

## PDF hosted at the Radboud Repository of the Radboud University Nijmegen

The following full text is a publisher's version.

For additional information about this publication click this link.

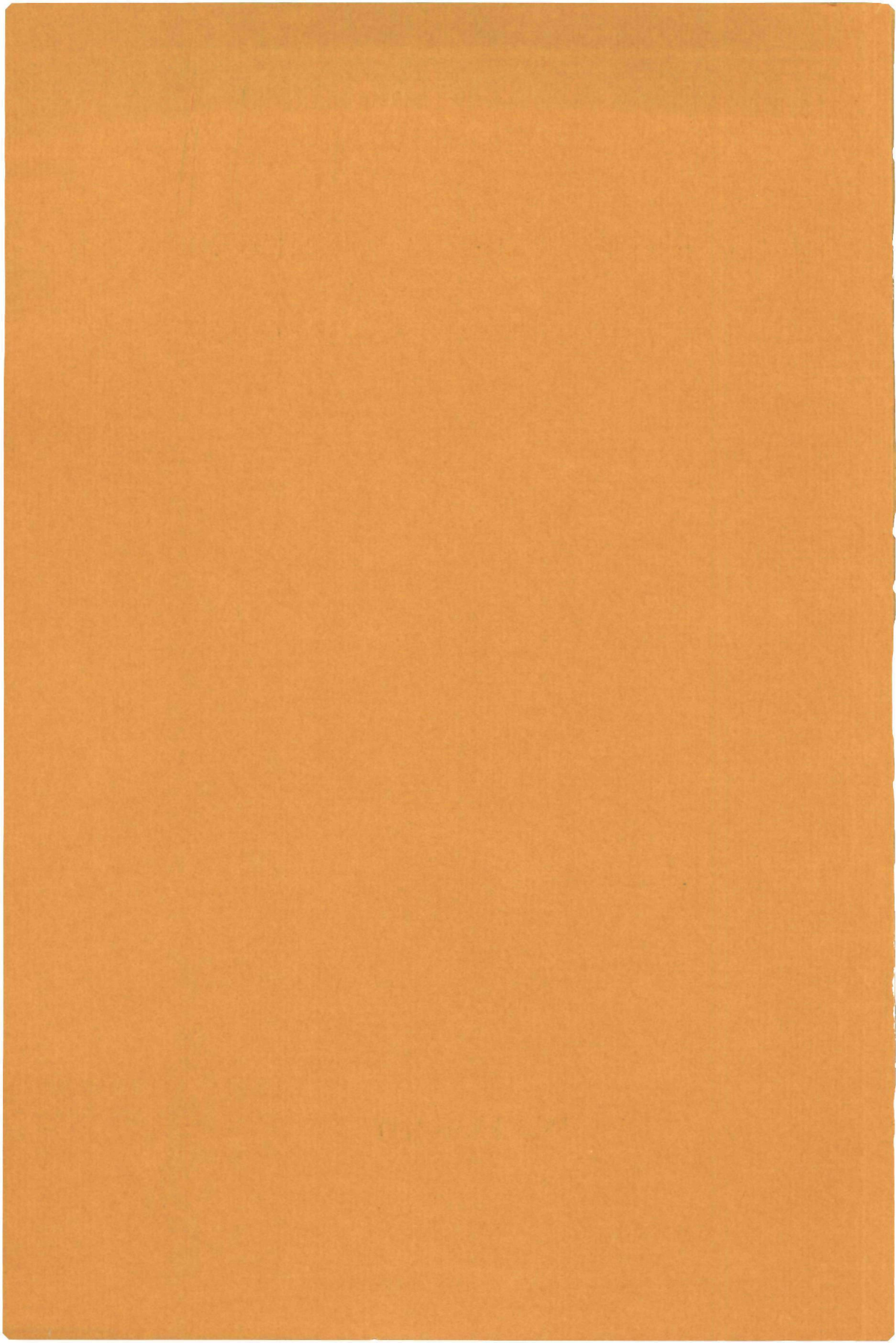
<http://hdl.handle.net/2066/148321>

Please be advised that this information was generated on 2018-07-07 and may be subject to change.

2228

**H<sub>2</sub>-EXCRETIE IN DE UITADEMINGSLUCHT  
BIJ  
KOOLHYDRAATMALABSORPTIE**

**Wil Dolmans**



H<sub>2</sub>-EXCRETIE IN DE UITADEMINGSLUCHT

BIJ

KOOLHYDRAATMALABSORPTIE

Dit proefschrift werd bewerkt op de afdeling maag-, darm- en lever-  
ziekten (Hoofd: Dr. J.H.M. van Tongeren) van de Universiteits-  
kliniek voor Inwendige Ziekten (Hoofd: Prof.Dr. C.L.H. Majoor)  
van het St. Radboudziekenhuis te Nijmegen.

H<sub>2</sub>-EXCRETIE IN DE UITADEMINGSLUCHT

BIJ

KOOLHYDRAATMALABSORPTIE

BREATH HYDROGEN EXCRETION  
IN  
CARBOHYDRATE MALABSORPTION

PROEFSCHRIFT

TER VERKRIJGING VAN DE GRAAD VAN DOCTOR IN DE  
GENEESKUNDE AAN DE KATHOLIEKE UNIVERSITEIT TE  
NIJMEGEN OP GEZAG VAN DE RECTOR MAGNIFICUS  
PROF.DR. A.J.H. VENDRIK, VOLGENS HET BESLUIT  
VAN HET COLLEGE VAN DEKANEN IN HET OPENBAAR TE  
VERDEDIGEN OP VRIJDAG 17 FEBRUARI 1978 DES MIDDAGS  
TE 4 UUR.

DOOR

WILHELMUS MARIA VALERIUS DOLMANS  
GEBOREN TE HULSBERG

KRIPS REPRO - MEPPEL



Wie vastgeroest en uitgedoofd  
alleen nog in vandaag geloofd  
wie nooit eens over bergen ziet  
wordt moe en sterven zal zijn lied  
Maar als in harten heimwee brandt  
naar nieuwe tijd en blijer land  
dan breken mensen op en gaan  
men komt in vuur en vlam te staan.

Cees Remmers



# INHOUD

## Hoofdstuk 1

### INLEIDING EN VRAAGSTELLING

1.1 Inleiding	10
1.2 Vraagstelling	11

## Hoofdstuk 2

### LITERATUURGEGEVENS

2.1 De vorming en excretie van darmgassen	13
2.1.1 Darmgas: hoeveelheid en samenstelling	13
2.1.2 De oorsprong van darmgassen	14
2.1.3 Flatus: hoeveelheid en samenstelling	15
2.1.4 Excretie van darmgassen in de uitademingslucht	16
2.2 De bacterieflora van het maag-darmkanaal	17
2.2.1 De oorsprong van de darmflora en factoren die deze beïnvloeden	17
2.2.2 De samenstelling van de darmflora onder normale omstandigheden	19
2.2.3 Metabole effecten van de darmbacteriën	20
2.2.4 Het onderzoek van de darmflora	22
2.2.5 Bacteriele overgroei in de dunne darm	23
2.3 Het meten van de H <sub>2</sub> -excretie in de uitademingslucht	26
2.3.1 Basisgegevens	26
2.3.1.1 het principe van de H <sub>2</sub> -ademtest	26
2.3.1.2 de H <sub>2</sub> -ademtest voor het aantonen van koolhydraatmalabsorptie	27
2.3.1.3 kwantitatieve bepaling van koolhydraatmalabsorptie	28
2.3.2 Methoden voor het verkrijgen van uitademingslucht	30
2.3.3 Het bepalen van de H <sub>2</sub> -concentratie in uitademingslucht	32
2.3.4 Toepassing van de H <sub>2</sub> -ademtest	33
2.3.4.1 het opsporen van stoornissen in de vertering en absorptie van koolhydraten	34

