

## 4. Ergebnisse

### 4.1. Sammlung der Biopsien

Von 195 Patienten, die in die Studie aufgenommen wurden, liegen bei 187 die Ergebnisse des Urease-Schnelltests, der histologischen Untersuchung und der Anzucht im mikrobiologischen Labor vor.

Nach der in 3.2. festgesetzten Definition, nach der ein Patient als mit *H. pylori* infiziert gilt, wenn wenigstens einer dieser drei Tests positiv ausfällt, waren von den 187 Untersuchten 94 infiziert. Das sind 50,3 %.

Hierbei war die Anzucht 54 mal positiv, der Schnelltest im Endoskopieraum 69 mal, und die histologische Untersuchung stellte 84 mal ein positives Ergebnis aus.

In Tab. 7 sind die den diagnostischen Tests entsprechenden Sensitivitäten und negative Voraussagewerte zusammengestellt.

Tab. 7: Sensitivität und Negativ Prädiktive Werte (NPW) von Anzucht, Schnelltest und histologischem Nachweis im Rahmen der *H.-pylori*-Diagnostik

Test	Sensitivität	NPW
Anzucht	0,57	0,7
Schnelltest	0,73	0,79
Histologie	0,89	0,91

Bei übereinstimmenden Spezifitäten erwies sich die Histologie als treffsicherster Test und die Anzucht im Labor als am wenigsten sensitiv.

Hinsichtlich der Histologie ergaben sich unterschiedliche Sensitivitäten in Abhängigkeit davon, ob der Test in der pathologischen Abteilung des Virchow-Klinikums oder im Biopsischen Institut von Herrn Prof. Dr. Buntrock, der die von Herrn Dr. Rogalla eingesandten Biopsien untersuchte, stattfand. Von Herrn Dr. Rogallas 83 der insgesamt 187 Patienten waren 40 infiziert, die alle in der histologischen Untersuchung entdeckt wurden (Sensitivität 100 %). Von 104 Patienten des Virchow-Klinikums waren 54 infiziert. Histologisch entdeckt wurde die Infektion bei 44 Patienten (Sensitivität 81 %).

Umgekehrt lagen die Verhältnisse hinsichtlich der Sensitivitäten der eingesetzten Schnelltests. Das Virchowklinikum setzte den Ureasetest Jatrox<sup>®</sup> ein, dessen Sensitivität 83 % erreichte.

Herr Dr. Rogalla setzte den kommerziell erhältlichen HUT<sup>®</sup>-Test ein, der 60 % seiner infizierten Patienten als positiv erkannte.

#### 4.2. Korrelation zwischen der eingesetzten Erregerkonzentration und einem makroskopisch sichtbaren Farbumschlag des Indikators in Abhängigkeit von der Zeit

In Abb. 4 bis Abb. 14 sind die den elf untersuchten Isolaten entsprechenden elf Kurvenscharen abgebildet. Für ein Isolat widerspiegelt jede einzelne Kurve das Extinktionsverhalten des Gemisches aus Erregersuspension mit bekannter Erregerkonzentration und Christensen-Harnstoff-Lösung. Dabei unterscheiden sich innerhalb einer Kurvenschar die Erregerkonzentrationen zweier nebeneinander liegender Kurven um eine Zehnerpotenz.

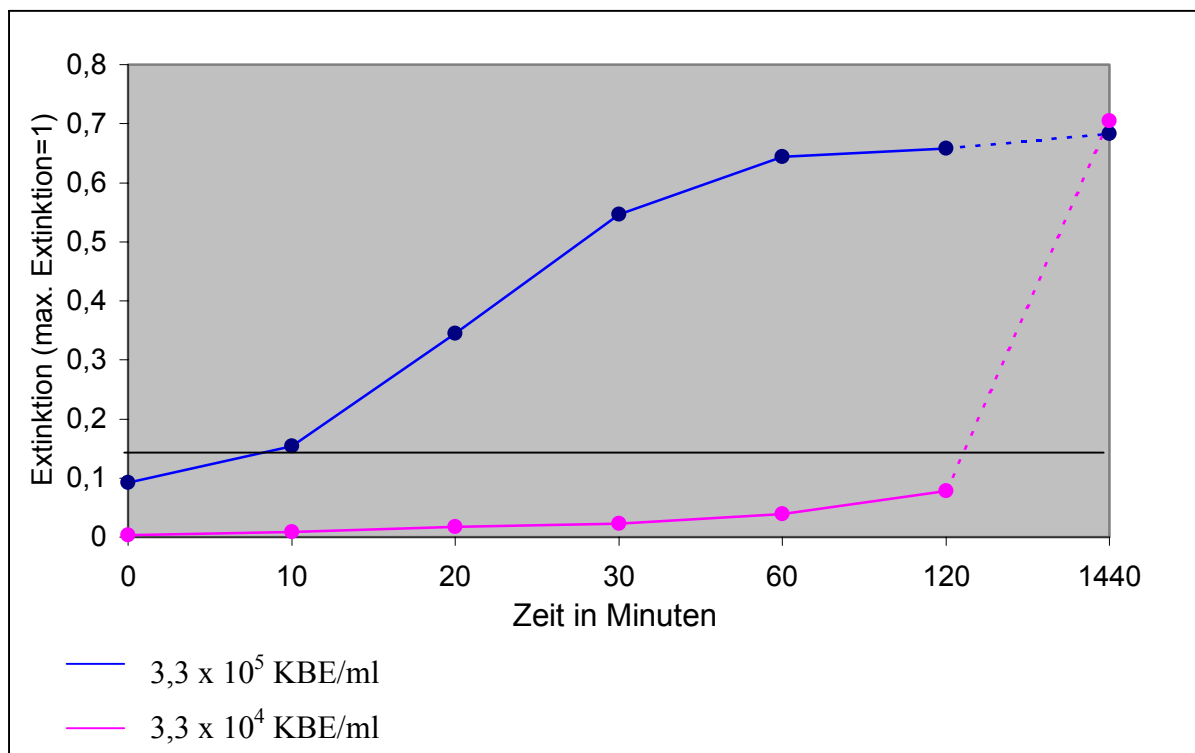


Abb. 4: Extinktionsverhalten von Erregersuspensionen des Stammes *H. pylori* 41 mit Harnstoff- und Indikatorzusatz in Abhängigkeit von Erregerkonzentration und Zeit

