

# Wissenschaft und Fortbildung

## Wasserstoff (H<sub>2</sub>)-Exhalationstests in der gastroenterologischen Funktionsdiagnostik — Apparative und methodische Aspekte

B. Lembcke, W. F. Caspary

Abteilung Gastroenterologie und Stoffwechsel, Zentrum Innere Medizin der Universität Göttingen (Direktor: Prof. Dr. W. Creutzfeldt)

### Zusammenfassung:

Mit Hilfe von H<sub>2</sub>-Atemtests lassen sich wichtige gastrointestinale Funktionen bzw. ihre Störungen (Kohlenhydratmalabsorption, intestinale Motilität, bakterielle Überbesiedlung des Dünndarmes) messen. Apparative und methodische Aspekte der Wasserstoff-(H<sub>2</sub>)-Exhalationsmessung als Grundlage der H<sub>2</sub>-Atemtests werden dargestellt.

Die gaschromatographische H<sub>2</sub>-Analyse liefert präzise Meßergebnisse; die Reproduzierbarkeit der diskontinuierlichen H<sub>2</sub>-Exhalationsmessung („Single-breath“-Technik) entspricht mit einem Variationskoeffizienten von  $6,2 \pm 1,2\%$  (SEM) etablierten klinisch-diagnostischen Analysen. Lagerung von H<sub>2</sub>-Exhalationsproben in Plastik-Perfusorspritzen führt zeit- und temperaturabhängig zur Verminderung der H<sub>2</sub>-Konzentration in den Proben; der Prozeß läßt sich durch eine Exponentialfunktion beschreiben und ist daher kalkulierbar.

### Schlüsselwörter:

H<sub>2</sub>-Atemtest — gaschromatographische H<sub>2</sub>-Analyse — Lagerung von H<sub>2</sub>-Exhalationsproben

### Summary:

Apparative and methodological aspects of breath hydrogen (H<sub>2</sub>) analysis tests as a newly developed diagnostic parameter of gastrointestinal function (carbohydrate malabsorption, small intestinal motility, bacterial overgrowth syndrome) are evaluated. H<sub>2</sub>-analysis by gaschromatography gives a precise measure of breath H<sub>2</sub> concentration. The reproducibility of the H<sub>2</sub> breath test with sequential H<sub>2</sub> analysis (single breath technique) is characterized by a coefficient of variation of  $6.2 \pm 1.2\%$  (SEM), and thus equals other routine laboratory techniques.

Storage of breath H<sub>2</sub> samples in plastic syringes reveals an exponential decline of H<sub>2</sub> concentration within the probes which is both time- and temperature-dependent.

### Keywords:

Breath hydrogen (H<sub>2</sub>) analysis test — H<sub>2</sub>-analysis by gaschromatography — Storage of breath H<sub>2</sub> samples

H<sub>2</sub>-Exhalationstests beruhen auf der Tatsache, daß die Darmflora bei der Metabolisierung von Kohlenhydraten naszierenden Wasserstoff (H<sub>2</sub>) freisetzt. Das Gas wird rasch resorbiert und in die Alveolarluft abgegeben (2). Da im Intermediärstoffwechsel des Menschen kein H<sub>2</sub> (als Gas) gebildet werden kann und H<sub>2</sub> in atmosphärischer Luft nur als Spurengas (0,00005%) existiert (16), weist ein Anstieg der

H<sub>2</sub>-Exhalation die intestinale H<sub>2</sub>-Produktion als Folge bakterieller Vergärung eines Substrates nach.

Neuere Untersuchungen haben gezeigt, daß H<sub>2</sub>-Exhalationstests eine wesentliche Bereicherung und Vereinfachung der gastroenterologischen Diagnostik bei der Erfassung einer Kohlenhydratmalabsorption (4, 11, 12, 13), der Bestimmung der Mund-

Tab. 1

**H<sub>2</sub>-Atemtests in der klinischen Diagnostik**

Nachweis einer Kohlenhydratmalabsorption

- Laktoseintoleranz
- Saccharose-Isomaltose-Intoleranz
- Glukose-Galaktose-Malabsorption
- Fruktosemalabsorption

Bestimmung der intestinalen Transitzeit

(Mund-Zökum-Transitzeit)

