (Bananen, Meerrettich, Radieschen, Rüben, Sellerie etc.) falsch-positive Ergebnisse bedingen.

Urinteststreifen sind ungeeignet zum Nachweis okkulten Blutes im Stuhl, da die Reaktion aufgrund des physiologischen intestinalen Blutverlustes stets positiv ausfällt.

In den letzten Jahren sind mehrere z. T. automatisierte immunologische Tests entwickelt worden, die im Vergleich zu den gujakbasierten Verfahren eine höhere Sensitivität und Spezifität aufzuweisen scheinen. Da fäkales Blut mittels spezifischer Antikörper gegen menschliches Hämoglobin nachgewiesen wird, haben oben aufgeführte Nahrungsmittel keinen Einfluss auf das Testergebnis.

## 3.5 Aktivitätsbestimmung der Disaccharidasen

*H. Y. Naim*

Neben der Bestimmung des pH-Wertes und dem Auffinden evtl. nicht gespaltener Disaccharide in Harn und Stuhl sowie dem H<sub>2</sub>-Atemtest (► Abschn. 3.1), die nur ein Indiz für eine Disaccharidasedefizienz sein können und sich eher als Screeningmethode eignen, dient die Bestimmung der Enzymaktivität der Glykosidasen aus Biopsieproben des Dünndarms als Mittel der Wahl, wobei verschiedene Methoden zur Verfügung stehen.

### 3.5.1 Messung der Enzymaktivität mittels Hochdruckflüssigkeitschromatographie („high pressure liquid chromatography“, HPLC)

Die Biopsieproben werden in Lysispuffer auf Eis homogenisiert und anschließend für eine Stunde inkubiert, um sämtliche Membranstrukturen der Zelle zu lysieren. Die zu untersuchende Disaccharidase, deren Enzymaktivität bestimmt werden soll, wird mit spezifischen Antikörpern und Protein-A-Sepharose gebunden sowie aus dem Gesamthomogenat isoliert und in 2 Teile gespalten. Der eine Teil dient zur Bestimmung der **Gesamtproteinmenge** in der Probe, was z. B. photometrisch nach der Methode von Bradford durchgeführt werden kann. Mit dem zweiten Teil wird die **enzymatische Aktivität** gemessen: Das an die Sepharose gebundene Enzym wird gewaschen und mit der zu hydrolisierenden Substrat-

lösung versetzt. Dem Enzym wird dann ausreichend Zeit gegeben, das entsprechende Substrat zu hydrolysieren (Saccharase-Isomaltase spaltet z. B. das Disaccharid Saccharose zu Glukose und Fruktose). Dabei muss ein Substrat-Blank mitlaufen, um den Grundgehalt an den Monosacchariden in der Substratlösung zu bestimmen. Die Reaktion wird mit Dimethylsulfoxid-(DMSO-)Eisessig abgestoppt und anschließend mit einem entsprechenden Fließmittel auf eine HPLC-Säule gegeben. Unter Berücksichtigung der Gesamtproteinmenge und aus der Gesamtzunahme des Glukosegehalts gegenüber dem Substrat-Blank kann man dann die enzymatische Aktivität des Disaccharids ableiten.

### 3.5.2 Photometrische Bestimmungen der Enzymaktivität

Eine erste Möglichkeit besteht in der Probenaufbereitung entsprechend derjenigen bei der HPLC. Dabei misst man bei dieser Methode aber den Gehalt an **Glukose** indirekt. Die aus der Enzymreaktion entstandene Glukose wird mittels ATP und Hexokinase phosphoryliert. Die Produkte dieser Reaktion sind Glukose-6-Phosphat und ADP. Glukose-6-Phosphat wird anschließend in Gegenwart von NADH durch Glukose-6-Phosphat-Dehydrogenase zu Glukonat-6-Phosphat oxidiert, wobei andere Kohlenhydrate nicht oxidiert werden. Die Geschwindigkeit der NADPH-Zunahme ist direkt proportional der Glukosekonzentration und wird photometrisch gemessen.

Bei einer zweiten Möglichkeit wird folgendermaßen vorgegangen:

- Zunächst wird ein **Glukosestandard** mit Benzoesäure hergestellt, um die Proben mit 99 Teilen KCl zu homogenisieren (99 µl / mg Biopsat). Für die weitere Arbeit verwendet man vom Homogenat
  - 50 µl für die Aktivitätsbestimmung von Saccharase, Laktase und Trehalase sowie
  - 10 µl für die Aktivitätsbestimmung der Maltase (plus 40 µl H<sub>2</sub>O oder KCl).
- Anschließend gibt man zu der Probe 50 µl des entsprechenden Substrats hinzu (Substrat-Blank mitführen).
- Als weitere Schritte folgen:
  - Inkubation der Proben bei 37 °C für etwa 60 min, Abstoppen der Reaktion mit 900 µl H<sub>2</sub>O;
  - Kochen der Proben für 4 min bei 95 °C, anschließend Abkühlung;
  - Hinzufügung von 2 ml Glukoseoxidase zu den Proben und zu den Standards, Vermischung und Inkubation bei 37 °C, bis eine ausreichende Braunfärbung entsteht;
  - Abstopfung der Reaktion mit 2 ml 10 N HCl-Lösung und Vermischung;
  - nochmalige Inkubation für 10 min und Ablesen der Proben bei einer Wellenlänge von 530 nm in einem Photometer (Standard-Blank: 1 ml H<sub>2</sub>O).
- Die Extinktionen der Proben müssen im Bereich der Standardkurve liegen.

- Die Substrat-Blanks werden von den entsprechenden Proben abgezogen.
- Berechnung:
  - Das Ergebnis wird in Internationalen Einheiten (IE, entsprechend µmol hydrolysiertes Disaccharid / min) angegeben.
  - Zunächst wird eine Standardkurve gezeichnet, bei der die Menge an Glukose gegen die Extinktion aufgetragen wird.
  - Die Menge an Glukose in µg wird bei der Extinktion 1,0 abgelesen und in folgende Formel eingesetzt (dabei ist 198,2 das Molekulargewicht von Glukose, 60 die Inkubationszeit in Minuten und 1 das Probenvolumen in ml):

$$IE / ml = \frac{\text{Extinktion der Probe} \times \mu\text{g Glukose bei Extinktion } 1,0}{198,2 \times 60 \times 1}$$

- Für Maltase, Isomaltase und Trehalase muss „µmol Glukose / min“ durch 2 dividiert werden.
- Für Biopsien ist der Wert pro Gramm Mukosa umzurechnen.

## 3.6 Bestimmung von Entzündungsparametern und Autoantikörpern

### H. Witt

Von den vielen klinisch-chemischen Entzündungsparametern konnten sich nur wenige wie die Blutkörperchensenkungsgeschwindigkeit (BSG), das C-reaktive Protein (CRP) und das Interleukin 6 (IL-6) in der Routinediagnostik durchsetzen. Autoantikörper gegen Zell- und Gewebebestandteile sind in der pädiatrischen Gastroenterologie vor allem bei der Diagnostik der Lebererkrankungen (antinukleäre Antikörper, ANA; „smooth muscle antibodies“; SMA; „soluble liver antigen / liver pancreas antibodies“, SLA / LP-Antikörper; „liver kidney microsome type 1 antibodies“, LKM1-Antikörper) sowie der Zöliakie (Anti-Gewebetransglutaminase-Antikörper, t-TGA; Anti-Endomysium-Antikörper, EMA; Anti-Gliadin-Antikörper, AGA) von Bedeutung. Insbesondere bei der Antikörperdiagnostik bestehen deutliche Schwankungen in der Analysequalität, so dass die Bestimmung nur in Laboren erfolgen sollte, die sich an Qualitätsmaßnahmen wie Ringversuchen beteiligen.

### 3.6.1 Entzündungsparameter

Die **Blutkörperchensenkungsgeschwindigkeit (BSG)** ist abhängig von der Anzahl und Beschaffenheit der Erythrozyten sowie der Zusammensetzung des sie umgebenden Proteinmilieus. So ist die BSG bei Anämie infolge des niedrigeren Hämatokrits erhöht. Eine Vermehrung der Akute-Phase-Proteine oder der Immunglobuline beschleunigt die BSG,

da die Abstoßung benachbarter Erythrozyten aufgrund ihrer verringerten negativen Oberflächenladung reduziert ist. Die BSG ist als unspezifischer Suchtest und Verlaufparameter auf entzündliche Erkrankungen jedoch nur von Wert, wenn diese eine Dysproteinämie hervorrufen und den roten Blutzellstatus nicht wesentlich beeinflussen.

➤ **Zur Bewertung der BSG ist der Wert nach 1 h ausreichend, die Bestimmung des Wertes nach 2 h bringt keine zusätzliche Information.**

Das **C-reaktive Protein (CRP)** wird in der Leber nach Induktion durch Interleukin 6 (IL-6) gebildet. Erhöhte Werte finden sich bei bakteriellen und Pilzinfektionen sowie bei Autoimmun- und Tumorerkrankungen. Virale Infektionen führen überwiegend zu einer nur leichten Erhöhung. Bei Leberversagen oder -insuffizienz können die Werte falsch-niedrig ausfallen. Da die Kinetik des CRP-Anstiegs relativ träge ist und maximale Serumwerte erst nach 48–72 h erreicht werden, besteht eine diagnostische Lücke zwischen klinisch bereits symptomatischer Infektion und einer relevanten CRP-Erhöhung, die durch die Bestimmung des IL-6 geschlossen werden kann.

Das Zytokin **Interleukin 6 (IL-6)** ist ein Hauptmediator der Akute-Phase-Reaktion und steigt bei akuten Infektionen deutlich früher als das CRP an. Da die Bestimmung des IL-6 teurer als die des CRP ist, sollte sie bestimmten Fragestellungen wie der Frühdiagnose einer neonatalen Sepsis vorbehalten bleiben.

**Prokalzitonin (PCT)** ist ein unspezifischer Marker für schwere bakterielle oder mykotische Infektionen. Virale, autoimmun und lokale bakterielle Infektionen führen zu keiner oder nur einer leichten Erhöhung. Die Werte korrelieren relativ gut mit dem Schweregrad der Erkrankung. Da die Halbwertszeit ca. 24 h beträgt, eignet es sich zur Kontrolle des Therapieerfolgs. Aufgrund der hohen Analysekosten hat sich das PCT im klinischen Alltag wenig durchgesetzt.