2.3.4.2	de H <sub>2</sub> -ademtest voor het onderzoek van de darmflora	39
2.3.4.3	de H <sub>2</sub> -ademtest voor het bepalen van de passagetijd van mond naar coecum	40
2.3.5	Samenvatting van de literatuurgegevens	42
2.4	De bepaling van andere gassen dan H <sub>2</sub> in de uitademingslucht	43
2.4.1	Inleiding	43
2.4.2	<sup>14</sup> C <sub>2</sub> O-ademtesten	44
2.4.2.1	onderzoek van de vetabsorptie	46
2.4.2.2	onderzoek van de enterohepatische kringloop van de galzouten	46
2.4.2.3	onderzoek van de lactose-absorptie	49
2.4.2.4	onderzoek van de leverfunctie	49
2.5	De vertering en absorptie van koolhydraten onder normale en pathologische omstandigheden	50
2.5.1	De normale vertering en absorptie van koolhydraten	50
2.5.2	Stoornissen in de vertering en absorptie van koolhydraten	52

### Hoofdstuk 3

#### METHODEN VAN ONDERZOEK

3.1	Het bepalen van de H <sub>2</sub> -concentratie in uitademingslucht door gaschromatografische analyse	57
3.2	Het verkrijgen van ademmonsters met de rebreathing methode en met de single breath methode	62
3.2.1	De rebreathing methode	62
3.2.2	De single breath methode	63
3.3	Vergelijking van de resultaten van H <sub>2</sub> -ademtesten uitgevoerd met de rebreathing en met de single breath methode	67
3.4	De invloed van bewaren van ademmonsters op de H <sub>2</sub> -concentratie	72
3.5	Reproduceerbaarheid van de H <sub>2</sub> -ademtest	74
3.6	Het onderzoekprotocol van de verschillende H <sub>2</sub> -ademtesten	76
3.7	Andere toegepaste onderzoeksmethoden	80
3.7.1	De lactosetolerantietest (LTT)	80

3.7.2	Bepaling van de lactase-activiteit in het jejunumslimvlies	80
3.7.3	De Schillingtest	82
3.7.4	De <sup>14</sup> C-glycinecholzuur ademtest	82
3.7.5	De indicanexcretie in de urine	83
3.7.6	Bacteriologisch onderzoek van jejunumvocht	83
3.8	Ontwikkeling en toepassing van een nieuw apparaat om de H <sub>2</sub> -ademtest uit te voeren	84
3.9	Gebruikte statistische methoden	97

#### Hoofdstuk 4

##### DE H<sub>2</sub>-ADEMTEST VOOR HET AANTONEN VAN LACTOSEMALABSORPTIE

4.1	Inleiding	104
4.2	Onderzochte personen en toegepaste methoden	104
4.3	Resultaten	107
4.4	Discussie	117
4.5	Conclusies	118

#### Hoofdstuk 5

##### DE H<sub>2</sub>-ADEMTEST VOOR HET AANTONEN VAN GLUCOSEMALABSORPTIE EN VOOR HET ONDERZOEK NAAR BACTERIELE OVERGROEI IN DE DUNNE DARM

5.1	Inleiding	119
5.2	Toegepaste methoden en onderzochte personen	119
5.3	Resultaten	124
5.3.1	Resultaten van de glucose-H <sub>2</sub> -ademtest bij gezonde personen en bij verschillende groepen patienten	124
5.3.2	De resultaten van de glucose-H <sub>2</sub> -ademtest in vergelijking tot de uitkomsten van bacteriologisch onderzoek van dunne darmvocht	130
5.3.3	De resultaten van de glucose-H <sub>2</sub> -ademtest vergeleken met andere indirecte proeven om bacteriele overgroei in de dunne darm aan te tonen	132
5.3.4	De resultaten van de glucose-H <sub>2</sub> -ademtest in relatie tot de passagetijd door de dunne darm	136
5.4	Discussie	138
5.5	Conclusies	140

## Hoofdstuk 6

### DE H<sub>2</sub>-ADEMTEST VOOR HET AANTONEN VAN ZETMEELMALABSORPTIE

6.1	Inleiding	141
6.2	Onderzochte personen en toegepaste methoden	141
6.3	Resultaten	142
6.4	Discussie	143
6.5	Voorlopige conclusies	144

## Hoofdstuk 7

### DE H<sub>2</sub>-ADEMTEST VOOR BEPALING VAN DE PASSAGETIJD VAN MOND NAAR COECUM

7.1	Inleiding	145
7.2	Onderzochte personen en toegepaste methoden	145
7.3	Resultaten	146
7.4	Discussie	147
7.5	Conclusies	148

## Hoofdstuk 8

### DE H<sub>2</sub>-ADEMTEST VOOR HET ONDERZOEK VAN DE DARMFLOORA

8.1	Inleiding	149
8.2	Onderzochte personen en toegepaste methoden	149
8.3	Resultaten	151
8.3.1	Het effect van een elementair dieet op de H <sub>2</sub> -excretie	151
8.3.2	Het effect van colonspoeling en behandeling met Nebacetine forte op de H <sub>2</sub> -excretie	151
8.4	Discussie	152
8.5	Conclusies	153

SAMENVATTING	155
--------------	-----

SUMMARY	160
---------	-----

LITERATUUR	164
------------	-----

WOORDEN VAN DANK	172
------------------	-----

LEVENSLLOOP	173
-------------	-----

## INLEIDING EN VRAAGSTELLING

### 1.1 Inleiding

De belangstelling voor darmgassen is al eeuwen oud. Uit de associatie van flatulentie met het eten van bonen blijkt een juist inzicht in een aantal fysiologische processen die zich na een maaltijd in het maagdarmkanaal kunnen afspelen.

Ofschoon dus de belangstelling voor darmgassen en zelfs een zekere mate van inzicht in de oorsprong ervan gemeengoed zijn, is het wetenschappelijk onderzoek van gassen in het maagdarmkanaal pas sinds 10 à 15 jaar goed van de grond gekomen. Dit werd aanvankelijk gestimuleerd door de bonenindustrie (Newman, 1974). Voor deze handelssector was het een economisch belang om de "flatulentie factor" in bonen op te sporen en zo mogelijk te elimineren, omdat de sociale gevolgen van het eten van bonen een remmende invloed zouden kunnen hebben op de consumptie ervan. Door onderzoek van Calloway en Murphy in 1966 en 1968 bleek dat de oligosachariden stachyose en raffinose die in bonen voorkomen, voor de gasvorming verantwoordelijk zijn en dat daarbij  $H_2$  en  $CO_2$  geproduceerd worden. Van deze gassen was uit onderzoek van Ruge in 1862 reeds bekend dat zij - samen met  $CH_4$ ,  $N_2$  en  $O_2$  - de hoofdbestanddelen van flatus uitmaken. Nader onderzoek van Levitt en Bond in 1970 toonde aan dat  $N_2$  en  $O_2$  van ingeslikte buitenlucht afkomstig zijn, maar dat  $H_2$ ,  $CO_2$  en  $CH_4$  in het darmlumen ontstaan.

Het onderzoek van de darmgassen  $H_2$  en  $CH_4$  werd sterk vereenvoudigd toen bleek dat deze gassen via diffusie naar het bloed voor een deel in de uitademingslucht worden uitgescheiden. De productie in de darm correleert volgens onderzoek van Levitt in 1969 goed met de excretie in de uitademingslucht.