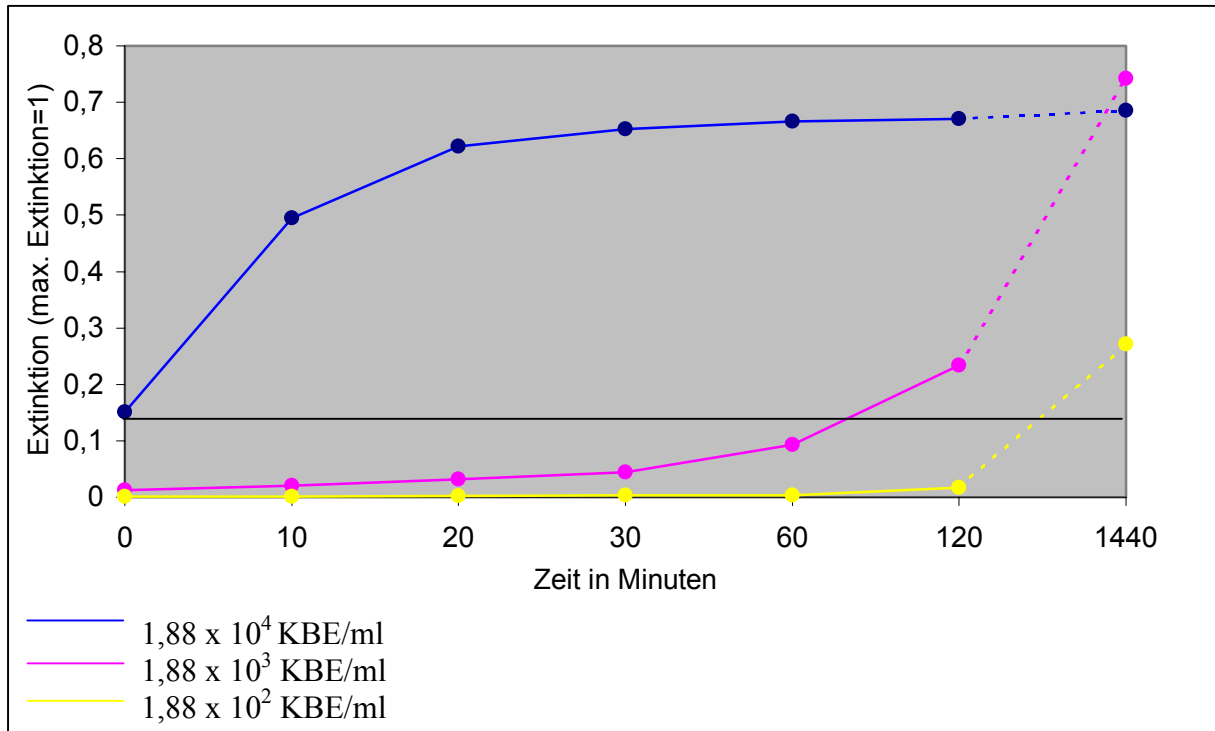


Abb. 5: Extinktionsverhalten von Erregersuspensionen des Stammes H. pylori 143 mit Harnstoff- und Indikatorzusatz in Abhängigkeit von Erregerkonzentration und Zeit

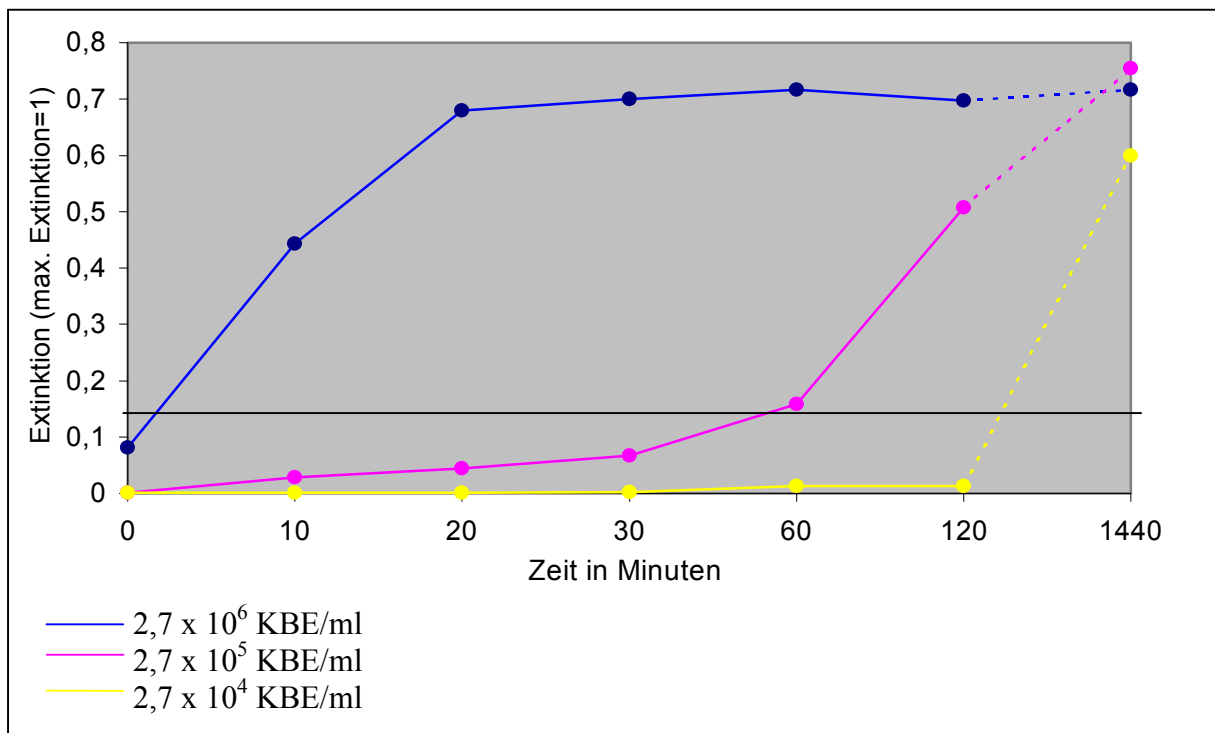


Abb. 6: Extinktionsverhalten von Erregersuspensionen des Stammes H. pylori 97 mit Harnstoff- und Indikatorzusatz in Abhängigkeit von Erregerkonzentration und Zeit