Das auch als „Darm-CRP“ bezeichnete **Orosomucoid** (saures  $\alpha_1$ -Glykoprotein) ist zur Verlaufskontrolle des M. Crohn geeignet, da die Serumwerte gut mit der Krankheitsaktivität korrelieren. In der Routinediagnostik ist es allerdings entbehrlich.

### 3.6.2 Autoantikörper

#### Lebererkrankungen

Die bei autoimmuner Hepatitis (AIH) relevanten Autoantikörper sind mit Ausnahme der SLA zumeist unspezifisch und können auch bei Hepatopathien viraler oder medikamenteninduzierter Genese vorkommen. Der Nachweis erfolgt vorrangig mittels Immunfluoreszenzmethoden an Schnitten verschiedener Gewebe. Die AIH kann anhand ihre Autoantikörperprofils in zwei Subtypen eingeteilt werden: Bei der AIH vom Typ I finden sich ANA, AMA und/oder SLA/LP-Antikörper, während der Typ II durch LKM1-Antikörper definiert ist. Diese rein deskriptive Einteilung hat weder eine pathophysiologische Basis noch eine therapeutische Konsequenz.

➤ **Negative Autoantikörpertiter schließen eine AIH niemals aus. Es besteht keine Korrelation zwischen der Höhe der Antikörpertiter und klinischer Symptomatik. Bei Verdacht auf eine AIH sollten immer auch die Immunglobuline (Ig) im Serum (IgA, IgG und IgM) bestimmt werden.**

**Antinukleäre Antikörper (ANA)** richten sich gegen Bestandteile der Zellkerne und zeigen zahlreiche verschiedenartige Antigenspezifitäten (ssDNA, Sm, SSA, U1-nRNP etc.), die nur zum Teil charakterisiert sind. Positive ANA-Titer sind bei einer Vielzahl von Erkrankungen nachweisbar, insbesondere beim systemischen Lupus erythematoses (SLE) sowie bei der AIH. Niedrigtitrige ANA (< 1 : 80) sind meistens IgM-spezifisch und finden sich vornehmlich bei Gesunden, während hochtitrige ANA vorwiegend IgG-spezifisch sind.

**Antikörper gegen glatte Muskulatur (SMA)** reagieren mit kontraktilen Elementen der glatten Muskulatur, insbesondere dem Aktin. SMA finden sich sehr häufig und sind wenig spezifisch.

**SLA/LP-Antikörper** („soluble liver antigen/liver pancreas antibodies“) besitzen eine sehr hohe Spezifität für eine AIH (99%), treten aber relativ selten auf.

**LKM1-Antikörper** („liver kidney microsome type 1 antibodies“) richten sich gegen den Zytochrom-P450-Enzymkomplex (CYP2D6). Sie lassen sich üblicherweise nur bei fehlenden ANA oder SMA nachweisen und definieren den Typ II der AIH.

**LC1-Antikörper** („liver cytosol type 1 antibodies“) reagieren mit Enzymen des Aminosäurestoffwechsels. Die Antikörper sind sehr spezifisch für die AIH und treten häufig bei Patienten auf, die positiv für LKM1-Antikörper sind.

**Antimitochondriale Antikörper (AMA)** richten sich gegen Bestandteile des Pyruvat-Dehydrogenase-Komplexes und werden in 9 verschiedene Typen (M1–9) unterteilt. AMA sind bedeutsam bei der Diagnostik der primär biliären Zirrhose (PBC), die im Kindesalter praktisch nicht vorkommt.

➤ **Bei der Diagnostik einer Autoimmunhepatitis muss beachtet werden, dass im Kindesalter Antikörpertiterstufen (ANA, SMA und LKM) von 1 : 20 bis 1 : 40 bereits als pathologisch gelten.**

#### Chronisch-entzündliche Darmerkrankungen

Die Bestimmung von Antikörpern (ANCA oder ASCA; s. unten) bei chronisch-entzündlichen Darmerkrankungen hat aufgrund mangelnder diagnostischer oder therapeutischer Konsequenzen keine wesentliche Bedeutung erlangt. Positive pANCA bei negativen ASCA sprechen für eine Colitis ulcerosa, während viele Patienten mit Colitis indeterminata negativ für beide Antikörper sind. Die Qualität der ANCA-Bestimmung und damit deren Sensitivität ist sehr laborabhängig.

**Antikörper gegen neutrophile Granulozyten (ANCA)** werden in cANCA (zytoplasmatisches Muster) und pANCA (perinukleäres Muster) eingeteilt. cANCA richten sich gegen

die Proteinase 3, pANCA gegen die Myeloperoxidase (MPO). Die Bestimmung erfolgt mittels Immunfluoreszenz oder Enzymimmunoassay (ELISA). pANCA finden sich gehäuft bei Colitis ulcerosa (60–80 %), aber auch bei primär sklerosierender Cholangitis (PSC) (ca. 80 %), AIH (ca. 70 %) und Vasculitiden. Bei hoher Sensitivität ist die diagnostische Spezifität somit gering.

**Antikörper gegen *Saccharomyces cerevisiae* (ASCA)** sind mit M. Crohn assoziiert (35–80 %), lassen sich aber auch bei Colitis ulcerosa (2–14 %), PSC (20 %) und AIH (20 %) sowie bei Gesunden (1–7 %) nachweisen. ASCA werden mittels ELISA nachgewiesen.

Vor Kurzem wurden Autoantikörper gegen das Glykoprotein 2 (GP2), das sich in den Zymogengranula des Pankreas findet, vermehrt bei Patienten mit M. Crohn beschrieben. Inwieweit dieser Parameter Eingang in die Routinediagnostik findet, wird die Zukunft zeigen.

### Zöliakie

Als Suchtest auf eine Zöliakie eignen sich sowohl Anti-Endomysium-(EMA)- als auch Anti-Gewebetransglutaminase-Antikörper (t-TGA), die eine vergleichbare Sensitivität und Spezifität aufweisen. Alle Antikörper lassen sich als IgA und IgG nachweisen, wobei die mukosalen IgA-Antikörper die größere Spezifität besitzen und somit vorrangig bestimmt werden sollten.

➤ **Da ca. 5 % der Patienten mit Zöliakie einen selektiven IgA-Mangel besitzen, ist immer auch das IgA im Serum zu bestimmen. Eine Bestimmung der Autoantikörper im Stuhl sollte nicht erfolgen. Bei positiven oder zweideutigen serologischen Befunden wird die Duodenalbiopsie zur Diagnosesicherung noch als unerlässlich eingeschätzt.**

**Anti-Gliadin-Antikörper (AGA)** richten sich gegen die alkohol-extrahierbare Fraktion des Weizenproteins Gluten und sind keine Autoantikörper im eigentlichen Sinne. AGA werden mittels ELISA bestimmt. IgG-AGA besitzen bei Kindern eine hohe Sensitivität für eine Zöliakie bei geringer Spezifität (etwa 50 %), während IgA-AGA bei hoher Spezifität (92–97 %) eine geringere Sensitivität (52–100 %) aufweisen.

**Anti-Endomysium-Antikörper (EMA)** richten sich gegen die Gewebetransglutaminase und werden an Affenösophagusschnitten oder menschlicher Nabelschnur mittels indirekter Immunfluoreszenz nachgewiesen. EMA vom Typ IgA weisen eine sehr hohe Sensitivität (88–100 %) und Spezifität (91–100 %) auf, allerdings sind sie bei Kindern unter 2 Jahren weitaus weniger sensitiv. EMA werden zur Kontrolle der Diätcompliance eingesetzt.

**Anti-Gewebetransglutaminase-Antikörper (t-TGA)** erreichen nahezu die Sensitivität und Spezifität des EMA. Die Gewebetransglutaminase (t-TG2) wird bei Entzündung aus Zellen freigesetzt und modifiziert (deamidiert) Proteine, insbesondere Gliadine. Da t-TGA mittels ELISA gemessen werden, ist ihre Bestimmung weniger aufwendig und unabhängiger vom Untersucher, weshalb sie in der Routine zunehmend

die EMA verdrängen. Bei IgA-Mangel ist die Messung der weniger spezifischen t-TGA-IgG indiziert.

## 3.7 Leberfunktionstests

### H. Witt

In der Diagnostik hepatobiliärer Erkrankungen steht eine Vielzahl von Parametern zur Verfügung, die sich prinzipiell in Marker einer hepatozellulären Schädigung, einer Cholestase und der Synthesefunktion einteilen lassen und zum festen Repertoire in der Hepatologie gehören. Die quantitativen Leberfunktionstests und Parameter zur Erfassung des fibrotischen Umbaus der Leber haben sich hingegen bisher in der Routine wenig durchsetzen können.

Die klinisch-chemischen Kenngrößen zur Diagnostik von Lebererkrankungen sind in der folgenden ► Übersicht zusammengestellt.

#### Klinisch-chemische Kenngrößen zur Diagnostik von Lebererkrankungen

- **Initiale Diagnostik:**
  - Aminotransferasen (Aspartataminotransferase, ASAT; Alaninaminotransferase, ALAT)
  - Kreatinkinase (CK)
  - Alkalische Phosphatase (AP)
  - $\gamma$ -Glutamyltranspeptidase ( $\gamma$ -GT)
  - Bilirubin (gesamt und direkt)
  - Gallensäuren
  - Albumin
  - Immunglobuline
  - Aktivierte partielle Thromboplastinzeit (aPTT), Thromboplastinzeit (TPZ, Quick-Test)
  - Cholesterin, Triglyceride
- **Ergänzende Diagnostik:**
  - Glutamatdehydrogenase (GLDH)
  - Pseudocholinesterase (PCHE)
  - Gerinnungsfaktoren (Faktor V und VII)
  - Dynamische Leberfunktionstests
  - Serologische Fibrosemarker
- **Krankheitsspezifische Marker:**
  - $\alpha_1$ -Antitrypsin (inklusive genetische Diagnostik)
  - Coeruloplasmin
  - Kupfer im Urin (Penicillamintest)
  - $\alpha_1$ -Fetoprotein
  - Ferritin
  - Autoantikörper
  - Virologie
  - etc.

### 3.7.1 Leberzellschaden

Die „Transaminasen“ (ASAT und ALAT) sind die wichtigsten klinisch-chemischen Kenngrößen für eine hepatozelluläre Schädigung. Beide Parameter sind jedoch organunspezifisch und auch bei Skelettmuskelerkrankungen erhöht.