Sindsdien is de bepaling van  $H_2$  in de uitademingslucht op gang gekomen.  $H_2$  wordt uitsluitend in het maagdarmkanaal geproduceerd. Bacteriele afbraak van producten uit het voedsel, met name koolhydraten, is de enige bron voor  $H_2$  in het menselijk lichaam. Aangezien hoge concentraties darmbacteriën onder normale

omstandigheden alleen in het colon voorkomen, vindt alleen hier  $H_2$ -productie plaats. Koolhydraten die geheel geabsorbeerd worden bereiken de colonflora niet. Echter bij malabsorptie zal een deel van de koolhydraten met de colonbacteriën in aanraking komen en vervolgens afgebroken worden onder vorming van o.a.  $H_2$ . Aangezien het gevormde  $H_2$  gedeeltelijk wordt uitgedemd kan door analyse van uitademingslucht malabsorptie worden aangetoond. Dit is de achtergrond van de  $H_2$ -ademtest.

Bepaling van  $H_2$  in de uitademingslucht is eenvoudig uit te voeren. Het afnemen van bloed, het gebruik van radioactieve stoffen en andere meer belastende ingrepen zijn niet nodig. De  $H_2$ -ademtest leek dus een zeer aantrekkelijke onderzoeksmethode.

## 1.2 Vraagstelling

A. Allereerst moest de vraag beantwoord worden welke van de verschillende methoden die in gebruik zijn om uitademingslucht bij mensen te verkrijgen de meest geeigende is voor klinische doeleinden en in hoeverre de verschillende methoden vergelijkbaar zijn.

B. Gezien de vele toepassingsmogelijkheden rees de vraag of het niet mogelijk zou zijn het onderzoek dusdanig technisch te vereenvoudigen, dat toepassing in elk ziekenhuis mogelijk zou worden en niet beperkt hoefde te blijven tot enkele centra die over vrij kostbare en enigszins ingewikkelde analyse-apparatuur als een gaschromatograaf beschikken.

C. Op enkele gebieden van koolhydraatmalabsorptie was de waarde van de  $H_2$ -bepaling in uitademingslucht reeds naar voren gekomen. Wij stelden ons de vraag hoe betrouwbaar de  $H_2$ -ademtest zou zijn om lactosemalabsorptie aan te tonen en wat de waarde van deze test is om de passagetijd van mond tot coecum te bepalen.

D. Op een aantal terreinen was de toepasbaarheid van de  $H_2$ -ademtest nog onzeker zoals bijvoorbeeld voor het aantonen van bacteriele overgroei in de dunne darm en het onderzoek naar mogelijkheden om de bacterieflora in de darm medicamenteus of anderszins te beïnvloeden. Ook op deze terreinen werd het nut

van de  $H_2$ -bepaling in de uitademingslucht nagegaan.

E. Tenslotte vroegen wij ons af in hoeverre met de  $H_2$ -ademtest een gestoorde zetmeelvertering, zoals die bij pancreasinsufficiëntie voorkomt, kan worden aangetoond. Hierover zijn nauwelijks gegevens bekend.

## LITERATUURGEGEVENS

2.1 De vorming en excretie van darmgassen

## 2.1.1 Darmgas: hoeveelheid en samenstelling

Door Ruge werd reeds in 1862 vastgesteld dat darmgas vijf hoofdbestanddelen heeft:  $N_2$ ,  $O_2$ ,  $CO_2$ ,  $H_2$  en  $CH_4$ . De hoeveelheid gas die zich in de tr. digestivus bevindt kan op verschillende manieren gemeten worden. Door een lichaamsplethysmograaf kan een volumeverandering gemeten worden bij verhogen van de intra-abdominale druk (Bedell e.a., 1956). Op analoge wijze kan door verlaging van de luchtdruk waaraan de persoon is blootgesteld een volumeverandering gemeten worden (Greenwald e.a., 1969). Deze hangt af van de hoeveelheid gas die zich in het maag-darmkanaal bevindt en kan met de wet van Boyle berekend worden. Onder normale omstandigheden bleek slechts 100-115 ml gas in het maag-darmkanaal aanwezig te zijn.

Ook röntgenologisch kan door bestudering van een overzichtsfoto van de buik een goede indruk van de hoeveelheid darmgas verkregen worden (Wittenberg en Levitt, 1970).

Tenslotte kan zowel de totale hoeveelheid als de kwalitatieve samenstelling van de darmgassen bestudeerd worden met een perfusietechniek (Levitt, 1971). Hierbij werd via een tot voorbij het ligament van Treitz gelegen slang een drijfgas in de darm gepompt (argon, 45 ml/min), dat de in de darmen aanwezige gassen uitwast. Reeds 15-20 min. na het begin van de argonperfusie kon gas uit het rectum worden opgevangen. In de eerste 6 min. hierna daalde de hoeveelheid uitgewassen gas, waarna een constant niveau werd bereikt. Het in de eerste 6 min. uitgedreven gas - in zoverre dit meer bedroeg dan de constante hoeveelheid daarna - was het in de darmen aanwezige gas. Elf gezonde proefpersonen werden met de beschreven perfusietechniek onderzocht 5-7 uur na hun gebruikelijke ontbijt. De hoeveelheid gas aanwezig in de darm varieerde van 30-200 ml (gem. 90 ml  $\pm$  54 SD). De gemiddelde



samenstelling van dit gas was als volgt: 64% N<sub>2</sub>, 19% H<sub>2</sub>, 14% CO<sub>2</sub>, 8,8% CH<sub>4</sub> en 0,69% O<sub>2</sub>. Het darmgas dat uitgedreven wordt nadat een constant niveau van gasexcretie bereikt is, bestaat uit nieuw gevormd gas. De hoeveelheid hiervan was bij genoemde 11 proefpersonen gemiddeld 7,5 ml/min. Het bestond overwegend uit CO<sub>2</sub> (5,2 ml/min).

### 2.1.2 De oorsprong van darmgassen

Wat de oorsprong van darmgassen betreft zijn er in principe drie mogelijkheden: het inslikken van buitenlucht, productie in het darmlumen en diffusie vanuit het bloed naar het darmlumen (Bond en Levitt, 1977c).

N<sub>2</sub> en O<sub>2</sub> zijn afkomstig van ingeslikte lucht. Wat N<sub>2</sub> betreft kan door de productie van CO<sub>2</sub>, H<sub>2</sub> en CH<sub>4</sub> in de darm de partiële stikstofdruk in het darmlumen lager worden dan die in het bloed, waardoor geen diffusie naar het bloed kan plaatsvinden. (Levitt, 1971). De O<sub>2</sub>-concentratie in de darmen is zeer laag, mede door verbruik van O<sub>2</sub> door darmbacteriën.

Aangezien CO<sub>2</sub>, H<sub>2</sub> en CH<sub>4</sub> slechts in zeer lage concentraties in buitenlucht aanwezig zijn, kan het inslikken van lucht nauwelijks bijdragen aan deze drie componenten van darmgas. H<sub>2</sub> en CH<sub>4</sub> worden door kiemvrije ratten (Levitt e.a., 1968) en door pasgeboren babies niet uitgescheiden. Binnen 48 uur na de geboorte is H<sub>2</sub>-productie aantoonbaar, echter CH<sub>4</sub> wordt pas vanaf het 2e levensjaar geproduceerd (Levitt en Bond, 1970). De excretie van CO<sub>2</sub> en H<sub>2</sub> bleken met elkaar gecorreleerd te zijn (Levitt, 1971) en afhankelijk van het aanbod aan de darmbacteriën van een substraat dat zij kunnen fermenteren, zoals de oligosachariden raffinose en stachyose in bonen (Calloway en Murphy, 1968). Deze gegevens wijzen erop dat deze gassen in het darmlumen ontstaan.