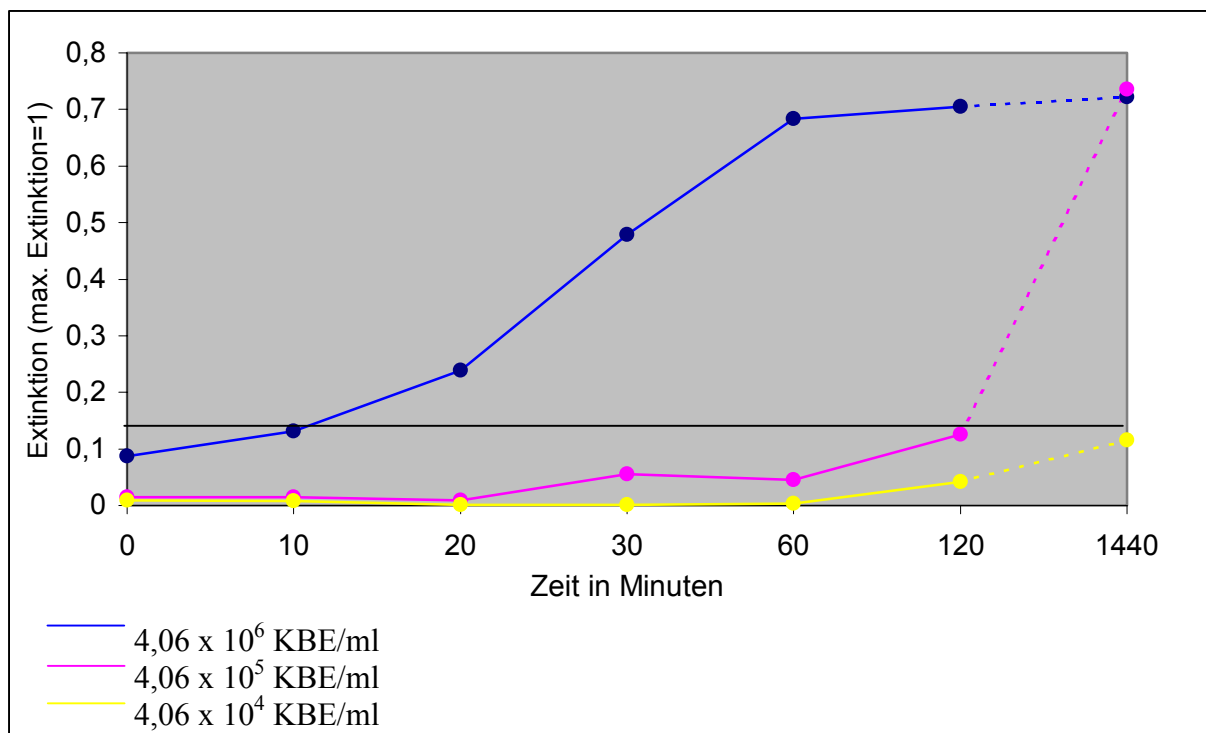


Abb. 7: Extinktionsverhalten von Erregersuspensionen des Stammes *H. pylori* 144 mit Harnstoff- und Indikatorzusatz in Abhängigkeit von Erregerkonzentration und Zeit

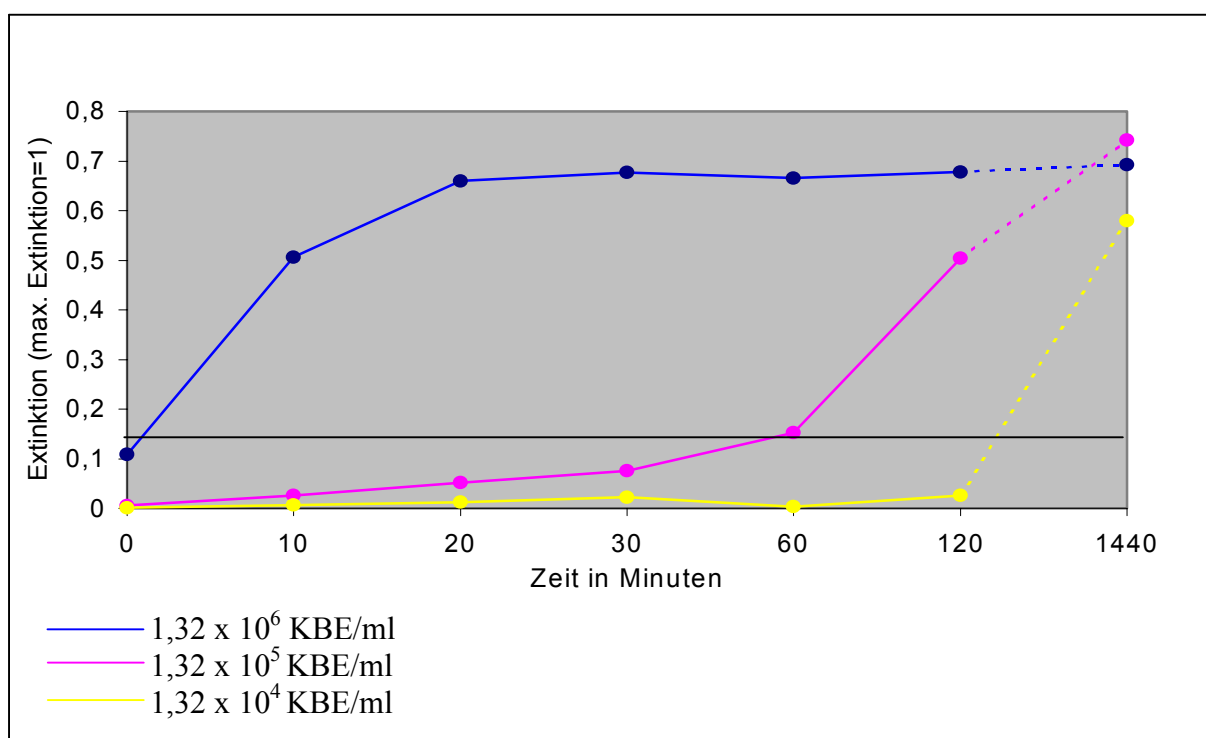


Abb. 8: Extinktionsverhalten von Erregersuspensionen des Stammes *H. pylori* 39 mit Harnstoff- und Indikatorzusatz in Abhängigkeit von Erregerkonzentration und Zeit

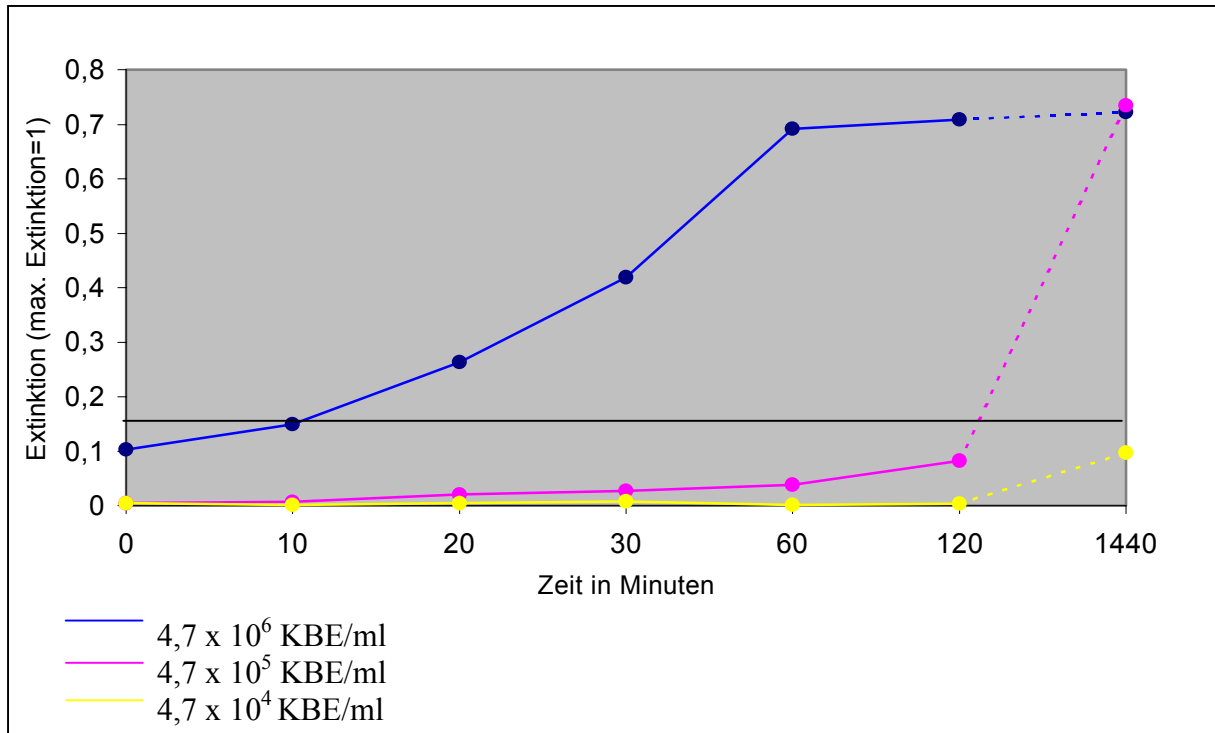


Abb. 9: Extinktionsverhalten von Erregersuspensionen des Stammes H. pylori 64 mit Harnstoff- und Indikatorzusatz in Abhängigkeit von Erregerkonzentration und Zeit