➤ Bei unklaren Transaminasenerhöhungen ist deswegen die Bestimmung der Kreatinkinase (CK) zum Ausschluss einer Muskelerkrankung obligat.

Die **Aspartataminotransferase (ASAT)**, auch als Glutamat-Oxalacetat-Transaminase (GOT) bezeichnet, ist ein ubiquitäres Enzym, das vor allem in den Mitochondrien und im Zytoplasma (Verhältnis ca. 4:1) von Herzmuskel-, Skelettmuskel- und Leberzellen zu finden ist. Die ASAT katalysiert die Übertragung der 2-Aminogruppe von Aspartat auf 2-Oxoglutarat unter Bildung von Glutamat und Oxalacetat. Nach Verletzung oder Zellnekrose tritt das Enzym in den Extrazellulärraum über und kann als Maß für eine Zellschädigung verwendet werden. Da die ASAT-Konzentration in den Erythrozyten ca. 40-fach höher ist als im Plasma, kann eine Hämolyse erhöhte ASAT-Werten bedingen.

Die **Alaninaminotransferase (ALAT)**, auch als Glutamat-Pyruvat-Transaminase (GPT) bezeichnet, findet sich vorwiegend in der Leber, kommt aber auch in Nieren, Herz, Skelettmuskel und anderen Organen vor. Das Enzym katalysiert die Übertragung der 2-Aminogruppe von Alanin auf 2-Oxoglutarat unter Bildung von Glutamat und Pyruvat. Intrazellulär ist das Enzym, im Gegensatz zur ASAT, überwiegend im Zytosol und nur zu einem geringem Teil in den Mitochondrien lokalisiert. Bei akuter Leberzellschädigung steigt die ALAT daher häufig vor der ASAT an.

Die **Laktatdehydrogenase (LDH)** ist ein tetrameres Enzym und kommt in 5 Isoenzymformen, LDH1–LDH5, vor. LDH1 und LDH2 finden sich vorwiegend in Erythrozyten, Myokard und Niere, LDH3 in der Lunge und in Granulozyten und LDH4 und LDH5 hauptsächlich in der Muskulatur, der Leber und der Milz. Die LDH ist ein im Zytosol lokalisiertes Enzym, das Milchsäure zu Brenztraubensäure oxydiert. LDH1 vermag im Gegensatz zu den anderen Isoenzymen 2-Oxobutyrat zu Hydroxybutyrat umzusetzen und ist als Hydroxybutyratdehydrogenase (HBDH) getrennt messbar. Neben Hepatopathien können Herz- und Skelettmuskelerkrankungen, Hämolyse, maligne Tumoren (insbesondere Leukämien und Lymphome), Epstein-Barr-Virus-(EBV-)Infektionen und Lungenerkrankungen zu einer LDH-Erhöpfung führen. Aufgrund der mangelnden Organspezifität und der im Vergleich zu den Transaminasen geringeren diagnostischen Sensitivität ist die LDH als Parameter hepatischer Erkrankungen entbehrlich.

Die **Glutamatdehydrogenase (GLDH)** ist ein weitgehend leberspezifisches Enzym, da ihre Aktivität in der Leber mindestens 10-fach höher als in anderen Organen ist. Enzymerhöhungen im Serum entstammen somit ausschließlich der Leber. Die GLDH katalysiert die NADH-abhängige Übertragung von Ammoniak auf 2-Oxoglutarat unter Bildung von

Glutamat und NAD. Die GLDH ist als mitochondriales Enzym ein Indikator der Parenchymzellnekrose. Zusammen mit der ASAT und ALAT gestattet die GLDH eine Abschätzung des Zelluntergangs und somit der Schwere des Leberschadens. Als genereller Suchtest auf eine Lebererkrankung ist die GLDH allerdings ungeeignet, da ihre diagnostische Sensitivität bei nur etwa 50 % liegt. Die Bestimmung der GLDH sollte bestimmten Fragestellungen wie der Beurteilung des Ausmaßes einer akuten Leberzellschädigung oder dem Verdacht auf eine Transplantatabstoßung vorbehalten bleiben.

### 3.7.2 Cholestase

Als Cholestaseparameter haben insbesondere die AP, die  $\gamma$ -GT, das Bilirubin und die Gallensäuren Bedeutung erlangt. Weitere Parameter wie die Leucinarylamidase (LAP) und die 5'-Nukleotidase konnten sich in der Routinediagnostik nicht durchsetzen.

➤ Jede Cholestase ist vergesellschaftet mit einer Dyslipoproteinämie, insbesondere mit einer Hypercholesterinämie und der Bildung atypischer Lipoproteine (Lipoprotein X).

Die **alkalische Phosphatase (AP)** ist ein ubiquitär vorkommendes, membrangebundenes Enzym, das in großer Menge im Skelettsystem, in der Niere, im Leberparenchym und in den Gallenwegsepithelien lokalisiert ist. Das Enzym spaltet Phosphatgruppen von einer Vielzahl von Substraten ab und besitzt ein Aktivitätsoptimum im alkalischen Bereich. Die Bestimmung der AP-Isoenzyme ist kosten- und zeitaufwendig und ist in Anbetracht der zahlreichen zur Verfügung stehenden hepatobiliären Parameter entbehrlich. Der Referenzbereich der AP ist aufgrund der vermehrten Freisetzung des Knochenisoenzym während des Knochenwachstums stark altersabhängig und liegt deutlich über dem Referenzbereich des Erwachsenenalters. Ein Zinkmangel kann an einer niedrigen AP-Aktivität erkennbar sein.

Die  **$\gamma$ -Glutamyltranspeptidase ( $\gamma$ -GT)** ist vornehmlich in Leber, Niere, Milz sowie in Gehirn, Dünndarm und Pankreas zu finden. Die im Serum nachweisbare Enzymaktivität wird allerdings nahezu ausschließlich durch die Leber bestimmt. Im Gegensatz zur AP wird die  $\gamma$ -GT weder im Muskel noch im Knochen gebildet und ist daher bei Erkrankungen dieser beiden Organsysteme nicht erhöht. Die  $\gamma$ -GT ist einer der sensitivsten Parameter einer Cholestase. Die Enzymerhöhung wird auf vermehrte, durch Gallensäuren vermittelte Ablösung des membranständigen Enzyms zurückgeführt. Der durch Medikamente (wie z. B. Phenobarbital und Phenytoin) sowie durch Alkoholabus bedingte Anstieg der  $\gamma$ -GT wird hingegen durch eine Enzyminduktion oder eine toxische Leberschädigung verursacht. Bei Früh- und Neugeborenen findet sich eine bis zu 10-fach höhere Enzymaktivität im Serum als im Erwachsenenalter.

**Bilirubin** entsteht zu 80–85 % aus dem Hämoglobinabbau überalterter Erythrozyten und zu 15–20 % aus dem Abbau anderer hämhaltiger Proteine, unter pathologischen

Bedingungen auch bei Reifungsstörungen der Erythrozyten im Knochenmark (ineffektive Erythropoese). Wegen seiner schlechten Löslichkeit liegt Bilirubin im Serum entweder an Albumin angelagert (indirektes oder unkonjugiertes Bilirubin) bzw. kovalent gebunden oder mit Glukuronsäure verestert vor (direktes oder konjugiertes Bilirubin). Im Serum Gesunder findet sich fast ausschließlich unkonjugiertes Bilirubin.

- **Eine konjugierte Hyperbilirubinämie bzw. eine Erhöhung des Anteil auf > 15 % des Gesamtbilirubins weisen auf eine hepatobiliäre Erkrankung hin und ist immer pathologisch. Insbesondere in der Neugeborenenperiode ist eine zügige Befundabklärung erforderlich.**

**Gallensäuren** werden in der Leber aus Cholesterin synthetisiert. Die tägliche Sekretion in das Duodenum beträgt etwa 30–60 mmol, wovon der größte Teil unverändert aus dem terminalen Ileum rückresorbiert wird. Nur ca. 1 mmol geht pro Tag über den Stuhl verloren. Die Messung der Gallensäuren im Blut stellt einen sensitiven Frühtest einer hepatozellulären Dysfunktion dar, zumal in seltenen Fällen eine Cholestase auch ohne Erhöhung des direkten Bilirubins einhergehen kann. Die Bestimmung erfolgt nüchtern und 2 h postprandial. Die Referenzbereiche sind abhängig von der Bestimmungsmethode und den Abnahmebedingungen (nüchtern niedriger als postprandial). Neugeborene weisen vierfach höhere Werte als Erwachsene auf, die im Laufe des ersten Lebensjahres auf adulte Werte abfallen.

### 3.7.3 Bestimmung der Syntheseleistung

Zur Bestimmung der Lebersyntheseleistung können die Spiegel Serumproteine wie Albumin, die Aktivität der Pseudocholesterinase (PCHE) und die Konzentrationen der Gerinnungsfaktoren herangezogen werden.

**Albumin** wird in den Hepatozyten synthetisiert. Mit einem Anteil von 60 % an der Gesamtproteinkonzentration im Plasma ist es das wichtigste Protein zur Aufrechterhaltung des kolloidosmotischen Drucks. Albumin besitzt eine Halbwertszeit von etwa 20 Tagen. Eine Leberzirrhose verursacht durch eine verminderte Synthese wie auch Verluste in den „dritten Raum“ (gestörte Verteilung bei Aszites durch das erhöhte Verteilungsvolumen) eine Hypoalbuminämie. Es besteht keine Korrelation der Leberfunktion mit der Albuminkonzentration. Proteinmangelernährung, Entzündungen („negatives“ Akute-Phase-Protein) und Verluste über den Darm, die Haut oder die Nieren (nephrotisches Syndrom, Verbrennungen, exsudative Enteropathie) bedingen ebenfalls eine Hypoalbuminämie. Von einer echten Hypoalbuminämie lässt sich die Pseudohypoalbuminämie als Folge von Störungen des Flüssigkeitshaushaltes mittels Hämatokritbestimmung abgrenzen.

Im Gegensatz zum Albumin sind die **Immunglobuline** bei Leberzirrhose aufgrund der verminderten hepatischen Clearance erhöht. Hohe Werte finden sich insbesondere bei der Autoimmunhepatitis.