Van H<sub>2</sub> staat vast dat de productie onder normale omstandigheden vrijwel uitsluitend in het colon plaatsvindt. Toedienen van 6 g lactose via een lange slang direct in de dunne darm deed de H<sub>2</sub>-productie vrijwel niet toenemen. Echter na toediening direct in het colon nam de hoeveelheid H<sub>2</sub> die rectaal kon worden opgevangen toe tot het dubbele of zelfs zesvoudige van de basale productie (Levitt, 1969).

Methaan ( $\text{CH}_4$ ) ontstaat eveneens in het darmlumen, echter uitsluitend in het colon. Voor zover bekend wordt de productie ervan niet beïnvloed door toediening van welk substraat ook aan de darmbacteriën. Verder bleek bij onderzoek van 280 volwassenen, dat de bevolking wat de  $\text{CH}_4$ -productie betreft, kan verdeeld worden in "producers" (33,6%) en "non-producers" (66,4%) (Bond e.a., 1971).

De  $\text{CO}_2$ -productie is evenals die van  $\text{H}_2$  afhankelijk van het aanbod van koolhydraten aan darmbacteriën (Steggerda en Dimmick, 1966; Steggerda, 1968; Calloway en Murphy, 1968). Er is echter nog een andere bron voor  $\text{CO}_2$  in darmgas. Het ontstaat eveneens door neutralisatie van  $\text{HCl}$  en vetzuren onder invloed van bicarbonaat in het proximale deel van de tr. digestivus. Een theoretische derde bron voor  $\text{CO}_2$  is diffusie vanuit het bloed naar het darmlumen. De partiële  $\text{CO}_2$ -druk in het darmlumen is echter in het algemeen hoger dan die in veneus bloed (Levitt, 1971), zodat diffusie meestal in omgekeerde richting plaatsvindt.

Darmgassen kunnen het lichaam in het algemeen op twee wijzen verlaten: als flatus en met de uitademingslucht. Wij zullen op elk van beide in de volgende paragrafen ingaan.

### 2.1.3 Flatus: hoeveelheid en samenstelling

Het volume van flatus, opgevangen via een rectumcanule, varieert van 400-1200 ml per dag (Kirk, 1949; Askevold, 1956). Deze hoeveelheid hangt samen met het gebruikte voedsel. Bij een bepaald dieet bedroeg het flatusvolume bij 5 gezonde personen, gemeten gedurende 2 uur na lunch en avondmaal 15 ml per uur. Als echter het dieet werd vervangen door een dieet dat voor 51% uit bonen bestond, steeg het flatusvolume tot 168 ml per uur (Steggerda, 1968).

Behalve de hoeveelheid veranderde ook de samenstelling van de flatus. Tijdens het basisdieet overwoog  $\text{N}_2$  (61%), terwijl tijdens het bonendieet 51,4% uit  $\text{CO}_2$  bestond (Steggerda, 1968). Een soortgelijke waarneming deden Calloway en Murphy in 1968. Zij verzamelden bij bezonde proefpersonen gas uit het rectum in periodes van een half uur gedurende 12 uren na een lunch die 100 g bonen bevatte. Vanaf 2 uur na deze maaltijd nam de flatus-

excretie toe. Zes uur na de maaltijd werd de hoogste excretie bereikt en deze bedroeg 300 ml per uur. Hierin overwogen  $\text{CO}_2$  en  $\text{H}_2$ . Tijdens voeding met een elementair dieet nam de hoeveelheid flatus af (Davies, 1971). Bij voortdurend nuchter blijven tot 8 uur 's avonds vonden Calloway en Murphy (1968) een productie van 20 ml per uur.

De frequentie waarmee flatus geloosd wordt werd door 7 gezonde vrijwilligers 1 week lang bijgehouden. Deze was gemiddeld  $13,6 \pm 5,6$  (SD) per dag. Onder abnormale omstandigheden kan de frequentie oplopen tot  $34 \pm 7,3$  (SD) per dag (Levitt e.a., 1976).

De genoemde 5 hoofdbestanddelen van flatus ( $\text{N}_2$ ,  $\text{O}_2$ ,  $\text{CO}_2$ ,  $\text{H}_2$  en  $\text{CH}_4$ ) maken samen meer dan 99% van het flatusvolume uit. Zij zijn alle reukloos. De geur van flatus is afkomstig van sporen  $\text{NH}_3$ ,  $\text{H}_2\text{S}$ , vluchtige aminozuren, vetzuren met korte keten en andere gassen (Levitt en Engel, 1975).

#### 2.1.4 Excretie van darmgassen in de uitademingslucht

Behalve met de flatus kunnen darmgassen het lichaam verlaten via de uitademingslucht. Dit geldt voor de drie voornaamste darmgassen welke in het darmlumen ontstaan:  $\text{CO}_2$ ,  $\text{H}_2$  en  $\text{CH}_4$ . Na diffusie naar het bloed en vandaar weer naar de alveolaire ruimte verschijnen deze gassen in de uitademingslucht. Het voorkomen van  $\text{H}_2$  en  $\text{CH}_4$  in uitademingslucht werd het eerst bestudeerd door Nielsen (1961). De  $\text{H}_2$ -excretie bleek na het eten van bonen en uien toe te nemen, de  $\text{CH}_4$ -excretie was hiervan echter onafhankelijk (Calloway, 1966; Calloway en Murphy, 1968).

Onderzoek van Levitt (1969) toonde aan, dat de  $\text{H}_2$ -excretie met de uitademingslucht gecorreleerd is aan de  $\text{H}_2$ -productie in het darmlumen. Hij mat simultaan de  $\text{H}_2$ -productie in de darm en de excretie met de uitademingslucht. Hiertoe intubeerde hij 10 proefpersonen met een slang met 3 lumina (eindigend resp. in het middendeel van het jejunum, in het proximale ileum en direct vóór de valvula Bauhini). Via de slang die in het middengedeelte van het jejunum eindigde werd de darm voortdurend geperfundeed met een gas (stikstof of lucht) om het in de darm gevormde gas uit te drijven. Dit werd vervolgens met een rectumcanule opgevangen. Via de slang in het proximale ileum diende hij lactose toe. De

hierop volgende  $H_2$ -productie in de darm correleerde goed met de  $H_2$ -excretie met de uitademingslucht. Gemiddeld werd  $14\% \pm 4,5$  (SD) van de totale productie uitgedemd. Onder meer natuurlijke omstandigheden zal een groter percentage via de longen worden uitgescheiden, aangezien bij bovengenoemd onderzoek de darmen constant werden geperfundeed. Dit "uitwassen" maakt de hoeveelheid die beschikbaar is voor diffusie naar het bloed en excretie in de longblaasjes kleiner. In overeenstemming hiermee vond Levitt dat vóór de start van de darmperfusie een hoger percentage (21%) van de totale  $H_2$ -productie via de ademlucht werd uitgescheiden dan tijdens de perfusie (14%).