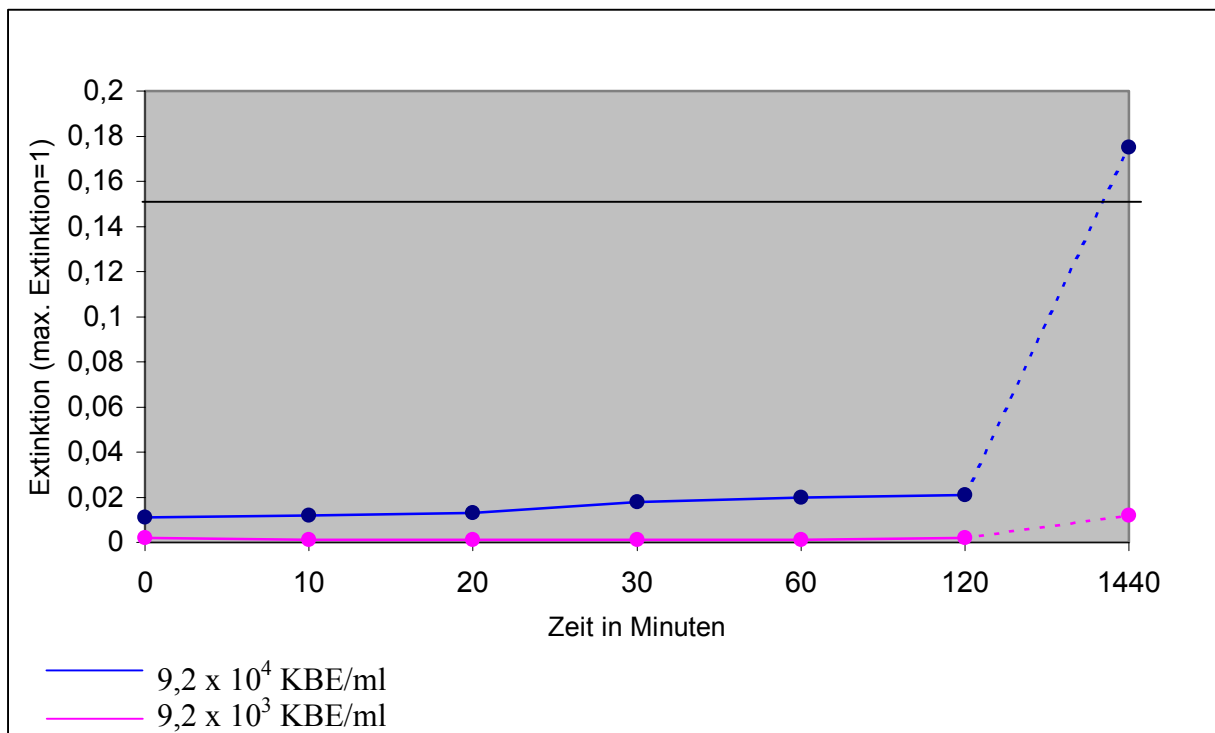


Abb. 10: Extinktionsverhalten von Erregersuspensionen des Stammes H. pylori 36 mit Harnstoff- und Indikatorzusatz in Abhängigkeit von Erregerkonzentration und Zeit

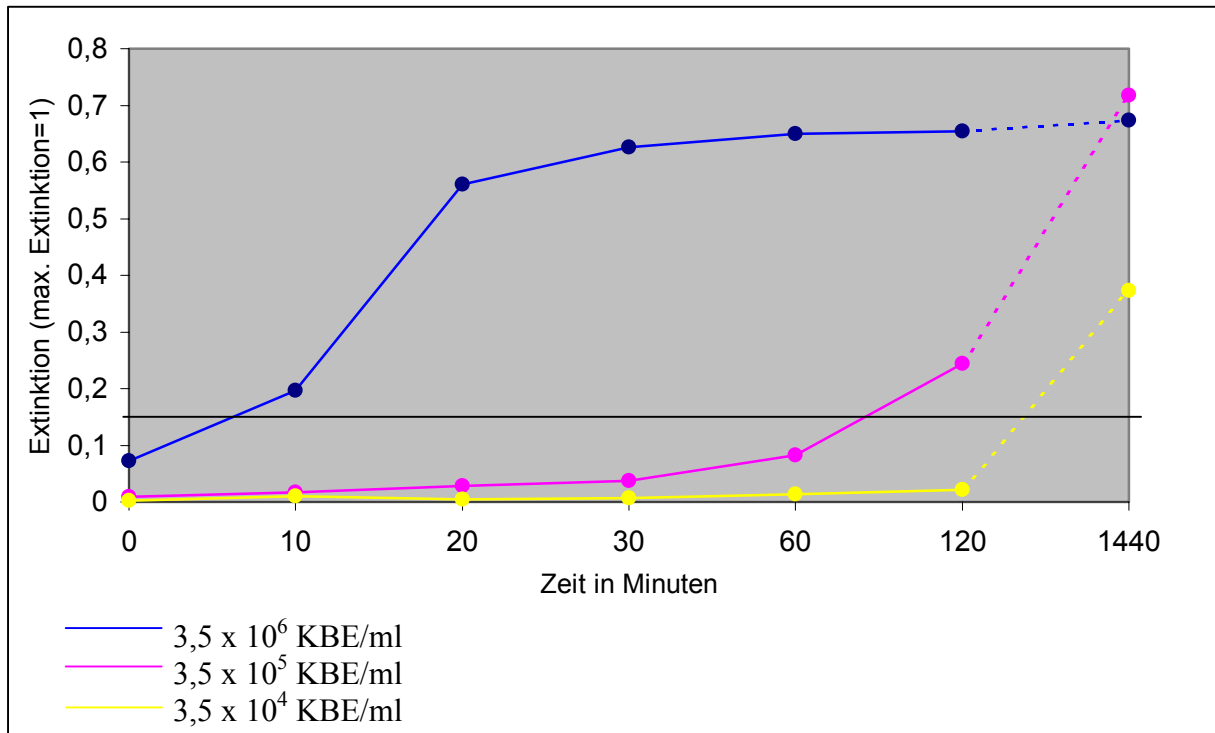


Abb. 11: Extinktionsverhalten von Erregersuspensionen des Stammes *H. pylori* 16 mit Harnstoff- und Indikatorzusatz in Abhängigkeit von Erregerkonzentration und Zeit