- Substrat: Laktulose

Hinweis auf bakterielle Überbesiedlung des Dünndarmes

- Substrat: Glukose, Laktulose

**H<sub>2</sub>-Exhalationsanalyse in der klinischen Forschung**

Messung der intestinalen Gasproduktion

Beeinflussung der Kolonflora durch Antibiotika

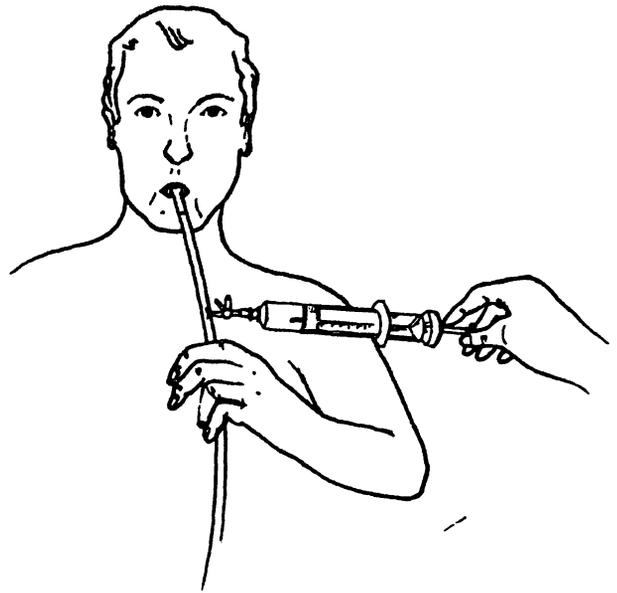


Abb. 1: Probengewinnung bei der diskontinuierlichen H<sub>2</sub>-Exhalationsmessung: Exhalation durch ein modifiziertes Haldane-Priestley-Atemrohr.

Am Ende der Expiration wird durch eine am oralen Schlauchende eingesetzte Plastik-Perfusorspritze ein Aliquot (mindestens 20 ml) der Alveolarluft asserviert. Die Probe kann direkt in den Gaschromatographen eingegeben werden

Zökum-Transitzeit (1, 4) und dem Nachweis einer bakteriellen Überbesiedlung des Dünndarmes (10, 14) darstellen (Tabelle 1).

Die vorliegende Untersuchung will daher, basierend auf den seit 1978 an der Medizinischen Universitätsklinik Göttingen mit der Methode gesammelten Erfahrungen, apparative und methodische Aspekte von H<sub>2</sub>-Exhalationstests vermitteln.

## Methodik

### Geräte

Das präzisere der beiden von uns verwendeten Geräte ist ein Pye-Unicam-series-204-Gaschromatograph mit Wärmeleitfähigkeitsdetektor (Säulentemperatur 66 °C, 10-Fuß-Glassäule, gefüllt mit 5 Å Molekularsieb (Serva, Heidelberg), Partikelgröße 200–250 µm); als Trägergas wird Argon verwendet (Flußrate 26 ml/min).

Das Gerät der Firma Quintron (model S) ist werksseitig für H<sub>2</sub>-Analysen adaptiert. Die Säulentemperatur ist vorgegeben, die Trägergasflußgeschwindigkeit (Argon) beträgt 18 ml/min.

### Durchführung von H<sub>2</sub>-Exhalationsanalysen

Die H<sub>2</sub>-Exhalationstests wurden mit der von Metz (9) beschriebenen Technik mit diskontinuierlicher („single breath“) Exhalation durch ein modifiziertes Haldane-Priestley-Rohr und Entnahme endexpiratorischer (alveolärer) Luftproben mittels einer handelsüblichen Perfusorspritze (Braun®, Plastipak®) durchgeführt (Abb. 1). Die Methode wurde anderen Techniken für klinisch-diagnostische Fragestellungen auf Grund ihrer Praktikabilität bei geringem materiellem Aufwand und hoher Empfindlichkeit (9) vorgezogen.