Die Synthese der **Pseudocholesterinase (PCHE)** ist in den Hepatozyten mit der des Albumins gekoppelt, so dass Albuminverluste (exsudative Enteropathie, nephrotisches Syndrom) eine PCHE-Erhöhung bedingen. Bei einer Synthesestörung aufgrund einer Leberschädigung findet sich hingegen eine gleichsinnige Erniedrigung von Albumin und PCHE. Da die PCHE eine starke interindividuelle Variation aufweist, ist die Aussagekraft der Einzelbestimmung oft begrenzt. Aufgrund der relativ geringen intraindividuellen Schwankungen eignen sich jedoch serielle Bestimmungen gut zur Verlaufsbeurteilung.

Mit wenigen Ausnahmen werden die plasmatischen **Gerinnungsfaktoren** in den Hepatozyten synthetisiert. Bei schwerem Leberparenchymschaden sind initial der Faktor VII und im weiteren Verlauf auch die meisten anderen Faktoren und Inhibitoren vermindert. Faktor VIII, der nicht in den Hepatozyten, sondern im retikuloendothelialen System gebildet wird, kann aufgrund des verminderten hepatischen Abbaus stark erhöht sein. Zur Überprüfung des Gerinnungsstatus bei Patienten mit Lebererkrankung sind initial die Globaltests wie die **Thromboplastinzeit (TPZ)**; Prothrombinzeit, PT; Quick-Test – exogenes System) und die aktivierte partielle **Thromboplastinzeit (aPTT)**; endogenes System) ausreichend. Da die Faktoren II, VII, IX, und X Vitamin-K-abhängig sind, kann eine Cholestase aufgrund verminderter Vitamin-K-Resorption auch ohne hepatozelluläre Schädigung zu pathologischen Veränderungen der Globaltests führen. Bei Vitamin-K-Mangel führt eine i.v. Gabe des Vitamins nach ca. 4 h zu einer Normalisierung der TPZ und der aPTT. Aufgrund der geringen Halbwertszeiten (HWZ) im Serum eignen sich der Faktor V (HWZ: 12–15 h) und insbesondere der Faktor VII (HWZ: 2–5 h) zur Verlaufskontrolle eines akuten Leberzellschadens.

### 3.7.4 Dynamische Leberfunktionstests

Die Testverfahren beruhen auf der Messung von Metaboliten oder der Messung der Elimination exogen zugeführter Substanzen, für deren Clearance die hepatische Metabolisierung von entscheidender Bedeutung ist. Für die meisten Tests existieren aber keine altersbezogenen Referenzwerte. Aufgrund der ausgeprägten interindividuellen Schwankungsbreite besitzen Einzelbestimmungen nur wenig Aussagekraft. Neben der Messung der Galaktoseelimination, dem Aminopyriminatemtest und dem MEGX-Test (s. unten) existieren eine Vielzahl weiterer Tests wie die Indocyanin-, Antipyrin-, Methionin- und die Coffein-Clearance. Das älteste Testverfahren, der Bromsulphthaleintest, wird aufgrund seiner schweren, z. T. letalen Nebenwirkungen nicht mehr eingesetzt.

Die **Galaktoseeliminationskapazität** ist ein Maß für die funktionelle Leberzellmasse. Galaktose wird überwiegend hepatisch metabolisiert. Die Galaktoseelimination wird entweder seriell aus der Konzentration im Serum nach oraler (40 g) bzw. i.v. Gabe (0,5 g/kg KG) oder bei Verwendung von <sup>13</sup>C-markierter Galaktose mittels <sup>13</sup>CO<sub>2</sub>-Messung in der Atemluft ermittelt. Der Test eignet sich als prognostischer Parameter beim akuten Leberversagen. Die Aussagekraft bei Patienten

mit Leberzirrhose ist hingegen beschränkt, da bis zu 30% falsch-normale Werte aufweisen.

Der **Aminopyriminatemtest** ermittelt die mikrosomale Metabolisierungskapazität der Leber.  $^{13}\text{C}$ -Aminopyrimin wird oral (2 mg/kg KG) verabreicht und in mehreren Schritten zu  $^{13}\text{CO}_2$  metabolisiert, das in der Atemluft quantitativ bestimmt werden kann. Da die N-Demethylase-Aktivität bei Geburt noch nicht ausgereift ist, werden Erwachsenenwerte erst zwischen dem 1. und dem 2. Lebensjahr erreicht. Medikamente, welche das Zytochrom-P450-System induzieren, wie Barbiturate, bedingen falsch-normale Befunde.

Der **MEGX-Test** misst die hepatische Metabolisierungsleistung. Das Antiarrhythmikum Lidocain wird in der Leber durch das Zytochrom-P450-System zu Monoethylglyncinylidid (MEGX) metabolisiert. Beim MEGX-Test wird über 2 min Lidocainhydrochlorid (1 mg/kg KG) i.v. verabreicht. Es erfolgt die Bestimmung der MEGX-Konzentration im Serum zu Testbeginn sowie 15 und 30 min nach Lidocaingabe. Werte unter 10 µg/l sind mit einer schlechten Prognose verbunden. Der MEGX-Test findet vor allem zum Monitoring nach Lebertransplantation Anwendung. Die prognostische Sensitivität für ein Transplantatversagen beträgt allerdings nur etwa 70%.

### 3.7.5 Fibrosemarker

Die histologische Untersuchung des Leberbiopsats ist weiterhin die Standarduntersuchung zur Beurteilung des Ausmaßes der fibrotischen Transformation wie auch für die indirekte Aktivitätsbeurteilung der Fibrogenese durch Abschätzung der entzündlichen Zellinfiltration. Da die Leberbiopsie zeit- und kostenintensiv sowie mit Risiken für den Patienten verbunden ist, wurde versucht, Surrogatmarker zur nichtinvasiven Diagnose und Verlaufskontrolle der Leberfibrose zu entwickeln. Hierbei werden entweder Konzentrationen von Produkten des Kollagenstoffwechsels wie die Propeptide des Typ-I-, Typ-III- oder Typ-IV-Prokollagens und das Typ-VI-Kollagen oder die Konzentrationen der Glykoproteine bzw. Glykosaminoglykane wie Laminin, Undulin oder Hyaluronan im Serum bestimmt. Alle diese Messungen sind jedoch relativ teuer und haben keinen nennenswerten Eingang in die Routinediagnostik gefunden. Vielversprechender erscheinen hier neue sonographische Methoden wie die transiente Elastographie (FibroScan).

## 3.8 Diagnostik von Maldigestion und Malabsorption

### H. Witt

Als Maldigestion bezeichnet man eine Störung der enteralen enzymatischen Aufspaltung von Nahrungsbestandteilen zu absorptionsfähigen Molekülen. Eine Maldigestion ist entweder durch einen luminalen Mangel an Pankreasenzymen oder Gallensäuren oder durch angeborene Enzymdefekte innerhalb der apikalen Darmmembran bedingt. Jede Maldigestion führt auch zu einer Malabsorption. Die Malabsorption ist definiert als eine man-

gelnde epitheliale Aufnahme von Nahrungsbestandteilen aus dem Darmlumen. Diese wird meistens durch einen Verlust resorptiver Darmoberfläche verursacht. Seltener führen angeborene Defekte membranständiger Transporter oder Störungen der intestinalen Blut- oder Lymphzirkulation zu einer Malabsorption. Sowohl Maldigestion als auch Malabsorption können generalisiert auftreten oder selektiv auf einzelne Nahrungsbestandteile beschränkt sein.

### 3.8.1 Xylosebelastungstest

Der Xylosebelastungstest kann bei Verdacht auf eine (**Kohlenhydrat-)-Malabsorption** angewendet werden. Das Monosaccharid Xylose wird größtenteils im proximalen Dünndarm resorbiert und unverändert renal ausgeschieden. Eine mangelnde Xyloseaufnahme ist ein Indikator für eine generalisierte Malabsorption. Die isolierte Funktionsverminderung von Disaccharidasen wie z. B. beim häufigen Laktase- oder dem seltenen Saccharase-Isomaltase-Mangel wird hierbei nicht erfasst.

Zur Durchführung des Xylosebelastungstests werden dem nüchternen Patienten 25 g Xylose mit 300 ml Wasser oral verabreicht. Anschließend erfolgt eine photometrische Bestimmung der Xylose im Serum 1 und 2 h nach Testbeginn bzw. beim Urintest aus dem über 5 h gesammelten Harn. Der Referenzbereich liegt für den Serumtest bei >21 mg/dl nach 1 h bzw. >30 mg/dl nach 2 h und für den Urintest bei >4 g in 5 h.

Erniedrigte Werte finden sich bei Erkrankungen des Duodenums und Jejunums, die mit einer Malabsorption einhergehen (z. B. Zöliakie). Eine stark beschleunigte Darmassage, eine bakterielle Überbesiedlung des Dünndarms, eine Niereninsuffizienz und unvollständiges Sammeln bzw. eine mangelnde Blasenentleerung können falsch-niedrige Werte bedingen.

Die histologische Untersuchung endoskopisch gewonnener Biopsate hat heute den Xylosetest weitgehend verdrängt. Insbesondere zur Diagnostik der Zöliakie ist der Xylosetest obsolet und durch histologische Untersuchung und Antikörperbestimmung (Gliadin, Endomysium, Gewebetransglutaminase) ersetzt worden. Ein normales Testergebnis schließt eine intestinale Malabsorption insofern nur teilweise aus, da Erkrankungen des Ileums nicht erfasst werden.

### 3.8.2 Laktosetoleranztest

Indikationen für einen Laktosetoleranztest sind der Verdacht auf eine Laktosemalabsorption und die Differenzialdiagnostik des Colon irritabile. Mit der Nahrung aufgenommene Laktose wird an der Bürstensaummembran des Dünndarms zu Glukose und Galaktose gespalten und resorbiert. Bei fehlender Resorption erfolgt erst im Dickdarm eine Spaltung der Laktose durch Bakterien. Dies bedingt eine osmotische Diarrhöe mit Blähungen und Bauchkrämpfen.

Zur Durchführung des Laktosetoleranztests werden dem nüchternen Patienten 2 g/kg KG (maximal 50 g) Laktose mit 400 ml Wasser oral verabreicht. Es erfolgt eine Bestimmung der Blutglukose vor Gabe sowie eine halbstündliche Messung bis 2 h nach Gabe. Eine weniger belastende Alternative stellt

der H<sub>2</sub>-Atemtest dar, bei dem der abgeatmete Wasserstoff gemessen wird (► Abschn. 3.1).