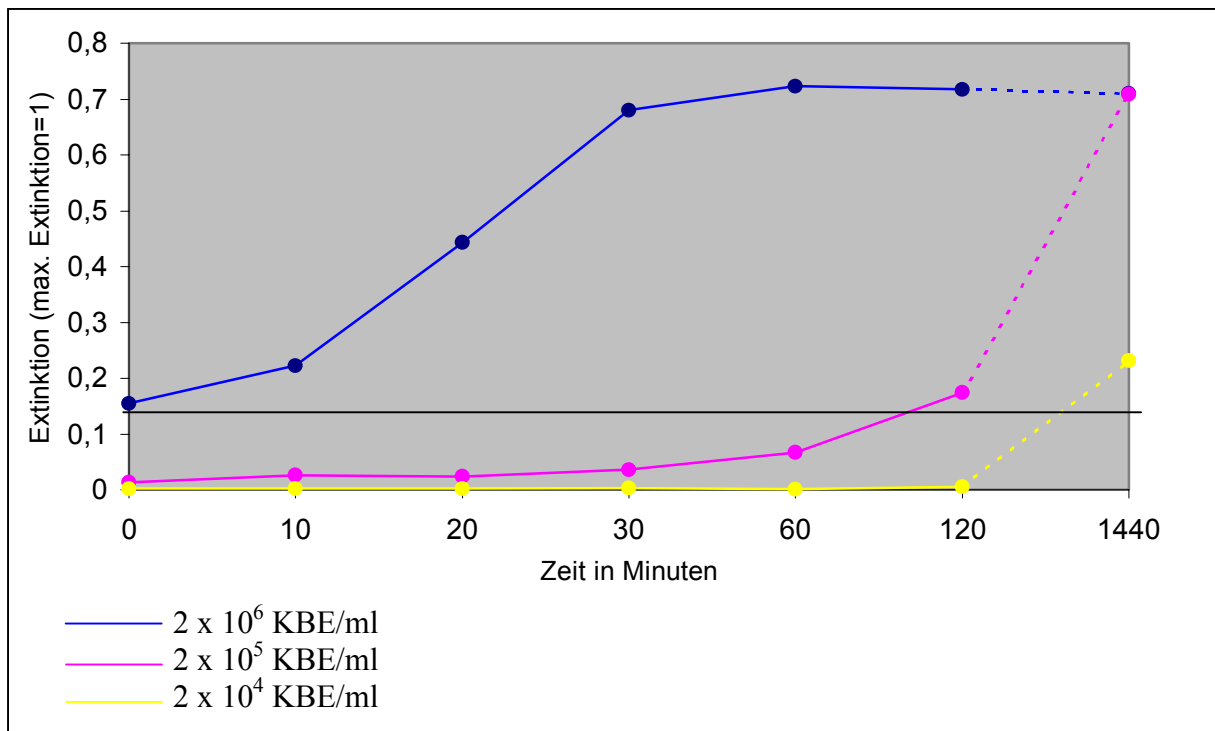


Abb. 12: Extinktionsverhalten von Erregersuspensionen des Stammes *H. pylori* 115 mit Harnstoff- und Indikatorzusatz in Abhängigkeit von Erregerkonzentration und Zeit

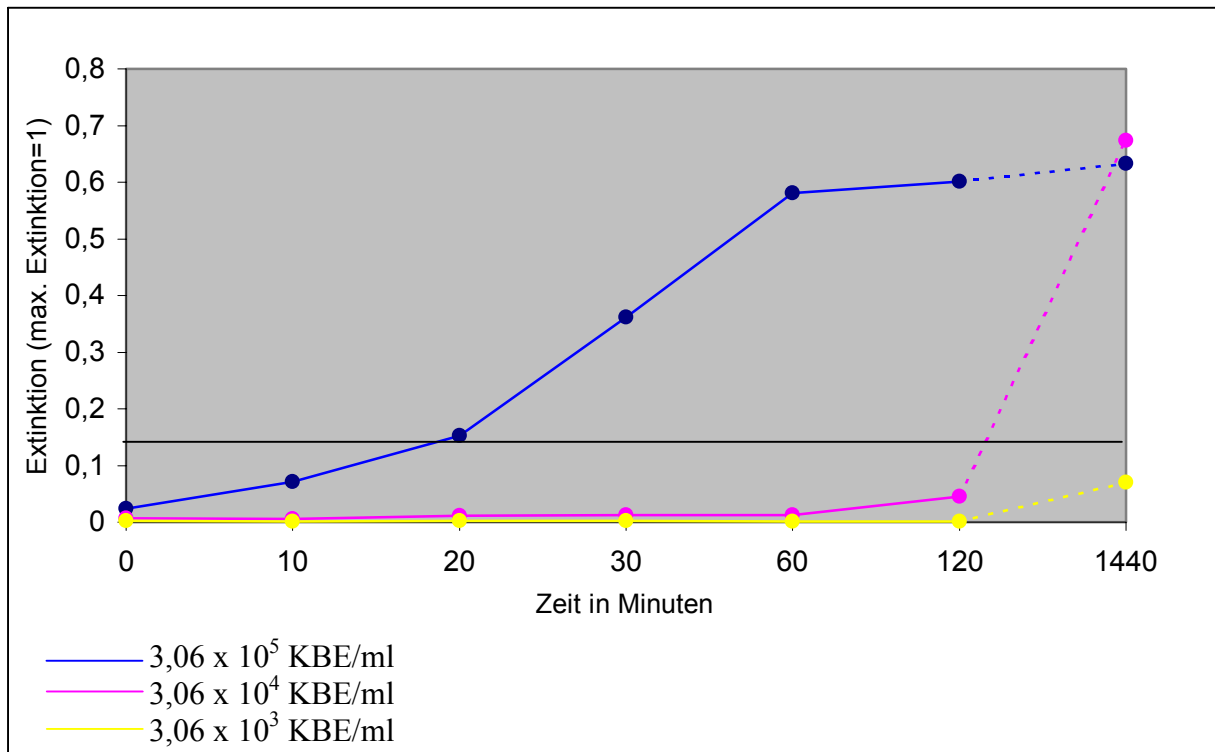


Abb. 13: Extinktionsverhalten von Erregersuspensionen des Stammes *H. pylori* 60 mit Harnstoff- und Indikatorzusatz in Abhängigkeit von Erregerkonzentration und Zeit