### Reproduzierbarkeit von H<sub>2</sub>-Exhalationsmessungen

In die für die klinische Praxis relevante Reproduzierbarkeit der mit der „Single-breath“-Technik ermittelten H<sub>2</sub>-Konzentration geht neben der Meßgenauigkeit auch der systematische Fehler der Probengewinnung ein. Daher wurde im Rahmen der klinischen Routine die Reproduzierbarkeit der Methode über mehrere Monate anhand von 31 Doppelbestimmungen der Nüchtern-H<sub>2</sub>-Exhalation beim Vorliegen einer H<sub>2</sub>-Konzentration der Proben von >10 ppm (parts per million) überprüft.

### Lagerfähigkeit der Proben

Zur Frage der Aufbewahrungsfähigkeit/Versandmöglichkeit von Atemluftproben in Plastik-Perfusorspritzen (50 ml), wie sie bei der „Single-breath“-Technik Verwendung finden, wurden 50-ppm-Standardproben (50 ml) bei 4°, 25° und 40 °C gelagert (Braun®-Perfusorspritzen) und die Abnahme der H<sub>2</sub>-Konzentration über 3 Wochen gemessen (Pye-Unicam-Gaschromatograph). Vergleichend wurde darüber hinaus die Lagerfähigkeit in Braun®- bzw. Plastipak®-Perfusorspritzen über einen Zeitraum von 10 Tagen unter Standardbedingungen (25° und 40 °C) untersucht.

## Ergebnisse

### Apparative Daten/Meßtechnik

Mit dem Pye-Unicam-(series 204)-Gerät waren H<sub>2</sub>-Analysen bis zu einer unteren Meßgrenze von 0,0001% (1 ppm) möglich, das Quintron-(model S)-Gerät war bis zu einer unteren Nachweisgrenze von 5 ppm einsetzbar.

Eichkurven beider Geräte sind in Abb. 2 dargestellt. Repetitive H<sub>2</sub>-Analysen (53-ppm-Standard) mit dem Pye-Unicam-Gaschromatographen ergaben einen Variationskoeffizienten von <1% (n = 20) für den Betrieb an einem Tag und einen Variationskoeffizienten von 1,1% (n = 47) für den Betrieb während eines Jahres. Der Tages-Variationskoeffizient des Quintron model S® betrug 3,3% (n = 12) für Analysen des 53-ppm-Standards.

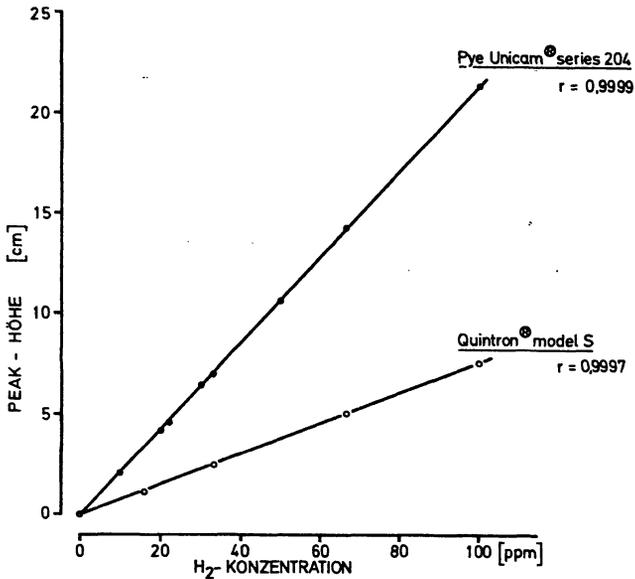


Abb. 2: Eichkurven der gaschromatographischen  $H_2$ -Analyse mit dem Pye-Unicam-series-204- (●—●) und dem Quintron-model-S-Gerät (○—○). Angegeben sind die Mittelwerte einer wechselnden Zahl (3–10) von Einzelmessungen. Die Berechnung der  $H_2$ -Konzentration erfolgte über die „Peak“-Höhe. Die verschiedenen  $H_2$ -Konzentrationen wurden unter Verwendung gasdichter Hamilton®-Spritzen (100  $\mu$ l, 1000  $\mu$ l) hergestellt, nachdem bei kommerziellen Prüfgasen erhebliche Abweichungen von der deklarierten Konzentration festgestellt wurden

Reproduzierbarkeit

Bei 31 Doppelbestimmungen mit der „Single-breath“-Technik ergab sich ein Variationskoeffizient von  $6,2 \pm 1,2\%$  (SEM) als Maß der Reproduzierbarkeit der Methode insgesamt ( $H_2$ -Konzentration der Proben > 10 ppm).