Als Referenzbereich wird ein Anstieg der Glukose von über 20 mg/dl im venösen Blut bzw. von über 25 mg/dl im Kapillarblut und beim Atemtest ein Anstieg der H<sub>2</sub>-Konzentration in der Atemluft von weniger als 20 ppm innerhalb von 120 min angegeben.

Pathologische Werte finden sich beim sog. erworbenen Laktasemangel des Adoleszenten bzw. Erwachsenen (adulte Hypolaktasie), der durch eine genetisch bedingte Rückbildung der Laktaseaktivität in der Dünndarmmukosa verursacht wird, beim seltenen angeborenen primären Laktasemangel sowie bei allen Dünndarmerkrankungen, die zu einer generalisierten Malabsorption führen (Zöliakie, chronisch-entzündliche Darmerkrankungen etc.). Eine stark beschleunigte Darmpassage führt zu falsch pathologischen Ergebnissen. Eine deutlich reduzierte intestinale Bakterienflora (z. B. nach Antibiotikatherapie) verursacht falsch-normale Resultate im Atemtest.

► **Da der Atemtest der sensitivste Parameter zur Erfassung einer Laktosemalabsorption ist, sollte er dem Serumtest vorgezogen werden.**

Bei positivem Testergebnis und entsprechender Klinik sollte ein diätetischer Auslassversuch erfolgen. Eine Bestimmung der Laktaseaktivität im Dünndarmbiopsat ist beim sog. erworbenen Laktasemangel nicht erforderlich. Die diagnostische Wertigkeit molekularbiologischer Methoden (Nachweis der -13910 C>T-Variation im Laktase-Gen: *LCT*, OMIM 603202) ist derzeit noch nicht abschließend geklärt, da der Genotyp nicht immer phänotypischen Symptomen entspricht.

### 3.8.3 Permeabilitätstests

Bei den sog. Permeabilitätstests wird die Urinausscheidung oral verabreichter, nicht metabolisierter Testsubstanzen gemessen. Sie stellt ein Maß für die Diffusion dieser Substanzen durch das intestinale Epithel und somit für die **intestinale Permeabilität** dar. Als Testsubstanzen werden vorwiegend Mono- und Oligosaccharide verwendet wie Saccharose, Mannitol und Laktulose. Saccharose dient dabei als Marker für die gastroduodenale Permeabilität, während der Quotient aus Laktulose/Mannitol (Permeabilitätsindex) die intestinale Permeabilität widerspiegelt. Für die meisten Tests gibt es keine alters- und geschlechtsbezogenen Referenzwerte. Zudem sind die Verfahren nicht standardisiert. Diese Tests finden ihre Anwendung vornehmlich bei wissenschaftlichen Fragestellungen und sind in der Routinediagnostik entbehrlich.

## 3.9 Pankreasfunktionsdiagnostik

H. Witt

Die exokrine Pankreasinsuffizienz ist definiert als funktionelle Einschränkung der Pankreassekretion mit daraus bedingter Ab-

nahme des Sekretvolumens wie auch der Konzentration an Bicarbonat und Verdauungsenzymen. Folge ist eine Maldigestion und eine Steatorrhö. Aufgrund der beträchtlichen exokrinen Reservekapazität treten klinische Symptome erst auf, wenn die Funktion um mehr als 90% der normalen Sekretionsleistung vermindert ist. Zur Beurteilung der exokrinen Pankreasfunktion stehen direkte Testverfahren, die die Pankreassekretion (Enzyme und Bicarbonat) unmittelbar erfassen, und indirekte Verfahren zur Verfügung, die über den Nachweis einer reduzierten Verdauungsfunktion (Maldigestion) einen Rückschluss auf eine verminderte Pankreassekretion erlauben. Keines der indirekten Testverfahren ist sensitiv genug, um eine leichte Funktionseinschränkung sicher zu diagnostizieren. Im klinischen Alltag ist nur die fäkale Elastase 1 von Bedeutung.

Die Untersuchungen zur Pankreasfunktionsdiagnostik sind in der nachfolgenden ► Übersicht zusammenfassend dargestellt.

#### Pankreasfunktionsuntersuchungen

- Direkte Tests
  - Sekretin-Cholezystokinin-Test
  - Lundh-Test
- Indirekte Tests
  - Bestimmung der fäkalen Elastase 1
  - Bestimmung der fäkalen Lipase
  - Bestimmung des fäkalen Chymotrypsin
  - Pankreolauryltest
  - Quantitative Stuhlfettbestimmung
  - Bestimmung der β-Carotin-Konzentration
  - <sup>13</sup>C-Atemtests

### 3.9.1 Direkte Pankreasfunktionstests

#### Sekretin-Cholezystokinin-Test

Sekretin stimuliert das Pankreas zur Sekretion von Bicarbonat und Wasser, während Cholezystokinin die Sekretion von Verdauungsenzymen stimuliert. Bei exokriner Pankreasinsuffizienz ist die Stimulierbarkeit erniedrigt, wobei die Enzymsekretion vor der Bicarbonatsekretion abfällt. Beim Sekretin-Cholezystokinin-Test werden nach 12-stündiger Nahrungskarenz Sekretin und Cholezystokinin (CCK) bzw. das CCK-Analogon Caerulein i.v. appliziert. Gleichzeitig wird das Pankreassekret mittels einer Duodenalsonde in mehreren Fraktionen über 1–2 h gesammelt und die Bicarbonat- und Pankreasenzymkonzentrationen (Amylase, Lipase und Trypsin) gemessen sowie die Sekretionsleistung berechnet. Der Referenzbereich ist abhängig vom Labor. Für das Kindesalter existieren keine Normalwerte.

Der Sekretin-CCK-Test gilt als der „Goldstandard“ der Pankreasfunktionsdiagnostik. Da er aber nicht standardisiert, belastend für den Patienten, sehr zeitaufwendig und somit in hohem Grade unwirtschaftlich ist, wird er kaum mehr durchgeführt. Da eine schwere exokrine Funktions-

einschränkung auch mit der fäkalen Elastase 1 erfasst wird und ein pathologisches Ergebnis bei leichtem bis mäßigem Funktionsverlust keine wesentlichen therapeutischen Konsequenzen nach sich zieht, ist der Sekretin-CCK-Test im klinischen Alltag entbehrlich.

### Lundh-Test

Grundidee des Lundh-Tests ist es, die Pankreasfunktion durch physiologische Stimulation mittels einer Testmahlzeit und nicht durch eine submaximale Stimulation wie beim Sekretin-CCK-Test zu ermitteln. Da für den Lundh-Test keine Referenzwerte existieren und er invasiv (Sekretsammlung über eine Duodenalsonde), zeitaufwendig und nicht standardisiert ist, gilt er als obsolet.

## 3.9.2 Indirekte Pankreasfunktionstests

### Bestimmung der Elastase-1-Konzentration im Stuhl

Die pankreatische Elastase 1 wird im Gegensatz zu Chymotrypsin während der intestinalen Passage nur wenig gespalten. Der Referenzbereich liegt bei  $>200 \mu\text{g/g}$  Stuhl (in den ersten Lebensmonaten niedriger). Normale Werte schließen eine exokrine Insuffizienz nicht aus.

➤ **Durchfallerkrankungen bedingen häufig falsch-pathologische Ergebnisse. Die diagnostische Spezifität ist gering. Die unkritisch angeforderte Bestimmung führt daher häufig zu kostenintensiven und den Patienten belastenden Untersuchungen.**

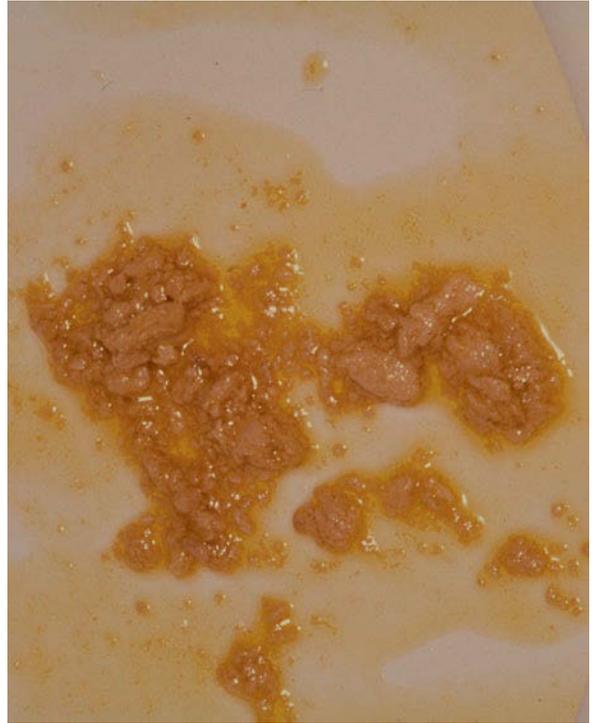
Auch die Sensitivität ist bei leichter und mäßiger Insuffizienz gering und erst bei einem schweren Funktionsverlust gut. Der Elastase-1-Test ist der Bestimmung der Chymotrypsinaktivität im Stuhl bezüglich Sensitivität und Spezifität überlegen. Er erfasst zudem nur das humane Enzym, so dass eine Enzymsubstitution vorher nicht abgesetzt werden muss.

### Bestimmung der Chymotrypsinaktivität im Stuhl

Die Sensitivität dieses Tests ist bei leichter und mäßiger exokriner Insuffizienz gering und auch bei schwerer Funktionseinschränkung allenfalls zufriedenstellend. Der Test hat den geringsten Stellenwert aller Pankreasfunktionstests und sollte nicht mehr angefordert werden.

### Pankreolauryltest in Serum und Urin

Beim Pankreolauryltest werden  $0,5 \text{ mmol}$  Fluoreszeindilaurat zusammen mit einem standardisierten Frühstück verabreicht. Die Substanz wird durch pankreatische Enzyme im Dünndarm gespalten und das frei werdende **Fluoreszein** resorbiert. Es erfolgt die photometrische Messung des Fluoreszeins im Serum oder Urin. Der Urintest wird zwei Tage später mit unverstärktem Fluoreszein wiederholt, dessen Urinausscheidung als Bezugsgröße dient.