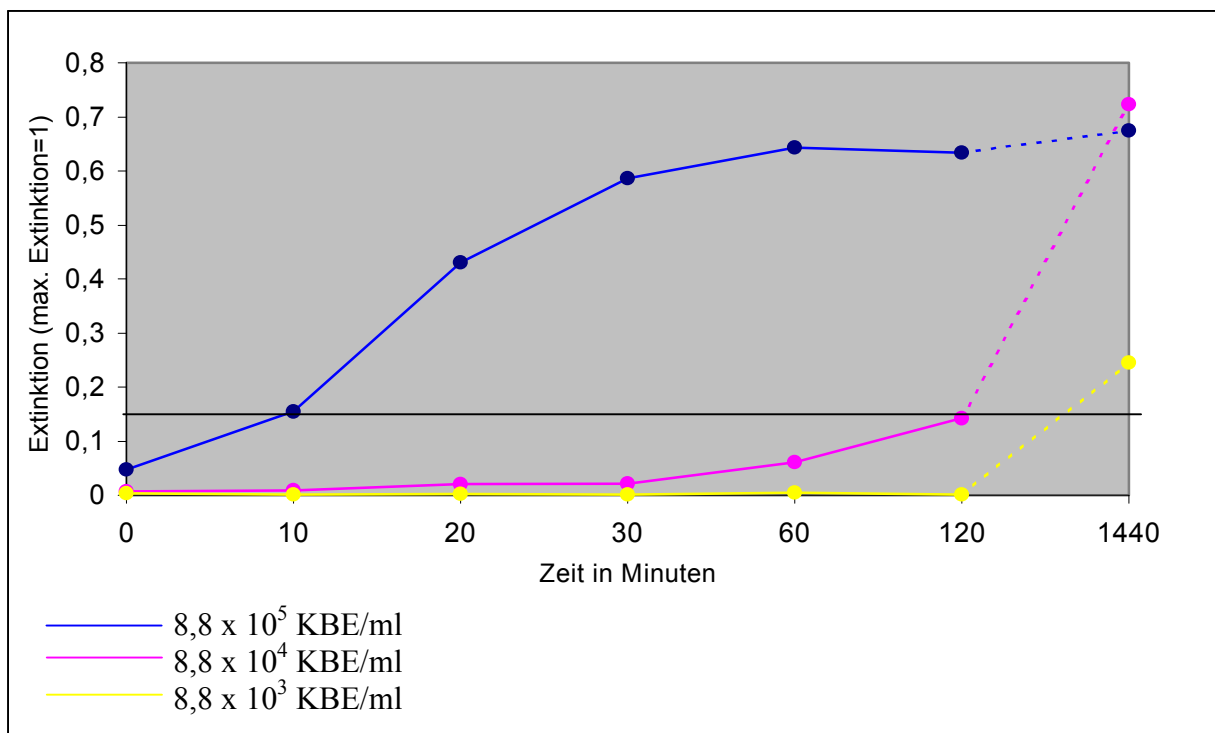


Abb. 14: Extinktionsverhalten von Erregersuspensionen des Stammes *H. pylori* 174 mit Harnstoff- und Indikatorzusatz in Abhängigkeit von Erregerkonzentration und Zeit

Ob ein Erreger-Harnstoff-Indikator-Gemisch nach spätestens einer Stunde einen sichtbaren Farbumschlag zeigt, ist anhand der zusätzlich eingezeichneten Horizontalen beim Extinktionswert 0,15 ablesbar.

Beim Extinktionswert 0,15 war ein Umschlagen vom gelblichen in einen Pinkfarbton gerade zu erkennen.

Für das neunte Isolat (Abb.12) ist also abzuleiten, daß mit der höchsten Erregerkonzentration von  $2 \times 10^6$  KBE/ml schon kurz nach dem Zusammenbringen von Erregersuspension und Harnstoff ein Farbumschlag erkennbar war. Bei zehnfacher Verdünnung ( $2 \times 10^5$  KBE/ml) findet sich hingegen erst nach zwei Stunden ein Farbwechsel. Die Tabelle 8 faßt diese Ergebnisse für alle elf Stämme zusammen.

Tab. 8: Zusammenhang zwischen Erregerkonzentration in einem Gemisch aus *H. pylori*, Harnstoff und Indikator (Phenolrot) und Sichtbarwerden eines Farbumschlages (=Ureasetest positiv)

Stamm <i>H. pylori</i>	Erregerkonzentration in der Küvette in KBE/ml	Ureasetest nach einer Stunde positiv	Ureasetest nach 24 Stunden positiv
115	$2 \times 10^6$	ja	ja ja nein
	$2 \times 10^5$	nein	
	$2 \times 10^4$	nein	
	$2 \times 10^3$	nein	
41	$3,3 \times 10^5$	ja	ja nein
	$3,3 \times 10^4$	nein	
	$3,3 \times 10^3$	nein	
143	$1,88 \times 10^4$	ja	ja ja nein
	$1,88 \times 10^3$	nein	
	$1,88 \times 10^2$	nein	
	$1,88 \times 10^1$	nein	
97	$2,7 \times 10^6$	ja	ja nein
	$2,7 \times 10^5$	ja	
	$2,7 \times 10^4$	nein	
	$2,7 \times 10^3$	nein	
144	$4,06 \times 10^6$	ja	ja nein
	$4,06 \times 10^5$	nein	
	$4,06 \times 10^4$	nein	
39	$1,32 \times 10^6$	ja	ja nein
	$1,32 \times 10^5$	ja	
	$1,32 \times 10^4$	nein	
	$1,32 \times 10^3$	nein	



Stamm H. pylori	Erregerkonzentration in der Küvette in KBE/ml	Ureasetest nach einer Stunde positiv	Ureasetest nach 24 Stunden positiv
64	$4,7 \times 10^6$	ja	ja nein
	$4,7 \times 10^5$	nein	
	$4,7 \times 10^4$	nein	
36	$9,2 \times 10^4$	nein	ja nein
	$9,2 \times 10^3$	nein	
16	$3,5 \times 10^6$	ja	ja ja nein
	$3,5 \times 10^5$	nein	
	$3,5 \times 10^4$	nein	
	$3,5 \times 10^3$	nein	
60	$3,06 \times 10^6$	ja	ja nein
	$3,06 \times 10^5$	nein	
	$3,06 \times 10^4$	nein	
174	$8,8 \times 10^5$	ja	ja ja nein
	$8,8 \times 10^4$	nein	
	$8,8 \times 10^3$	nein	
	$8,8 \times 10^2$	nein	

Es fällt auf, daß - bis auf Stamm 143- eine Erregerkonzentration unter  $10^5$  KBE/ml nicht für einen Farbumschlag nach einer Stunde ausreicht. Lag eine Erregerkonzentration über  $10^6$  KBE/ml vor, war der Test nach einer Stunde immer positiv.

Das läßt darauf schließen, daß die kritische Erregerkonzentration im Bereich zwischen  $10^4$  und  $10^6$  KBE/ml liegt. Abbildung 15 stellt diesen Grenzbereich dar.

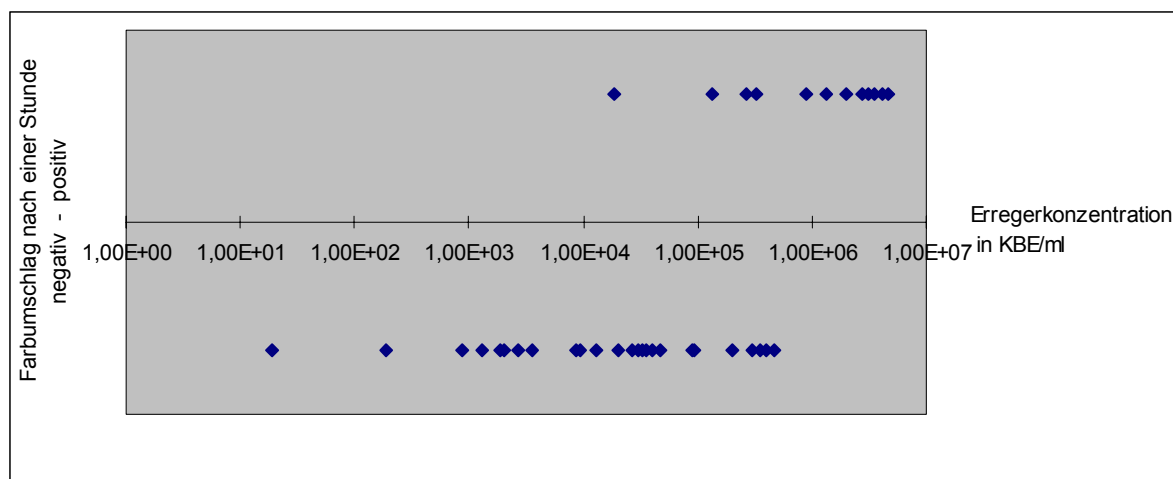


Abb. 15: Darstellung der Erregerkonzentrationen ( $1,00E+03$  bedeutet  $10^3$  KBE/ml), bei denen nach einer Stunde ein Farbumschlag erkennbar war (über der Horizontalen) und der Konzentrationen, bei denen nach einer Stunde keine Farbänderung sichtbar wurde (unter der Horizontalen)

### 4.3. Korrelation zwischen dem Trübungsgrad einer H.-pylori-Suspension (skaliert nach McFarland) und der Erregerkonzentration

Für die untersuchten elf Isolate ergab sich der in Abbildung 16 dargestellte Zusammenhang zwischen Trübungsgrad und Erregerkonzentration einer H.-pylori-Suspension.