Lagerfähigkeit

Die Abnahme der  $H_2$ -Konzentration in Perfusorspritzen (Braun®, Melsungen) bei Aufbewahrung unter verschiedenen Temperaturbedingungen ist in Abb.3 dargestellt (Spritzenverschluß durch Pharmaseal®-Dreiwegehahn). Es wird deutlich, daß eine Aufbewahrung der Plastikspritzen über den Untersuchungstag hinaus in Abhängigkeit von der Umgebungstemperatur zu erheblicher Verminderung der  $H_2$ -Konzentration in den Proben führt.

Die vergleichende Untersuchung der Aufbewahrungsfähigkeit in Braun®- bzw. Plastikpak®-Perfusorspritzen (10 Tage) zeigt bei logarithmischer Auftragung (Abb.4), daß die Abnahme der  $H_2$ -Konzentration der Proben einer Exponentialfunktion mit der allgemeinen Gleichung  $c = c_0 \times e^{-\lambda \cdot t}$  gerecht wird. Die „Abklingkonstante“  $\lambda$  wurde aus  $\lambda = \frac{\ln 2}{t_{1/2}}$  nach graphischer Ermittlung von  $t_{1/2}$  für die in Abb.4 dargestellten Graphen errechnet; sie beträgt für beide Spritzentypen  $0,05 \text{ Tage}^{-1}$  (25°C) bzw.  $0,10 \text{ Tage}^{-1}$  (40°C).

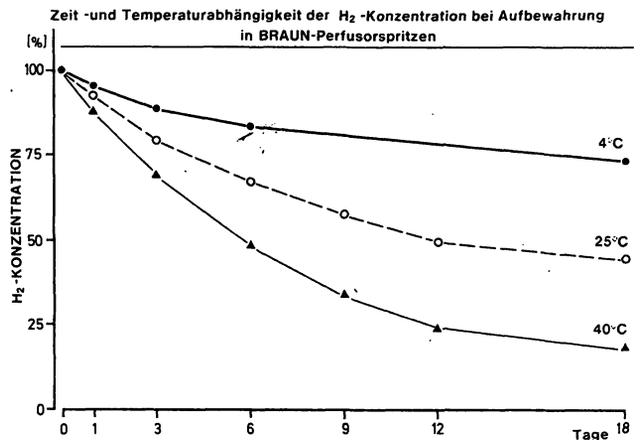


Abb. 3: Zeit- und Temperaturabhängigkeit der  $H_2$ -Konzentration bei Aufbewahrung in Braun®-Perfusorspritzen. (Angegeben sind die Mittelwerte einer wechselnden Zahl von Einzelmessungen; die Standardabweichung dieser Messungen lag unter 5%, so daß auf eine graphische Darstellung aus Gründen der Übersichtlichkeit verzichtet wurde)

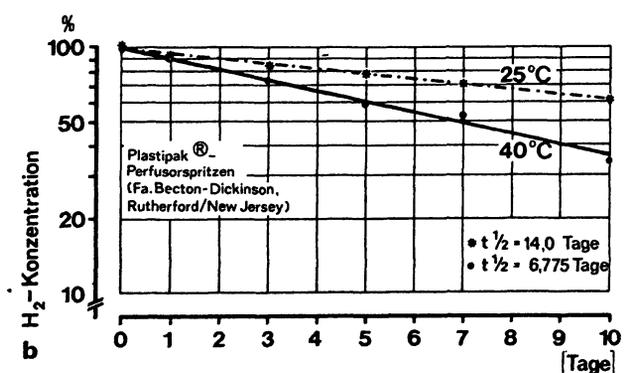
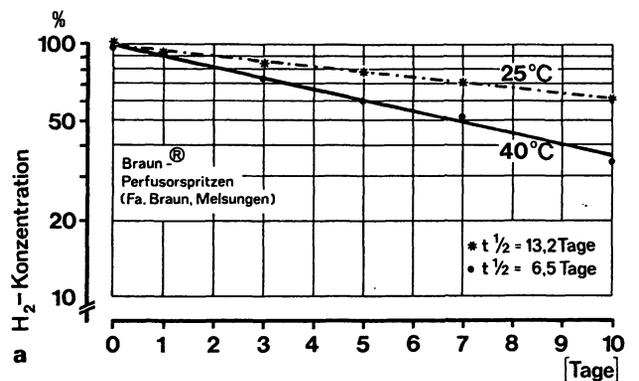