De uitscheiding van  $CH_4$  met de ademlucht is per individu over één dag vrijwel constant, echter van dag tot dag vertoont deze lichte schommelingen. De excretie wordt niet beïnvloed door dieetfactoren (Calloway, 1966; Bond e.a., 1971). De concentratie  $CH_4$  in eind-expiratoire lucht bij "producers" varieerde van 1-70 ppm (gemiddeld 14,8 ppm). Er bleek een duidelijke familiale factor te zijn die bepaalt of een individu "producer" is of niet. Kinderen onder 2 jaar hadden geen van alle  $CH_4$  in de uitademingslucht. Boven 10 jaar was de verdeling "producers" tot "non-producers" gelijk aan die bij volwassenen (Bond e.a., 1971).

Uit een recent onderzoek is gebleken, dat de frequentie van  $CH_4$ -producers significant hoger was bij patienten met coloncarcinoom vergeleken met patienten met niet-maligne colonafwijkingen en controlepersonen (Haines e.a., 1977).

$CO_2$  dat proximaal in de dunne darm ontstaat uit de reactie van zuren met bicarbonaat, diffundeert waarschijnlijk grotendeels in meer distale dunne darmgedeelten naar het bloed en bereikt het rectum niet. Het in het colon ontstane  $CO_2$  zal gedeeltelijk via flatus en gedeeltelijk pulmonaal worden uitgescheiden (Levitt en Engel, 1975).

## 2.2 De bacterieflora van het maagdarmkanaal

### 2.2.1 De oorsprong van de darmflora en factoren die deze beïnvloeden

Het maagdarmkanaal van neonaten is steriel, echter kort na

de geboorte wordt het gekoloniseerd (Scheline, 1973). Alle typen bacteriën in feces komen ook in speeksel voor (Drasar e.a., 1969), zij het in andere concentraties. Proximaal van een obstructie in de dunne darm ontwikkelt zich een fecale flora, echter distaal van de stenose neemt het aantal bacteriën niet toe (Bishop en Allcock, 1960). In maag en jejunum bevinden zich in nuchtere toestand weinig bacteriën, echter na een maaltijd neemt het aantal tijdelijk toe (Drasar e.a., 1969). Deze gegevens wijzen er op dat de herkomst van de bacterieflora van het maag-darmkanaal gezocht moet worden buiten de patient, resp. in de mond- en keelholte en dat van hieruit een verbreiding over maag en darm plaatsvindt. Bij een retrograde kolonisatie vanuit het colon passen deze gegevens niet.

Er zijn een aantal factoren die de hoeveelheid en samenstelling van de bacterieflora beïnvloeden. Drasar e.a. (1969) toonden aan dat bij nuchtere proefpersonen maagsap met een lage pH vrijwel geen bacteriën bevat. Na een maaltijd wordt het maagzuur tijdelijk geneutraliseerd door het voedsel. In maagsap verkregen na een maaltijd was het aantal micro-organismen dat kon worden geïsoleerd afhankelijk van de pH. Als deze lager dan 3 was, werden vrijwel geen bacteriën gekweekt. Bij nuchtere patienten met achloorhydrie was het aantal micro-organismen in maag en proximale jejunum toegenomen. Gray en Shiner (1967) vonden in het maag- en jejunumvocht van 6 patienten met een partiële maagresectie en 8 patienten met een pernicieuze anemie, elk met een pH van het maagsap van meer dan 5, in de helft van de gevallen coliforme bacteriën. Deze werden niet gevonden bij 10 proefpersonen. Andere onderzoekers (Dellipiani en Girdwood, 1964) vonden bij pernicieuze anemie bij de meeste patienten geen wezenlijke veranderingen van de bacterieflora. Gorbach en Tabaqchali (1969) vonden bij 12 patienten met een partiële maagresectie hoge concentraties coliforme bacteriën in maag en proximale dunne darm. Ook Greenlee e.a. (1970) vonden bij patienten die een partiële maagresectie en vagotomie hadden ondergaan, postoperatief een toename van het aantal bacteriën in het jejunumvocht. De kwalitatieve samenstelling van de darmflora was echter onveranderd en de toename van het aantal bacteriën correleerde niet met een daling van de pH postoperatief.

Een tweede factor die van invloed is op de darmflora is de peristaltiek die onder normale omstandigheden zorgt voor een propulsie van de inhoud van het maag-darmkanaal in distale richting. In overeenstemming hiermee neemt het aantal bacteriën vóór de ileocoecaalklep toe en is dit aantal in het colon, waar de propulsie trager verloopt dan in de dunne darm vele malen groter (Drasar e.a., 1969; Gorbach e.a., 1967b). Pathologische veranderingen waarbij stase van darminhoud optreedt, gaan meestal gepaard met bacteriele overgroei in de dunne darm (Gorbach, 1971).

De invloed van voedselopname op de bacterieflora werd reeds genoemd. Het soort voedsel is slechts tot op zekere hoogte een bepalende factor. Borstvoeding bevordert de groei van bifidobacteriën. Overigens ondergaat de darmflora echter geen essentiële wijzigingen bij verandering van het dieet (Speck e.a., 1970; Haenel, 1970).

### 2.2.2 De samenstelling van de darmflora onder normale omstandigheden

De flora van de tr. digestivus varieert tussen mond en anus zowel kwalitatief als kwantitatief.

In speeksel werd door Drasar e.a. (1969) een bonte flora, zowel bestaande uit aerobe als uit anaerobe bacteriën, aangetroffen. In de maag, het duodenum en het proximale deel van de dunne darm was de concentratie van de bacteriën meestal minder dan  $10^4$  per ml darmvocht. Deze flora bestond overwegend uit gram-positieve facultatief-anaerobe organismen (Gorbach, 1971; Scheline, 1973). Vóór de ileocoecaal klep bestaat een overgangsgebied waar het aantal strikt anaerobe bacteriën toeneemt. In het colon is de concentratie van de bacteriën  $10^9$ - $10^{10}$  per ml darminhoud. De flora bestaat hier overwegend uit strikt anaerobe bacteriën, zoals Bacteroides en Bifidobacteriën. Daarnaast worden facultatief anaerobe bacteriën gevonden, zoals E. coli. De concentratie van de bacteriën is er echter nog 10 tot 100 maal groter (Drasar e.a., 1969; Gorbach e.a., 1967a; Gorbach, 1971).

Behalve in het darmlumen zijn er ook bacteriën in het slijm dat nauw met de mucosa van de darm verbonden is. Echter er werden geen micro-organismen gevonden in de mucosa zelf (Plaut e.a.,

### 2.2.3 Metabole effecten van de darmbacteriën

De bacterieflora van het maag-darmkanaal vormt een ingewikkeld ecologisch systeem. Enerzijds beïnvloeden de verschillende micro-organismen elkaar (Donaldson, 1964; Bryant, 1972), anderzijds bestaat er een interactie tussen micro-organismen en gastheer.

Darmbacteriën zijn, in hun grote verscheidenheid, tot vele chemische reacties in staat (Scheline, 1973). Enkele voorbeelden betreffende de vorming van bepaalde stoffen door de darmbacteriën zijn de vorming van ammoniak uit ureum en de vorming van indol uit tryptofaan. Ook kunnen substanties gevormd worden, bijvoorbeeld uit cyclamaat, die mogelijk carcinogeen zijn (Scheline, 1973).