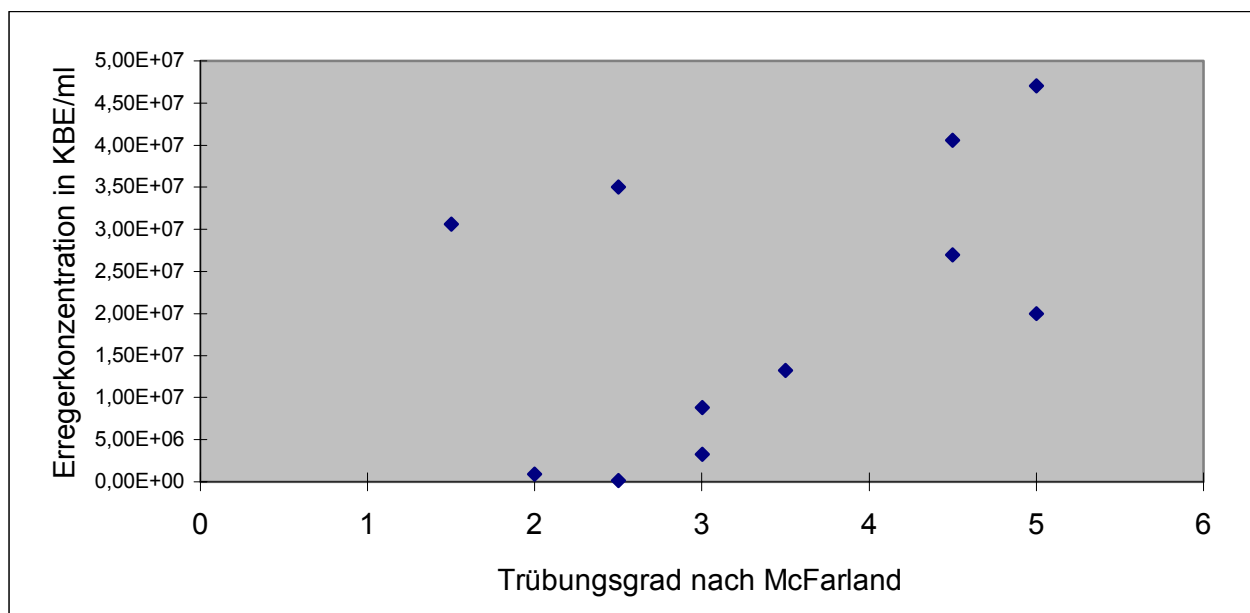


Abb. 16 Korrelation zwischen Trübungsgrad nach McFarland und Erregerkonzentration in KBE/ml

Abbildung 16 legt nahe, daß sich Erregerkonzentration und Trübungsgrad nach McFarland für eine H.-pylori-Suspension nicht proportional zueinander verhalten. Dies bestätigt der Korrelationskoeffizient, der als Maß für den linearen Zusammenhang zweier Größen für die elf Wertepaare  $r = 0,49$  beträgt. Ein linearer Zusammenhang liegt nur dann vor, wenn der Betrag des Korrelationskoeffizienten ( $|r|$ ) zwischen 0,7 und 1,0 liegt.

Aus diesem Grunde war es nicht möglich, mit Hilfe einer McFarland-Trübungsreihe eine H.-pylori-Suspension gewünschter Erregerkonzentration ( $10^4$  bis  $10^6$  KBE/ml) herzustellen.

### 4.4. Überlebensversuche

#### a) Zusammenhang von Erregerkonzentration und Umschlagsgeschwindigkeit des Ureasetests

Von 68 angesetzten Stämmen war die Bestimmung der Erregerkonzentration nur 33 mal erfolgreich. In den verbleibenden 35 Fällen waren nach drei bis fünf Tagen Inkubation keine

typischen Kolonien auf den Agarplatten sichtbar und damit nicht auszählbar. 33 mal ergab sich aus den im Doppelansatz bestimmten Erregerkonzentrationen der verwendeten Suspensionen die Anzahl der Erreger, die jeder der sechs Watteträger mit 0,11 ml aufgesogen hatte. Die graphische Auswertung der Schnelligkeit, mit der in den beiden harnstoffhaltigen Medien in Abhängigkeit von der in 33 Fällen bekannten Erregereinsaat ein Farbumschlag erfolgte, zeigt Abbildung 17.

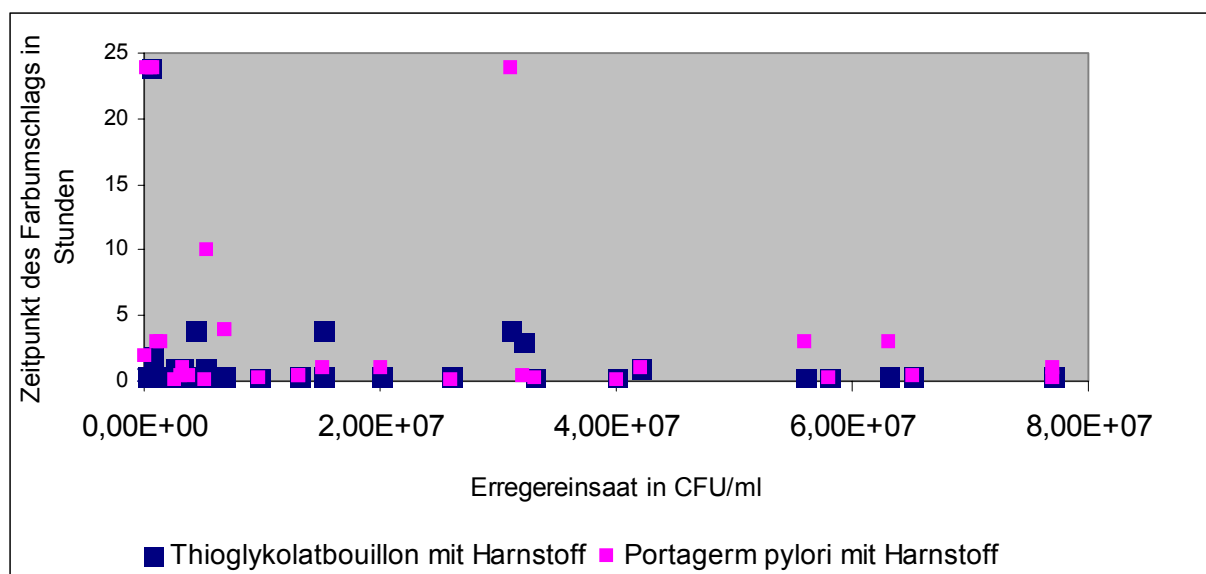


Abb. 17: Zeitpunkt des Indikatorfarbumschlags in Thioglykolatbouillon mit Harnstoff bzw. in Portagerm pylori® mit Harnstoff in Abhängigkeit von der Erregereinsaat bei 33 H.-pylori-Isolaten

Der Korrelationskoeffizient  $r$  für die Wertepaare, die aus dem Ansätzen in Thioglykolatbouillon resultierten, beträgt  $-0,19$ , der für Portagerm-pylori®-Ansätze  $-0,28$ . Wie schon am Beispiel der Korrelation zwischen McFarland-Skala und Erregerkonzentration erwähnt wurde, bedeuten diese Werte, daß kein linearer Zusammenhang zwischen den Erregermengen und der Geschwindigkeit des Farbumschlages besteht. Das widerspricht den Resultaten aus 4.2. (siehe Tab. 8), die für den Farbumschlag nach einer Stunde eine notwendige Erregerkonzentration zwischen  $10^4$  und  $10^6$  KBE/ml ergaben.