■ **Abb. 3.6** Fettstuhl

Für den Urintest liegt der Referenzbereich bei einem Quotienten der Fluoreszeinexkretion am Test- und Kontrolltag von  $>30$ , für den Serumtest bei  $>1,5 \mu\text{g/ml}$  Fluoreszein nach 3,5 h. Da sowohl die Spaltung als auch die Absorption der Testsubstanz erfasst werden, finden sich auch bei Malabsorption erniedrigte Werte. Enzympräparate müssen 3 Tage vorher abgesetzt werden. Trotz seiner begrenzten Sensitivität und Spezifität gilt der Pankreolauryltest gegenüber der fäkalen Elastase 1 bei geringer und mäßiger Pankreasinsuffizienz als überlegen.

### Bestimmung der Fettausscheidung im Stuhl

Die Fettausscheidung im Stuhl dient zum Nachweis einer **Steatorrhö** (■ **Abb. 3.6**). Es wird Stuhl an 3 aufeinander folgenden Tagen in jeweils 24-h-Fractionen gesammelt. Bei der Messung der Fett-Clearance mit der Bestimmung des Absorptionskoeffizienten muss die Menge an Nahrungsfett (Diät mit mindestens 35 % Fett) berücksichtigt werden. Die Bestimmung erfolgt mittels Titrimetrie (Methode nach van de Kamer) oder „near-infrared reflectance analysis“ (NIRA).

Eine pathologische Fettausscheidung ( $>5 \text{ g/Tag}$ ) findet sich erst bei ausgeprägter Pankreasinsuffizienz. Diarrhö führt zu falsch erhöhten Werten, Sammelfehler und fettarme Kost zu falsch-negativen Befunden. Die Bestimmung stellt das einzige valide Verfahren zum Nachweis einer Steatorrhö dar, wird aber aufgrund der aufwendigen Präanalytik (korrektes Sammeln eines 72-h-Stuhls) selten durchgeführt.

### Bestimmung der $\beta$ -Carotin-Konzentration im Serum

Das  $\beta$ -Carotin im Serum stellt eine Alternative zur Stuhlfettbestimmung dar. Die Werte korrelieren reziprok, wenn auch sehr ungenau, mit der Fettausscheidung im Stuhl. Sensitivität und Spezifität sind begrenzt. Normale Werte schließen eine Steatorrhö nicht aus.  $\beta$ -Carotin ist ein genereller Malassimilationsmarker und sowohl bei Maldigestion als auch bei Malabsorption erniedrigt.

### Atemtests

Nach oraler Gabe von  $^{13}\text{C}$ -markierten Substanzen wie  $^{13}\text{C}$ -Triolein, die im Darm durch Pankreasenzyme gespalten werden, wird der prozentuale Anteil von  $^{13}\text{C}$ - $\text{CO}_2$  am Gesamt- $\text{CO}_2$  in der Atemluft gemessen (► Abschn. 3.1).  $^{13}\text{C}$  ist ein stabiles Isotop, es besteht keine Strahlenbelastung. Da die Sensitivität der derzeit verfügbaren Atemtests schlechter ist als die der Elastase 1 im Stuhl, ist ihr Stellenwert in der Pankreasdiagnostik gering.

## 3.10 Molekulargenetische Diagnostik

H. Witt

Im Jahre 1854 begann Johann Gregor Mendel (1822–1884) im Garten des Augustinerklosters zu Brünn seine Kreuzungsexperimente an der Gartenerbse. Als Mendel 1865 in zwei Vorträgen mit dem Titel „Versuche über Pflanzen-Hybriden“ seine Ergebnisse darstellte, traf er auf ein wohlwollendes, aber verständnisloses Publikum. Erst im Jahre 1900, also 16 Jahre nach Mendels Tod, entdeckten die Botaniker de Vries, Correns und Tschermak seine Ergebnisse wieder. Die aus seinen Experimenten abgeleiteten Mendelschen Regeln bilden bis heute die Grundlagen der Vererbungslehre und machten Mendel zum „Vater der Genetik“. Im Jahre 1944 identifizierten Oswald Avery und Mitarbeiter die Desoxyribonukleinsäure („deoxyribonucleic acid“, DNA) als Träger der genetischen Information und legten somit den Grundstock für die moderne Molekulargenetik. Im Jahre 1953 stellten Watson und Crick das Doppelhelixmodell der DNA auf. Die Entschlüsselung des genetischen Codes erfolgte 1961. Zwei technische Errungenschaften, die beide mit dem Nobelpreis ausgezeichnet wurden, haben die Bedeutung der Molekulargenetik und ihren Einsatz in der klinischen Diagnostik wesentlich geprägt. 1977 entwarf Frederick Sanger ein Verfahren, das es erlaubte, die Nukleotidsequenz einer DNA mittels chemisch modifizierter Basen zu ermitteln. Aber erst die von Kary B. Mullis im Jahre 1983 entwickelte Methode der enzymatischen DNA-Vervielfältigung mittels der Polymerasekettenreaktion (PCR) ermöglichte es, ausgewählte Genabschnitte zu vermehren und damit schnell, zuverlässig und kostengünstig zu untersuchen.

### 3.10.1 Molekulargenetische Nachweisverfahren

Grundsätzlich bestehen alle molekularen Untersuchungsmethoden aus drei Teilschritten:

- Nukleinsäureisolierung,
- Amplifikation,
- Nachweis des Produktes z. B. mittels Elektrophorese oder fluoreszenzmarkierten Hybridisierungssonden.

### Polymerasekettenreaktion (PCR)

Damit menschliche Gene auf Veränderungen (Mutationen) untersucht werden können, muss die entsprechende DNA in ausreichenden Mengen vorhanden sein. Bei der Polymerasekettenreaktion (PCR) werden ausgewählte DNA-Abschnitte in vitro (im Reagenzglas) enzymatisch vervielfältigt (amplifiziert). Anfang und Ende des zu amplifizierenden Abschnitts werden durch komplementäre bzw. umgekehrt komplementäre, einzelsträngige kleine DNA-Fragmente (Oligonukleotide oder Primer genannt) definiert, die sich an die 5'-Enden der Ziel-DNA anlagern. Durch periodische Temperaturveränderungen wird die DNA denaturiert und nach dem Anlagern der Primer („annealing“) durch eine DNA-Polymerase verlängert (Extension). Durch Wiederholung der Zyklen kommt es zu einer exponentiellen Vermehrung der Zielsequenz.

### Restriktionsfragmentlängenpolymorphismus (RFLP)

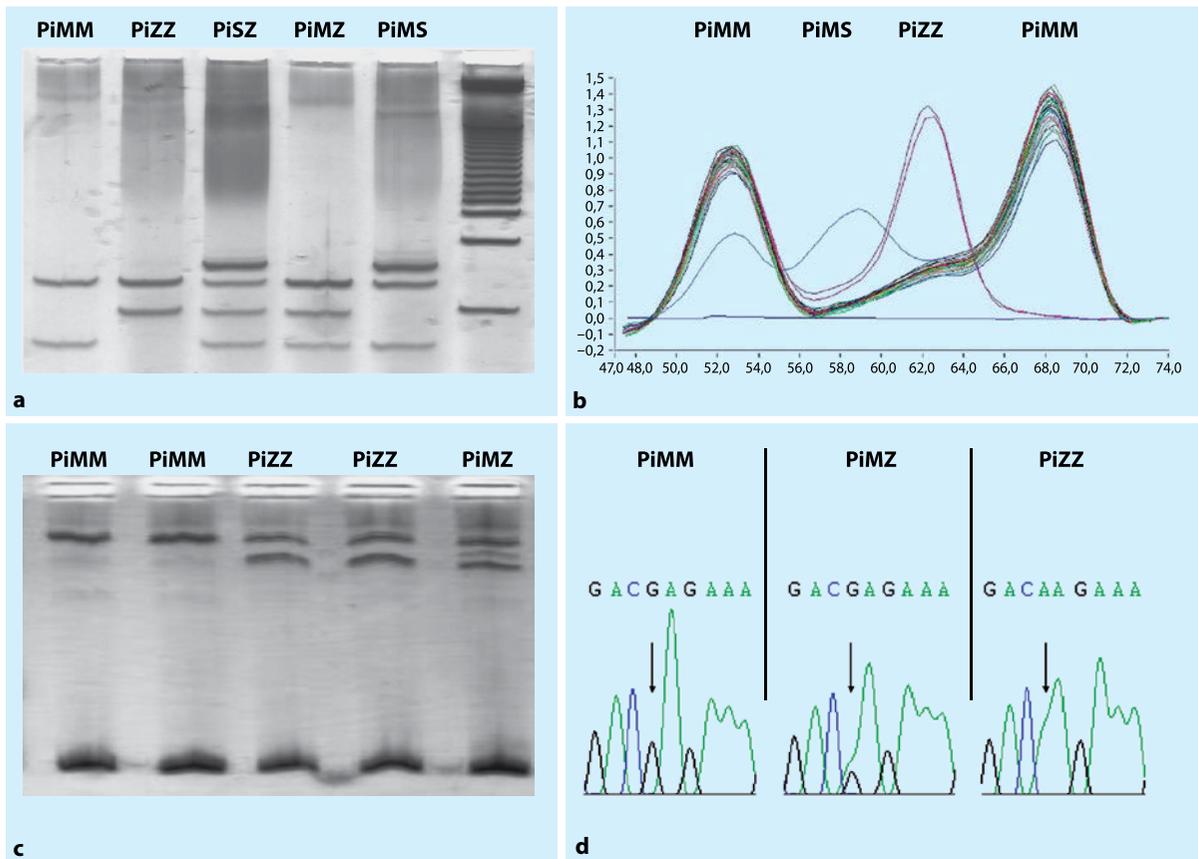
Restriktionsenzyme sind sequenzspezifische Endonukleasen, die DNA an genau definierten Stellen erkennen und schneiden. Eine Änderung in der DNA-Sequenz kann dazu führen, dass eine Erkennungsstelle neu entsteht oder verloren geht und somit unterschiedlich große Fragmente nach Enzymverdau entstehen. Abhängig von der Zahl der Schnittstellen entstehen unterschiedliche **Fragmentprofile**, die als Restriktionsfragmentlängenpolymorphismen bezeichnet werden. Bei elektrophoretischer Auftrennung der entstandenen DNA-Fragmente zeigt sich ein vom Wildtyp abweichendes Bandenmuster in Form von zusätzlichen oder fehlenden Banden (► Abb. 3.7a).