Geneesmiddelen kunnen na toediening per os door darmbacteriën worden omgezet in hun actieve vorm, zoals bijvoorbeeld gebeurt met Salazopyrine<sup>(R)</sup>. Dit wordt in normale omstandigheden in het colon gesplitst in 5-amino-salicylzuur en sulfapyridine. Geneesmiddelen, die in de lever gegluconideerd worden, kunnen na hydrolyse door darmbacteriën gereabsorbeerd worden en een enterohepatische kringloop ondergaan. Bij ratten is dit o.a. aangetoond voor stilboestrol (Scheline, 1973). Galzouten worden onder normale omstandigheden voor meer dan 95% in het distale ileum geabsorbeerd in de geconjugeerde vorm en ondergaan een enterohepatische kringloop. Echter bij bacteriele overgroei in de dunne darm kan voortijdige deconjugatie door de darmbacteriën plaatsvinden, met als gevolg een verminderde concentratie van geconjugeerde galzouten, wat gevolgen kan hebben voor de vetabsorptie. Deze deconjugatie gebeurt overwegend door strikt anaerobe bacteriën, zoals Bifidobacteriën, Clostridia, sommige Bacteroides en sommige Veillonellae. Slechts enkele facultatief anaerobe of aerobe bacteriën, zoals sommige Lactobacillen en Enterococci zijn hiertoe in staat (Lewis en Gorbach, 1972).

Voedselbestanddelen kunnen door de bacteriën benut worden voor hun eigen stofwisseling. Vitamine B<sub>12</sub> wordt, voor zover het niet wordt geabsorbeerd, aan darmbacteriën gebonden en

mogelijk gemetaboliseerd, terwijl foliumzuur door sommige bacteriën wordt gebruikt en door andere wordt geproduceerd (Tabaqchali, 1970). Triglyceriden kunnen door darmbacteriën worden afgebroken tot hydroxyvetzuren (Webb e.a., 1963). Koolhydraten en in mindere mate eiwitten kunnen worden afgebroken onder vorming van waterstofgas (Levitt en Engel, 1975). Bij deze reactie komen electronen vrij welke aan waterstofionen worden gebonden onder vorming van moleculaire waterstof ( $H_2$ ). Deze omzetting wordt gekatalyseerd door het enzym hydrogenase, dat in bepaalde darmbacteriën aanwezig is. Deze behoren deels tot de strikt anaeroben, zoals Clostridia, Bacteroides, Peptostreptococci en Veillonellae, en deels tot de facultatief anaeroben, zoals de coliforme bacteriën (Gray en Gest, 1965).

Er zijn 2 typen reactieketens die tot de vorming van  $H_2$  leiden (Mayhew en Veeger, 1976). Het eerste type vindt plaats bij de strikt anaerobe bacteriën. Deze fermenteren koolhydraten onder vorming van pyrodruivezuur. Dit wordt middels oxydatieve fosforylering verder afgebroken tot acetylfosfaat en  $CO_2$ . De hierbij vrijkomende electronen worden met hydrogenase als katalysator aan  $H^+$  ionen gekoppeld onder vorming van  $H_2$ . Bij dit electronentransport treedt het ijzerbevattende eiwit ferredoxine als electronencarrier op.

Een tweede type reactie heeft plaats bij facultatief anaerobe bacteriën. Deze produceren eveneens pyrodruivezuur bij de fermentatie van koolhydraten. Dit wordt vervolgens echter afgebroken tot mierzuur. Met behulp van hydrogenase en een cytochrom als electronencarrier wordt uit mierzuur  $CO_2$  en  $H_2$  geproduceerd.

Behalve bacteriën die  $H_2$  produceren, zijn er ook die  $H_2$  verbruiken. Zo kunnen sommige bacteriën, met name Clostridia, pyridinenucleotide reduceren met  $H_2$ . Hierbij fungeert hetzelfde enzym hydrogenase als katalysator. Door methaanbacteriën kan  $H_2$  aan  $CO_2$  gebonden worden onder vorming van  $CH_4$ . Een derde type reactie waarbij  $H_2$  verbruikt wordt is de knalgasreactie, waarbij  $H_2$  aan  $O_2$  gebonden wordt onder vorming van  $H_2O$  (Schlegel, 1969; Mayhew en Veeger, 1976).

De hoeveelheid  $H_2$  die in de uitademingslucht verschijnt, is



dus de resultante van enerzijds productie en anderzijds verbruik van  $H_2$  door darmbacteriën, althans in zoverre geen rectaal verlies van  $H_2$  optreedt. Levitt e.a. (1973 en 1974) vonden na toedienen van  $H_2$  aan geïsoleerde dunne darmsegmenten van ratten, dat van de  $H_2$  vrijwel 100% met de uitademingslucht werd uitgescheiden. Toedienen van  $H_2$  in het colon of via een permanente catheter in het coecum resulteerde echter slechts in een pulmonale excretie van 14-15%. In het colon, met zijn rijke bacterieflora, werd kennelijk een groot deel van de toegediende  $H_2$  door de bacteriën verbruikt.

#### 2.2.4 het onderzoek van de darmflora

Door onderzoek van bloed, urine, feces, gal, door belastings-testen en door röntgenonderzoek kunnen slechts indirecte aanwijzingen over de darmflora verkregen worden. Voor meer directe informatie over aantal en soort van de darmbacteriën is het verkrijgen van monsters uit de inhoud van het maag-darmkanaal nodig, liefst op verschillende niveaus (Gorbach en Tabaqchali, 1969). Alleen tijdens chirurgische ingrepen kan darmvocht direct uit het lumen van de darm worden geaspireerd. In andere omstandigheden kan alleen na intubatie per os darmvocht worden opgezogen. De resultaten verkregen door aspiratie via een eenvoudige slang met een open uiteinde gelegd tot in de darm, waren bij honden vergelijkbaar met de resultaten verkregen met directe aspiratie uit de darm na chirurgisch openen van de buikholte (Gorbach e.a., 1967b).

Aangezien het onderzoek van strikt anaerobe bacteriën van bijzonder belang is, moet het darmvocht onder anaerobe condities getransporteerd en gekweekt worden. Dit kan gebeuren in metalen of glazen containers waarin  $H_2$  en  $CO_2$  worden gegenereerd om het anaerobe milieu te handhaven. Beter is het darmvocht te incuberen in een kast waardoorheen continu een anaeroob gasmengsel wordt gevoerd bestaande uit  $CO_2$ ,  $H_2$  en  $N_2$ . Deze kast kan van buitenaf bediend worden via rubber handschoenen die aan een doorzichtige wand zijn gefixeerd. Een betrekkelijk eenvoudige en praktische handleiding voor het uitvoeren van anaerobe kweken geven Finegold e.a. (1977).

Er zijn selectieve en niet-selectieve kweekmedia, elk met hun

eigen toepassingsgebied. Na 48 uur incubatie worden de eerste resultaten afgelezen, waarna zonodig subcultures worden ingezet. Na 5 dagen kan doorgaans de uiteindelijke uitslag worden afgegeven. Door het maken van een verdunningsreeks van het te onderzoeken darmvocht en kweken in te zetten van deze verdunningen kan uit het aantal kolonies in de verschillende verdunningen het aantal micro-organismen per ml darmvocht berekend worden.

Voor de identificatie van de geïsoleerde bacteriestammen wordt gebruik gemaakt van morfologische criteria, zoals vorm van de kolonie en microscopisch aspect na Gram-kleuring. Tevens worden hiervoor chemische reacties gebruikt, bijvoorbeeld door het vermogen van de bacteriestam tot fermentatie van verschillende soorten koolhydraten te testen.

#### 2.2.5 Bacteriele overgroei in de dunne darm

Onder abnormale omstandigheden kan het aantal bacteriën in de dunne darm toenemen. Tevens verandert dan het soort bacteriën. In het bijzonder gaan de anaeroben overwegen.