*b) Überlebenszeit des Erregers in den verschiedenen Transportmedien*

Im *Thioglykolatbouillon-Harnstoffgemisch* überlebte der Erreger die geringste Zeitspanne: Keiner der 68 Stämme konnte nach 24 Stunden Aufenthalt in diesem Medium noch angezchtet werden.

Etwas länger ermöglichte die physiologische *Kochsalzlösung* ein Überleben. Hierin überlebten 13 von 68 H.-pylori-Isolaten mindestens einen Tag (19,1%), von denen nach zwei Tagen noch sechs Stämme und nach vier Tagen noch vier Stämme (5,8%) anzüchtbar waren. Fünf Tage überlebte keiner der 68 getesteten Stämme in Kochsalzlösung.

Die nächstlängere Überlebenszeit gewährte das *mit Harnstoff modifizierte Portagerm pylori*<sup>®</sup>. Hierin überlebten 28 H.-pylori-Isolate mindestens einen Tag (41,2%).

Mit 33 lebenden Stämmen nach einem Tag in *Thioglykolatbouillon* stieg der Prozentsatz der 24 Stunden überlebenden Stämme auf 48,5%. Auch in diesem Medium überlebte H. pylori höchstens vier Tage (drei Stämme; 4,4%).

Im nicht modifizierten *Portagerm pylori*<sup>®</sup> bei *Raumtemperatur* überlebten 39 H.-pylori-Isolate (57,4%) einen Tag, 27 von diesen einen weiteren Tag (39,7%). 12 Stämme (17,6%) waren nach vier Tagen noch vital, und ein Stamm überlebte die gesamte Versuchsdauer von sieben Tagen (1,5%).

Die meisten Stämme, nämlich 45 von 68 (66,2%) überlebten einen Tag in *Portagerm pylori*<sup>®</sup> bei 4° C. Nach weiteren drei Tagen lebten davon noch 14 Stämme (20,6%) und nach sieben Tagen noch zwei Stämme (2,9%). Tabelle 9 faßt die Ergebnisse zusammen:

Tab. 9: Transportmedien und Anzahl der H-pylori-Isolate von insgesamt 68 Stämmen, die null bis sieben Tage darin überlebten (Thio = Thioglykolatbouillon, Harnst. = Zusatz von Harnstoff mit Phenolrot als Indikator, Port = Portagerm pylori<sup>®</sup>, NaCl = physiologische Kochsalzlösung, RT = Raumtemperatur ≈ 18°C)

Transportmedium	Anzahl der Stämme, die zum jeweiligen Testzeitpunkt (alle 24 Stunden über 7 Tage) noch rekultivierbar war							
	0 Tage	1 Tag	2 Tage	3 Tage	4 Tage	5 Tage	6 Tage	7 Tage
Port 4° C	68	45	38	28	14	9	5	2
Port, RT	68	39	27	17	12	5	2	1
Thio, RT	68	33	18	7	3	0	0	0
Port+Harnst., RT	68	28	10	1	0	0	0	0
NaCl, RT	68	13	6	5	4	0	0	0
Thio+Harnst., RT	68	0	0	0	0	0	0	0

Abbildung 18 faßt diese Ergebnisse noch einmal graphisch zusammen:

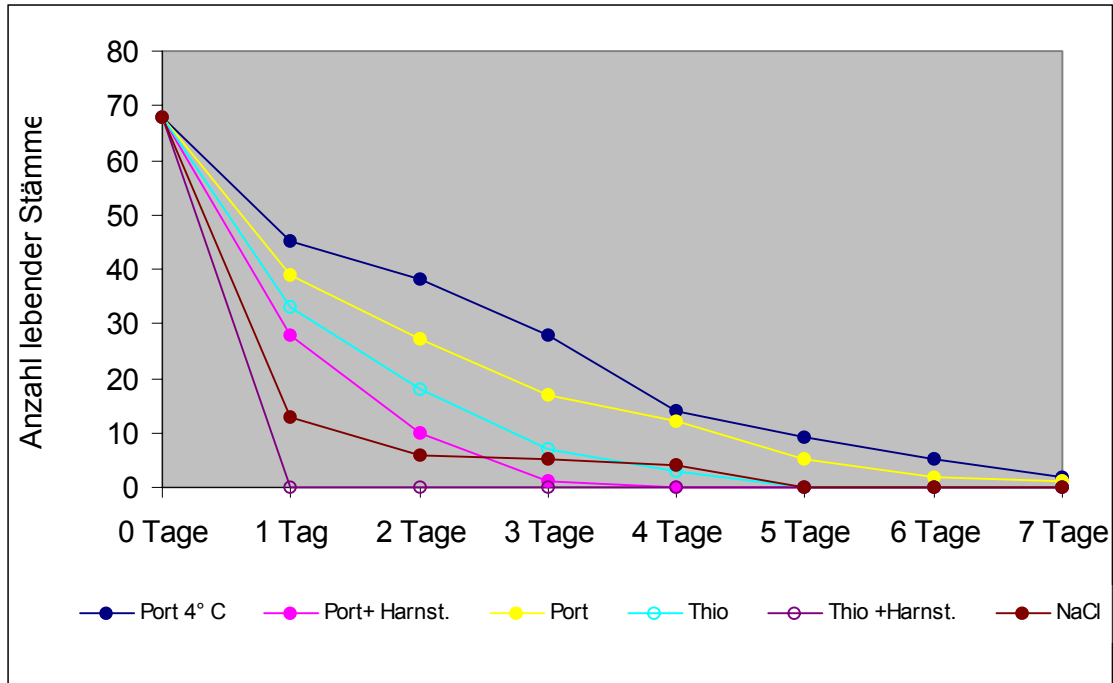


Abb. 18: Überlebenszeiten von 68 H.-pylori-Isolaten unter verschiedenen Transportbedingungen in variierenden Medien (Port = Portagerm pylori<sup>®</sup>, Thio = Thioglykolatbouillon, NaCl = physiologische Kochsalzlösung) mit bzw. ohne Zusatz von Christensen-Harnstoff mit Phenolrot als Indikator (= +Harnst.) und bei unterschiedlichen Transporttemperaturen (bis auf Portagerm pylori<sup>®</sup> bei 4 °C alle bei Raumtemperatur  $\approx 18^{\circ}$  C)