### Hybridisierungssonden

Bei der Schmelzkurvenanalyse werden die PCR-Produkte mit **fluoreszenzmarkierten Oligonukleotiden** („hybridisation probes“, FRET-Sonden) inkubiert, die sequenzspezifisch an die DNA binden. Wenn im Bereich der FRET-Sonde eine Punktmutation vorliegt, schmilzt die Sonde bei niedrigerer Temperatur vom PCR-Produkt ab, da die Sonde eine Basenfehlpaarung im Vergleich zum Wildtyp aufweist. Es entstehen somit allelspezifische Schmelzkurven (► Abb. 3.7b).

### Single-strand conformation polymorphism (SSCP)

Die SSCP-Analyse dient als **Screening-Methode für Mutationen**. Hierbei wird geprüft, ob sich thermisch denaturierte PCR-Produkte (Einzelstrang-DNA) gleicher Herkunft in der Laufgeschwindigkeit während einer Gelelektrophorese unterscheiden. So kann ein Basenaustausch, bedingt durch sequenzabhängige intramolekulare Basenpaarungen, zu einer unterschiedlichen räumlichen Konformation des DNA-Fragments führen. Diese Konformationsänderung kann die elektrophoretische Mobili-



**Abb. 3.7 a–d.** Genetische Nachweismethoden eines  $\alpha_1$ -Antitrypsinmangels. **a** Restriktionsfragmentlängenpolymorphismus (RFLP): Restriktionsenzymverdauung mit Taq I; **b**, fluorescence resonance energy transfer“ (FRET): Schmelzkurvenanalyse mittels fluoreszenzmarkierter allelspezifischer Hybridisierungs sonden am LightCycler; **c**, „single strand conformation polymorphism“ (SSCP): unterschiedliche Mobilität in der Gelelektrophorese aufgrund des Nukleotidaustausches; **d** DNA-Fluoreszenzsequenzierung. *PiM* Wildtypallel; *PiS*, *PiZ* Mangelallele

tät verändern und somit bei der Gelelektrophorese ein gegenüber dem Wildtyp unterschiedliches Bandenmuster erzeugen (Abb. 3.7c). Allerdings beträgt die Sensitivität dieser Methode nur ca. 70 %, so dass zunehmend die direkte DNA-Fluoreszenzsequenzierung zum Einsatz kommt.

### DNA-Sequenzierung

Mit der DNA-Sequenzierung lassen sich die **Basensequenz** eines DNA-Segmentes und darin enthaltene **Mutationen** exakt bestimmen. Das PCR-Produkt wird unter Zusatz von fluoreszenzmarkierten Dideoxynukleotiden linear vervielfältigt. Wird anstelle eines normalen Nukleotids ein Dideoxynukleotid eingebaut, bricht die Kettenverlängerung ab, da diese Nukleotide am 3'-C-Atom keine Hydroxylgruppe besitzen und somit eine weitere Verknüpfung mit anderen Nukleotiden nicht mehr stattfinden kann. Es entstehen Fragmente jeder Länge, deren fluoreszenzmarkierte endständige Basen und somit die Sequenz mittels elektrophoretischer Auftrennung und Photodetektion bestimmt werden können (Abb. 3.7d).

### 3.10.2 Probleme der genetischen Diagnostik

Durch die rasante technische Entwicklung molekulargenetischer Methoden gelang es in den letzten zwei Jahrzehnten, die **auslösenden Gene** vieler erblicher Erkrankungen zu identifizieren. Mit steigendem Wissen über die genetischen Grundlagen dieser Krankheiten war die Hoffnung verknüpft, künftig klinische Diagnosen durch genetisches Testen zu sichern oder auszuschließen.

Leider ist die Zahl der Erberkrankungen, die nur durch eine bestimmte oder wenige Mutationen bedingt sind, begrenzt. Beispiele hierfür sind der  $\alpha_1$ -Antitrypsin-Mangel oder das Shwachman-Diamond-Syndrom.

➤ **Bei den meisten Erkrankungen ist eine Vielzahl unterschiedlicher Mutationen beschrieben worden, welche die Diagnostik erheblich erschweren.**

Dies sei am Beispiel des **M. Wilson** verdeutlicht: In etwa 40 % aller Chromosomen deutscher Patienten mit M. Wilson findet sich eine bestimmte *ATP7B*-Mutation im Exon 14, H1069Q.

Patienten, die homozygot für diese Mutation sind, d. h. die auf beiden Allelen diese Mutation tragen, lassen sich mit relativ wenig Aufwand genetisch diagnostizieren. Allerdings sind nur knapp 20 % der Patienten mit M. Wilson homozygot für H1069Q. Die meisten Patienten sind somit gemischt heterozygot, d. h. sie besitzen unterschiedliche Mutationen auf beiden Allelen. Bislang wurden mehr als 300 *ATP7B*-Mutationen, die sich über den gesamten kodierenden Bereich des aus 21 Exons bestehenden Gens erstrecken, beschrieben. Allerdings ist die pathogenetische Bedeutung vieler dieser beschriebenen Mutationen bis heute unklar, da sie häufig nur in einer Familie nachgewiesen worden sind. Nicht selten lassen sich bei Patienten eine oder mehrere genetische Veränderungen finden, deren Beurteilung (krankheitsverursachend oder harmlose Variation) derzeit nicht möglich ist. Somit ist die Diagnose des M. Wilson weiterhin in den meisten Fällen eine klinische und keine genetische.

Da auch intronische Veränderungen pathogenetisch relevant sein können, aber aufgrund der Gengröße nicht untersucht werden, und größere Deletionen oder Insertionen prinzipiell nicht mit PCR-basierten Methoden wie SSCP oder DNA-Sequenzierung erfasst werden können, lassen sich auch bei kompletter Sequenzierung des *ATP7B*-Gens nicht bei allen Patienten beide Mutationen oder auch nur eine Mutation nachweisen. So vermag ein negatives genetisches Testergebnis einen M. Wilson niemals auszuschließen.

## Pränataldiagnostik

Die Pränataldiagnostik stellt eine wesentliche Indikation zur genetischen Diagnostik dar. Die Durchführung der Analysen ist allerdings nur dann sinnvoll, wenn bei den Eltern der Wunsch nach einem weiteren Kind besteht. Eine Pränataldiagnostik ist indiziert bei Erkrankungen, die als so schwerwiegend eingeschätzt werden, dass eine Beendigung der Schwangerschaft bei positivem Befund gerechtfertigt ist. Die Vorstellungen über den Begriff „schwerwiegend“ differieren allerdings bei Ärzten wie auch Eltern und Patienten erheblich. Aufgrund variierender Penetranz (Häufigkeit, in der sich ein genetischer Defekt im Phänotyp manifestiert) und/oder Expressivität (Grad der phänotypischen Ausprägung eines penetranten Defekts) ist die **Indikation** für eine Pränataldiagnostik bei vielen erblichen Erkrankungen wie z. B. dem  $\alpha_1$ -Antitrypsin-Mangel oder dem Alagille-Syndrom nicht unumstritten.

## Fehlerquellen

- **Eine genetische Analytik ist in ihrer Durchführung, der Befundinterpretation und -übermittlung in hohem Maße fehleranfällig.**

So zeigte eine Studie zur Qualität genetischer Diagnostik bei zystischer Fibrose, dass etwa ein Drittel der Laboratorien, die an der externen Qualitätskontrolle teilnahmen, eine oder mehr von 6 Proben fehlerhaft typisierten. Probenverwechslung, Tippfehler bei der Befundeintragung, fehlerhafte technische Ergebnisse (z. B. Kontamination mit fremder DNA, ungenügende Amplifikation in der PCR-Reaktion, unvollständige Enzym-

verdauung bei der RFLP-Analyse oder Signalunterdrückung bei der DNA-Fluoreszenzsequenzierung) sowie eine falsche technische Interpretation der erhobenen Daten können falsch-negative oder falsch-positive Befunde bedingen.

## Kostenaspekte

Da eine genetische Diagnostik keine vollautomatisierte Analytik darstellt, ist sie zeitaufwendig und somit kostenintensiv. Etlichen Erberkrankungen liegt eine Vielzahl unterschiedlicher Mutationen zugrunde, so dass Screeningmethoden wie die SSCP oder eine DNA-Sequenzierung für die genetische Diagnostik erforderlich sind. Wenn sich das entsprechende Gen aus zahlreichen Exons zusammensetzt und zudem die verantwortlichen Mutationen über weite Bereiche des Gens verstreut sind, können sich die Untersuchungskosten auf mehrere hundert bis mehrere tausend Euro belaufen.

- **So sollte die Indikation zu einer Genanalyse im klinischen Alltag streng gestellt werden.**

Insbesondere ist zu bedenken, dass in vielen Fällen ein genetischer Befund keine therapeutische oder präventive Konsequenz besitzt und somit mehr als „akademisch“ zu bewerten ist.

## Literatur

### Literatur zu Abschn. 3.1

- Braden B, Lembcke B, Caspary WF (2003) Nichtinvasive Funktionsdiagnostik aus der Atemluft mit  $^{13}$ C-Atemtests. Dtsch Arztebl 100: A3376–A3381
- Corazza GR, Menozzi MG, Stocchi A et al. (1990) The diagnosis of small bowel bacterial overgrowth. Gastroenterol 98: 302–309
- Jones HF, Burt E, Dowling K et al. (2011) Effect of age on fructose malabsorption in children presenting with gastrointestinal symptoms. J Pediatr Gastroenterol Nutr 52(5): 581–584
- Hauser B, De Schlepper J, Cavelliers V et al. (2006a) Variability of the  $^{13}$ C-acetate breath test for gastric emptying of liquids in healthy children. J Pediatr Gastroenterol Nutr 42: 392–397
- Hauser B, De Schlepper J, Salvatore S, Salvatoni A, Vandenplas Y (2006b) Variability of the  $^{13}$ C-octanoic acid breath test for gastric emptying of solids in healthy children. Aliment Pharmacol Therapeutics 23: 1315–1319
- Kindermann A, Demmelmeier H, Koletzko B et al. (2000) Influence of age on  $^{13}$ C-urea breath test results in children. J Pediatr Gastroenterol Nutr 30: 85–91
- Kyaw MH, Mayberry JF (2011) Fructose malabsorption: true condition or a variance from normality. J Clin Gastroenterol 45(1): 16–21.
- Lebenthal E, Rossi TM, Nord KS, Branski D (1981) Recurrent abdominal pain and lactose absorption in children. Pediatrics 67: 828–832
- Romagnuolo J, Schiller D, Bailey RJ (2002) Using breath tests wisely in a gastroenterology practice: an evidence-based review of indications and pitfalls in interpretation. Am J Gastroenterol 97: 1113–1126