Gorbach en Tabaqchali (1969) onderzochten de bacterieflora op verschillende niveaus in het maag-darmkanaal bij 4 patienten met een partiële maagresectie en 11 patienten met diverse afwijkingen van de dunne darm (divertikels, stricturen door de ziekte van Crohn, resectie van het ileum) en tekenen van malabsorptie blijkens een gestoorde absorptie van vitamine B<sub>12</sub> en een toegenomen uitscheiding van vet in de feces. Al deze patienten hadden hoge concentraties coliforme bacteriën in de proximale en distale gedeelten van de dunne darm. Bacteroides werd echter slechts gevonden op het niveau waar de dunne darmafwijking zich bevond. Als deze bacterie werd geïsoleerd, werden tevens vrije (gedeconjugeerde) galzuren in de dunne darm aangetroffen.

Drasar en Shiner (1969) onderzochten jejunumvocht van 113 patienten. Van deze hadden er 48 een partiële maagresectie ondergaan, 17 hadden divertikels of blind-eindigende darmlissen, 6 leden aan enteritis regionalis, 5 hadden darmspruw, 4 een pancreatitis en de overigen hadden andere dunne darmafwijkingen of diarree van onbekende oorsprong. In het jejunum van patienten met anatomische afwijkingen waarbij blind-eindigende darmgedeelten

met stase van darminhoud aanwezigwaren ("blind loops"), werden verhoogde concentraties van darmbacteriën gevonden. Deze bestonden overwegend uit Bacteroides en Bifidobacteriën en tevens uit Enterobacteriën zoals E. coli. Echter bij darmspruw, pancreatitis, enteritis regionalis en diarree van onbekende oorsprong was het aantal en het soort van de geïsoleerde bacteriën niet wezenlijk verschillend van die welke bij proefpersonen waren gevonden (Drasar e.a., 1969).

De voornaamste factoren, die een rol spelen bij het ontstaan van bacteriele overgroei in de dunne darm zijn de volgende (Gorbach, 1971; Losowsky e.a., 1974). Allereerst gaan anatomische afwijkingen, waarbij stase optreedt in de dunne darm, zoals divertikels, stenosen, blind-eindigende darmlissen, fistels naar het colon en gastro- of entero-enterostomieën vaak met bacteriele overgroei gepaard. De ziekte van Crohn gaat op zichzelf meestal niet met bacteriele overgroei gepaard (Drasar en Shiner, 1969), echter wel als de ziekte in het proximale deel van de dunne darm is gelocaliseerd of gepaard gaat met fistels tussen darmlissen (Beeken en Kanich, 1973) of stricturen (Gorbach en Tabaqchali, 1969).

Ook motiliteitsstoornissen van de dunne darm zoals voorkomen bij sclerodermie, bij intestinale pseudo-obstructie of na het gebruik van bepaalde medicamenten zoals ganglionblokkerende stoffen, geven vaak aanleiding tot het ontstaan van bacteriele overgroei.

Een derde factor is mogelijk een te hoge pH in de maag. Dit kan voorkomen bij achloorhydrie of secundair na een partiële maagresectie of vagotomie. Als na partiële maagresectie de continuïteit wordt hersteld met het aanleggen van een aanvoerende lis, zoals bij een anastomose volgens Polya of Billroth II gebeurt, dan kan dit een extra factor voor het ontstaan van bacteriele overgroei zijn (Drasar e.a., 1969).

De gevolgen van bacteriele overgroei kunnen sterk variëren. Soms is een evenwicht ontstaan tussen gastheer en microflora, zodat deze laatste zich min of meer als commensaal gedraagt. De gevolgen voor de patient kunnen dan minimaal of zelfs afwezig zijn (Gorbach, 1971). Als echter strikt anaerobe bacteriën in

hoge concentratie in de dunne darm voorkomen, treden meestal wel symptomen op (Gorbach en Tabaqchali, 1969; Drasar en Shiner, 1969).

Diarree kan samengaan met een toegenomen vetgehalte van de feces. Als steatorree gepaard gaat met het voorkomen van gedeconjugeerde galzouten in de dunne darm, dan is de steatorree zeer waarschijnlijk het gevolg van de bacteriele overgroei. Diarree kan ook veroorzaakt worden doordat hydroxyvetzuren door darmbacteriën gevormd worden uit triglyceriden (Webb e.a., 1963). Deze hydroxyvetzuren verstoren het transport van water en electrolyten, zodat geen steatorree maar waterige diarree ontstaat. Tenslotte kan diarree het gevolg zijn van de afbraak van koolhydraten in de dunne darm bij bacteriele overgroei (Levitt, 1969; Metz e.a., 1976b; Gracey e.a., 1969).

Anemie bij bacteriele overgroei kan berusten op malabsorptie van vitamine B<sub>12</sub>, terwijl het foliumzuurgehalte in het bloed soms juist verhoogd is door de aanmaak van foliumzuur door de abnormale bacterieflora (Tabaqchali, 1970).

Voor de diagnose bacteriele overgroei in de dunne darm kunnen indirecte aanwijzingen verkregen worden op grond van verschillende onderzoeksmethoden: bepaling van de absorptie van vitamine B<sub>12</sub>, bepaling van de indicanuitscheiding in de urine (Losowsky e.a., 1974; Greenberger e.a., 1968), meting van de excretie van <sup>14</sup>CO<sub>2</sub> in de uitademingslucht na toediening van <sup>14</sup>C-glycinecholzuur (Fromm en Hofmann, 1971; Sherr e.a. 1971; Fromm e.a., 1973), meting van de H<sub>2</sub>-excretie in de uitademingslucht (Levitt, 1969; Metz e.a., 1976b), de xylosebelastingstest, de vetexcretie in de feces, en andere. Elk van deze onderzoeksmethoden wijst echter niet exclusief op bacteriele overgroei. Een zekere diagnose kan uitsluitend door bacteriologisch onderzoek van darmvocht gesteld worden. Als dit wijst op bacteriele overgroei is het nuttig om na te gaan of met antibiotica de klachten en symptomen van de patient verbeteren. Pas dan mag geconcludeerd worden dat deze aan de abnormale bacterieflora te wijten waren.

De behandeling van bacteriele overgroei moet zo mogelijk gericht zijn op het wegnemen van de genoemde oorzakelijke factoren. Daarnaast komen antibiotica in aanmerking. Gorbach en Tabacqchali (1969) vonden dat tetracycline zowel het aantal aeroben en facul-

tatief anaeroben, als het aantal strikt anaerobe bacteriën reduceerde. Bij 2 patiënten die werden behandeld met lincomycine verminderde de concentratie van Bacteroides en Clostridia in het darmvocht aanzienlijk. Tegelijk hiermee verdwenen de gedeconjugeerde galzouten uit de dunne darm en verbeterden de symptomen van beide patiënten. Na het staken van de therapie met antibiotica blijft deze verbetering niet altijd gehandhaafd (Gorbach en Tabaqchali, 1969, Drasar en Shiner, 1969).

## 2.3 Het meten van de H<sub>2</sub>-excretie in de uitademingslucht

### 2.3.1 Basisgegevens

#### 2.3.1.1 het principe van de H<sub>2</sub>-ademtest

Nielsen (1961) was de eerste die H<sub>2</sub> in uitgeademde lucht bepaalde. Deze bepaling is later door Calloway (1966) gebruikt om de excretie van H<sub>2</sub> en CH<sub>4</sub> (methaan) in de uitademingslucht te bestuderen na het nuttigen van een standaardmaaltijd bestaande uit bonen en uien. Zij vond dat 3 tot 4 uur na het eten van bonen de H<sub>2</sub>-excretie in de uitademingslucht toenam hetgeen niet gebeurde na een maaltijd zonder deze bestanddelen. Uien hadden een minder uitgesproken effect. De methaanexcretie werd niet beïnvloed door het soort voedsel dat gegeten werd. Per individu bleek de methaanexcretie door de dag vrijwel constant te zijn. In een later onderzoek (Calloway en Murphy, 1968) werden deze bevindingen bevestigd en tevens gecorreleerd met de flatus. De toename van de H<sub>2</sub>-excretie in de uitademingslucht liep parallel aan een toename van het flatusvolume en in het bijzonder aan de concentratie van H<sub>2</sub> en CO<sub>2</sub> hierin.