Abb. 4: Exponentielle Charakteristik der Abnahme der  $H_2$ -Konzentration in Braun®- bzw. Plastikpak®-Perfusorspritzen (logarithmische Auftragung). Relative Standardabweichung der Messungen < 4% (n = 3–10)

## Diskussion

Die zunehmende Bedeutung H<sub>2</sub>-atemanalytischer Untersuchungen im Rahmen der gastroenterologischen Funktionsdiagnostik war Veranlassung, in der vorliegenden Arbeit apparative und meßtechnische Erfahrungen der H<sub>2</sub>-Exhalationsanalyse sowie Untersuchungen zur Reproduzierbarkeit der Methode und Lagerfähigkeit von H<sub>2</sub>-Exhalationsproben mitzuteilen.

Für klinisch-diagnostische Fragestellungen (Tabelle 1) eignen sich bereits relativ preisgünstige Geräte, deren Meßgenauigkeit und Reproduzierbarkeit der des Quintron model S entsprechen (13, 15). Die Empfindlichkeit und Präzision des Pye-Unicam-series-204-Gaschromatographen entsprechen darüber hinaus den Anforderungen an H<sub>2</sub>-Exhalationsanalysen im Rahmen der klinischen Forschung (5, 7). Beide Geräte weisen in dem für die in Tabelle 1 aufgeführten diagnostischen Belange relevanten H<sub>2</sub>-Konzentrationsbereich (0–100 ppm) ein lineares (Wärmeleitfähigkeits-) Detektor-Antwortverhalten (Abb. 2) sowie große Meßgenauigkeit auf. Die mit der „Single-breath“-Technik gemessene endexpiratorische H<sub>2</sub>-Konzentration weist bei Analysen mit dem empfindlicheren Pye-Unicam-Gerät nach Daten von Metz und Mitarb. (9) einen Variationskoeffizienten (bei Doppelbestimmungen) von 11,6% auf. Nach unseren Daten liegt der Variationskoeffizient von Doppelbestimmungen mit dieser Technik beim Vorliegen einer H<sub>2</sub>-Konzentration von >10 ppm ( $6,2 \pm 1,2\%$  SEM) in einem mit äußerst empfindlichen radioimmunologischen Methoden vergleichbaren Bereich.

Unter den vorstehend genannten Bedingungen werden mit dem Quintron-model-S- vier, mit dem Pye-Unicam-series-204-Gerät acht Analysen/Std. durchgeführt. Als relativer Nachteil beider Meßsysteme ist die Ortsgebundenheit durch Abhängigkeit von einer adäquaten Trägergasversorgung (Argon) und durch apparative Anschlüsse (z. B. Schreiber) zu nennen, die die Bemühungen um eine einfache und mobile Methode der Gewinnung und gegebenenfalls Aufbewahrung von Exhalationsproben erklärt. Die vorliegende Untersuchung zeigt, daß eine Lagerung der Proben in Form von Perfusorspritzen, wie sie für die „Single-breath“-Technik Verwendung finden, über den Untersuchungstag hinaus mit deutlichen H<sub>2</sub>-Verlusten verbunden ist. Die durch eine Exponentialfunktion charakterisierbare Abnahme der H<sub>2</sub>-Konzentration ist darüber hinaus abhängig von der Lagerungstemperatur. Im Einzelfall mag daher der bei einer Versendung von Exhalationsproben auftretende Fehler die Sensitivität des H<sub>2</sub>-Exhalationstests beeinträchtigen; die vorliegende Untersuchung zeigt jedoch, daß eine Aufbewahrung der Proben unter konstanten Temperaturbedingungen (Labor) eine Rekalkulation der zum Zeitpunkt der Untersuchung bestehenden H<sub>2</sub>-Konzentration der Probe ermöglicht. Aufwendigere Verfahren, wie die Probensammlung in speziellen, multilaminaren Plastikbeuteln (3, 15) oder Aluminiumdosen (6), lassen eine längere Lagerung zu, sind aber für den klinisch-diagnostischen Bereich nicht praktikabel.