### Literatur zu Abschn. 3.2

- Pilic D, Fröhlich T, Nöh F et al. (2011) Detection of gastroesophageal reflux in children using combined multichannel intraluminal im-

pedance and pH measurement: data from the German Pediatric Impedance Group. *J Pediatr* 158: 650–654

- Rommel N, Omari T (2011) Abnormal pharyngo-oesophageal function in infants and young children: diagnosis with high-resolution manometry. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 52 (Suppl 1): S29–30
- Vandenplas Y (2008) Esophageal pH and impedance measurement. In: Kleinmann R, Sanderson IR, Goulet O et al. (eds) *Walkers pediatric gastrointestinal disease*, 5th edn. Decker, Hamilton
- Vandenplas Y, Rudolph CD, Di Lorenzo C et al. (2009) Pediatric gastroesophageal reflux clinical practice guidelines: joint recommendations of the North American Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology, and Nutrition (NASPGHAN) and the European Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology, and Nutrition (ESPGHAN). *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 49: 498–547

### Literatur zu Abschn. 3.3

- Caspary WF, Kist M, Stein J (Hrsg) (2006) *Infektiologie des Gastrointestinaltraktes*. Springer, Berlin
- CDC (2004) Diagnosis and management of foodborne illnesses. *MMWR* 53: RR04
- Chen C-C, Chang C-J, Lin T-Y et al. (2011) Usefulness of fecal lactoferrin in predicting and monitoring the clinical severity of infectious diarrhea. *World J Gastroenterol* 17: 4218–4224
- Clarke SC, Haigh RD, Freestone PPE, Williams PH (2003) Virulence of enteropathogenic *Escherichia coli*, a global pathogen. *Clin Microbiol Rev* 16: 365–378
- Desselberger U, Wolleswinkel-van den Bosch J, Mrukowicz J et al. (2006) Rotavirus types in Europe and their significance for vaccination. *Pediatr Infect Dis J* 25 (Suppl 1): S30–S41
- Essers B, Burnens AP, Lanfrancini FM et al. (2000) Acute community-acquired diarrhea requiring hospital admissions in Swiss children. *Clin Infect Dis* 30: 192–196
- Friedrich AW, Zhang W, Bielaszewska M et al. (2007) Prevalence, virulence profiles, and clinical significance of Shiga toxin-negative variants of enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157 infection in humans. *Clin Infect Dis* 45: 39–45
- Gill CJ, Lau J, Gorbach SL, Hamer DH (2003) Diagnostic accuracy of stool assays for inflammatory bacterial gastroenteritis in developed and resource-poor countries. *Clin Infect Dis* 37: 365–375
- Kist M (2000) MiQ 9. Qualitätsstandards in der mikrobiologisch-infektiologischen Diagnostik: Infektionen des Darms. Urban & Fischer, München
- Klein EJ, Boster DR, Stapp JR et al. (2006) Diarrhea etiology in a children's hospital emergency department: a prospective cohort study. *Clin Infect Dis* 43: 807–813
- Lankisch PG, Mahlke R, Lübbers H, Lembcke B, Rösch W (2006) Leitsymptom Diarrhö. *Dtsch Arztebl* 103: A261–A268
- Mercado EH, Ochoa TJ, Ecker L et al. (2011) Fecal leukocytes in children infected with diarrheagenic *Escherichia coli*. *J Clin Microbiol* 49: 1376–1381
- Oleson B, Neimann J, Böttiger B et al. (2005) Etiology of diarrhea in young children in Denmark: a case-control study. *J Clin Microbiol* 43: 3636–3641
- Robert Koch Institut (Hrsg) (2011a) *Infektionsepidemiologisches Jahrbuch meldepflichtiger Krankheiten für 2010*. Robert Koch Institut, Berlin. [http://www.rki.de/cln\\_116/nn\\_2019956/DE/Content/Infekt/Jahrbuch/Jahrbuch\\_2010,templateld=raw,property=publicationFile.pdf/Jahrbuch\\_2010.pdf](http://www.rki.de/cln_116/nn_2019956/DE/Content/Infekt/Jahrbuch/Jahrbuch_2010,templateld=raw,property=publicationFile.pdf/Jahrbuch_2010.pdf). Zugriffen: 25. Februar 2012
- Robert Koch Institut (2011b) *Abschließende Darstellung und Bewertung der epidemiologischen Erkenntnisse im EHEC O104:H4 Ausbruch Deutschland 2011*. Robert Koch Institut, Berlin. [http://www.rki.de/cln\\_116/nn\\_205760/DE/Content/InfAZ/E/EHEC/EHEC-Abschlussbericht,templateld=raw,property=publicationFile.pdf/EHEC-Abschlussbericht.pdf](http://www.rki.de/cln_116/nn_205760/DE/Content/InfAZ/E/EHEC/EHEC-Abschlussbericht,templateld=raw,property=publicationFile.pdf/EHEC-Abschlussbericht.pdf). Zugriffen: 25. Februar 2012
- Servin AL (2005) Pathogenesis of Afa/Dr diffusely adhering *Escherichia coli*. *Clin Microbiol Rev* 18: 264–292
- Thielman NM, Guerrant RL (2004) Acute infectious diarrhea. *N Engl J Med* 350: 38–47
- Vernacchio L, Vezina RM, Mitchell AA et al. (2006) Diarrhea in American infants and young children in the community setting. Incidence, clinical presentation and microbiology. *Pediatr Infect Dis J* 25: 2–7
- Wilson ME (2006) *Clostridium difficile* and childhood diarrhea: cause, consequence, or confounder. *Clin Infect Dis* 43: 814–816

### Literatur zu Abschn. 3.4

- Castro-Rodríguez JA, Salazar-Lindo E, León-Barúa R (1997) Differentiation of osmotic and secretory diarrhoea by stool carbohydrate and osmolar gap measurements. *Arch Dis Child* 77: 201–205
- Fine KD, Schiller LR (1999) AGA technical review on the evaluation and management of chronic diarrhea. *Gastroenterology* 116: 1464–1486.
- Guittet L, Bouvier V, Mariotte N et al. (2007) Comparison of a guaiac-based and an immunochemical fecal occult blood test in screening for colorectal cancer in a general average-risk population. *Gut* 56: 210–214.
- Lundberg JO, Hellström PM, Fagerhol MK, Weitzberg E, Roseth AG (2005) Technology insight: calprotectin, lactoferrin and nitric oxide as novel markers of inflammatory bowel disease. *Nat Clin Pract Gastroenterol Hepatol* 2: 96–102
- Mao R, Xiao YL, Gao X et al. (2012) Fecal calprotectin in predicting relapse of inflammatory bowel diseases: a meta-analysis of prospective studies. *Inflam Bowel Dis*. doi: 10.1002/ibd.22861
- Tibble JA, Bjarnason I (2001) Non-invasive investigation of inflammatory bowel disease. *World J Gastroenterol* 7: 460–465

### Literatur zu Abschn. 3.6

- Czaja AJ, Norman GL (2003) Autoantibodies in the diagnosis and management of liver disease. *J Clin Gastroenterol* 37: 315–329
- Hill ID, Dirks MH, Liptak GS et al. (2005) Guideline for the diagnosis and treatment of celiac disease in children: recommendations of the North American Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 40: 1–19.
- Reumaux D, Sendid B, Poulain D et al. (2003) Serological markers in inflammatory bowel diseases. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 17: 19–35
- Roggenbuck D, Hausdorf G, Martinez-Gamboa L et al. (2009) Identification of GP2, the major zymogen granule membrane glycoprotein, as the autoantigen of pancreatic antibodies in Crohn's disease. *Gut* 58: 1620–1628

### Literatur zu Abschn. 3.7

- Afdhal NH, Nunes D (2004) Evaluation of liver fibrosis: a concise review. *Am J Gastroenterol* 99: 1160–1174
- Batres LA, Maller ES (2001) Laboratory assessment of liver function and injury in children. In: Suchy FJ, Sokol RJ, Balistreri WF (eds) *Liver disease in children*. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, pp 155–169
- Becker M (2003) *Krankheiten der Leber: Entwicklung und Funktion*. In: Lentze MJ, Schaub J, Schulte FJ, Spranger J (Hrsg) *Pädiatrie: Grundlagen und Praxis*. Springer, Berlin, S 940–947
- Schneider ARJ, Caspary WF, Stein J (2004) <sup>13</sup>C-basierte Atemtests in der Leberfunktionsdiagnostik. *Z Gastroenterol* 42: 269–275

### Literatur zu Abschn. 3.8

- Bjarnason I, MacPherson A, Hollander D (1995) Intestinal permeability: an overview. *Gastroenterology* 108: 1566–1581

- Craig RM, Ehrenpreis ED (1999) D-xylose testing. *J Clin Gastroenterol* 29: 143–150
- Fine KD, Schiller LR (1999) AGA technical review on the evaluation and management of chronic diarrhea. *Gastroenterology* 116: 1464–1486

#### Literatur zu Abschn. 3.9

- Chowdhury RS, Forsmark CE (2003) Pancreatic function testing. *Aliment Pharmacol Ther* 17: 733–750
- Löser C, Möllgaard A, Fölsch UR (1996) Faecal elastase 1: a novel, highly sensitive, and specific tubeless pancreatic function test. *Gut* 39: 580–586
- Siegmund E, Löhr JM, Schuff-Werner P (2004) The diagnostic validity of non-invasive pancreatic function tests - a meta-analysis. *Z Gastroenterol* 42: 1117–1128

#### Literatur zu Abschn. 3.10

- Dequeker E, Cassiman JJ (1998) Evaluation of CFTR gene mutation testing methods in 136 diagnostic laboratories: report of a large European external quality assessment. *Eur J Hum Genet* 6: 165–175
- Mullis KB, Faloona FA (1987) Specific synthesis of DNA in vitro via a polymerase-catalyzed chain reaction. *Methods Enzymol* 155: 335–350
- Orita M, Iwahana H, Kanazawa H, Hayashi K, Sekiya T (1989) Detection of polymorphisms of human DNA by gel electrophoresis as single-strand conformation polymorphisms. *Proc Natl Acad Sci USA* 86: 2766–2770
- Sanger F, Nicklen S, Coulson AR (1977) DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. *Proc Natl Acad Sci USA* 74: 5463–5467