### Schrifttum:

1. BOND, J. H., LEVITT, M. D.: Investigation of small bowel transit time in man utilizing pulmonary hydrogen (H<sub>2</sub>) measurements. *J. Lab. Clin. Med.* 85, 546–555 (1975).
2. CALLOWAY, D. H.: Gas in the alimentary canal. In: Code, C. F. (Hrsg.): *Alimentary Canal*, Bd. V. Washington (Handbook of Physiology, section 6) p 2839–2859.
3. CALLOWAY, D. H., MURPHY, E. L.: The use of expired air to measure intestinal gas formation. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 150, 82–95 (1968).

4. CASPARY, W. F., LEMBCKE, B., LÜCKE, H.: H<sub>2</sub>-Analyse der Atemluft – wertvoller Test der gastroenterologischen Diagnostik bei Kohlenhydratmalabsorption und Bestimmung der intestinalen Transitzeit. *Verh. Dtsch. Ges. Inn. Med.* 85, 165–167 (1979).
5. GEARHART, H. L., BOSE, D. P., SMITH, C. A., MORRISON, R. D., WELSH, J. D., SMALLÉY, T. K.: Determination of lactose malabsorption by breath analysis with gas chromatography. *Analyt. Chem.* 48, 393–398 (1976).
6. HOWELL, J. N., VON DER FECHT, F., FLATZ, G.: Hydrogen breath test for lactose tolerance adapted to population screening. *Clin. Chim. Acta* 103, 229–231 (1980).
7. LEMBCKE, B., CASPARY, W. F.: Atemanalytische Funktionstests. In: Caspary, W. F. (Hrsg.): *Handbuch der Inneren Medizin*, Bd. „Dünndarm“ (im Druck).
8. LEMBCKE, B., CASPARY, W. F.: Unveröffentlichte Daten (1979).
9. METZ, G. L., GASSULL, M. A., LEEDS, A. R., BLENDIS, L. M., JENKINS, D. J. A.: A simple method of measuring breath hydrogen in carbohydrate malabsorption by end-expiratory sampling. *Clin. Sci. Molec. Med.* 50, 237–240 (1976).
10. METZ, G. L., GASSULL, M. A., DRASAR, B. S., JENKINS, D. J. A., BLENDIS, L. M.: Breath-hydrogen test for small-intestinal bacterial colonisation. *Lancet* i, 668–669 (1976).
11. METZ, G. L., NEWMAN, A., JENKINS, D. J. A., BLENDIS, L. M.: Breath hydrogen in hyposucrasia. *Lancet* i, 119–120 (1976).
12. NEWCOMER, A. D., MCGILL, D. B., THOMAS, P. J., HOFMANN, A. F.: Prospective comparison of indirect methods for detecting lactase deficiency. *N. Engl. J. Med.* 293, 1232–1236 (1975).
13. NOSE, O., IIDA, Y., KAI, H., HARADA, T., OGAWA, M., YABUUCHI, H.: Breath hydrogen test for detecting lactose malabsorption in infants and children. *Arch. Dis. Child.* 54, 436–440 (1979).
14. RHODES, J. M., MIDDLETON, P., JEWELL, D. P.: The lactulose hydrogen breath test as a diagnostic test for small-bowel bacterial overgrowth. *Scand. J. Gastroent.* 14, 333–336 (1979).
15. SOLOMONS, N. W., VITERI, F. E., HAMILTON, L. H.: Application of a simple gas chromatographic technique for measuring breath hydrogen. *J. Lab. Clin. Med.* 90, 856–862 (1977).
16. Wissenschaftliche Tabellen Geigy, Teilband Hämatologie und Humangenetik, 8. Auflage, Basel, 30, (1979).

### Anschrift des Verfassers:

Dr. med. B. Lembcke  
Zentrum Innere Medizin der Universität  
Robert-Koch-Str. 40  
D-3400 Göttingen