Door bepaalde fracties uit bonen apart toe te dienen bleek, dat de oligosachariden raffinose en stachyose verantwoordelijk waren voor de "flatulentie factor" in bonen. Een andere waarneming van deze zelfde onderzoekers was dat de H<sub>2</sub>-excretie toenam tijdens stress. Hierover zijn echter geen andere waarnemingen in de literatuur verschenen.

Fundamenteel onderzoek, dat de basis legde voor de toepas-

sing van de bepaling van  $H_2$  in uitademingslucht als onderzoeksmethode in de gastroenterologie werd in 1969 gepubliceerd door Levitt. Hij bepaalde de plaats van de  $H_2$ -productie in de tr. digestivus door 15 nuchtere proefpersonen te intuberen met een slang met drie lumina. Deze methode van onderzoek werd reeds beschreven in 2.1.4. Tevens werd uitademingslucht verkregen door rebreathing in een spirometer. Nadat gasmonsters waren afgenomen spoot hij 6 g lactose zowel in het proximale deel van de dunne darm als in het meest distale deel van het ileum, juist vóór de valvula Bauhini. Het bleek dat zowel de  $H_2$ -productie in de darm als de  $H_2$ -excretie in de uitademingslucht nauwelijks stegen na het toedienen van lactose in het proximale deel van de dunne darm. Echter na toediening ervan vlak vóór de valvula Bauhini trad in de darm een forse stijging van de  $H_2$ -productie op (tot het zesvoudige van de basale waarde) en nam tegelijk de  $H_2$ -excretie in de ademlucht sterk toe. Deze laatste excretie correleerde goed ( $r=0,95$ ) met de  $H_2$ -productie in de darm. Gemiddeld werd in deze opstelling  $14,5 \pm 4,5\%$  van de  $H_2$  die in de darm was geproduceerd met de uitademingslucht uitgescheiden. Dank zij deze goede correlatie kan de  $H_2$ -excretie in de uitademingslucht gebruikt worden om de  $H_2$ -productie in de darm te meten.

#### 2.3.1.2 de $H_2$ -ademtest voor het aantonen van koolhydraatmalabsorptie

Dit gegeven hebben Levitt en Donaldson (1970) vervolgens gebruikt om te onderzoeken of de  $H_2$ -excretie in de uitademingslucht voor het onderzoek van koolhydraatmalabsorptie toegepast kon worden. Bij nuchtere proefpersonen werd de  $H_2$ -excretie in de ademlucht gemeten door hen 4 minuten te laten ademen in een spirometer gevuld met zuurstof. Hierna werd in een ademmonster uit de spirometer de  $H_2$ -concentratie gaschromatografisch bepaald. Door berekening van het totale verdelingsvolume kon de  $H_2$ -excretie in ml worden bepaald. Dit volume gedeeld door 4 werd aangeduid als de  $H_2$ -excretie in ml/min. Na toediening van 100 g glucose aan 24 gezonde proefpersonen trad na 2 en 4 uur in geen enkel geval een stijging van de  $H_2$ -excretie op vergeleken met de nuchtere waarde. In feite trad zelfs een lichte daling op, zoals ook

gezien werd bij 7 proefpersonen die geen substraat kregen toegediend en nog 4 uur langer nuchter bleven. In tegenstelling hiermee trad bij 19 proefpersonen wel een stijging op na 25 g xylose, een suiker waarvan bekend is dat deze ook bij normale personen niet volledig wordt geabsorbeerd. In principe was hiermee aangetoond dat door de  $H_2$ -excretie via de ademlucht te meten malabsorptie van een koolhydraat (xylose) kon worden onderscheiden van normale absorptie (glucose).

Dezelfde onderzoekers hebben dit onderzoek toen toegepast bij 23 personen die zij 50 g lactose toedienden en bij wie tegelijk de verandering in het bloedsuikergehalte werd gemeten (lactose tolerantietest, LTT). Er was een duidelijke overeenstemming tussen de resultaten van de  $H_2$ -excretie en die van de LTT bij 20 van de 23 personen. Acht personen hadden diarree na de lactose-toediening en alle acht hadden een vlakke LTT terwijl zeven van hen een toename van de  $H_2$ -excretie van meer dan 0,5 ml/min hadden. Bij 15 van de 23 trad geen diarree op en deze hadden alle een stijging van de  $H_2$ -excretie van minder dan 0,30 ml/min. De feces van één persoon die diarree kreeg, een vlakke LTT had, maar geen stijging van de  $H_2$ -excretie, bleken geen  $H_2$  te kunnen produceren na incubatie met lactose. Dit in tegenstelling tot de feces van 7 controle-personen. Kennelijk ontbrak bij deze persoon die colonflora die nodig is om lactose te kunnen fermenteren onder vorming van  $H_2$ .

#### 2.3.1.3 kwantitatieve bepaling van koolhydraatmalabsorptie

De  $H_2$ -excretie bleek afhankelijk te zijn van de toegediende dosis in gevallen van koolhydraatmalabsorptie. Levitt en Donaldson (1970) gaven aan 4 personen die een duidelijke toename van de  $H_2$ -excretie hadden na 50 g lactose, lagere doses van 20, 10 en 5 g. De  $H_2$ -excretie bleek af te nemen bij deze lagere doses. Terwijl 20 en 10 g nog bij alle 4 een stijging van de  $H_2$ -excretie veroorzaakte, trad na 5 g lactose nog slechts bij 2 van de 4 een lichte stijging op. Het leek er dus op dat de mate van toename van de  $H_2$ -excretie correleerde met de mate van lactosemalabsorptie. In een latere studie hebben Bond en Levitt (1972) de  $H_2$ -excretie als kwantitatieve test voor koolhydraat-

malabsorptie verder ontwikkeld. Zij onderzochten de  $H_2$ -productie die optrad in homogenaten van verse menselijke feces na incubatie met eenzelfde dosis van verschillende koolhydraten (lactose, sucrose, glucose, lactulose en maltose).

De  $H_2$ -productie bleek voor elk van de onderzochte koolhydraten gelijk te zijn. In overeenstemming hiermee gaf instillatie van eenzelfde dosis lactulose, sucrose of glucose direct in het coecum bij ratten een even grote  $H_2$ -excretie.

Voor het onderzoek bij proefpersonen en patienten pasten zij een rebreathing methode toe, die verder verfijnd was. De te onderzoeken persoon bleef gedurende 3 tot 6 uur aangesloten op een gesloten systeem via een kap over zijn hoofd, welke met een rubber ring rond zijn hals afsloot. De hoeveelheid  $O_2$  in het systeem werd voortdurend aangevuld op geleide van het verbruik. Periodiek werden luchtmonsters genomen, waarin de  $H_2$ -concentratie werd bepaald. Op deze wijze maten zij bij 9 proefpersonen de  $H_2$ -excretie na 6,5, 13 en 26 g lactulose. Na toedienen van dit niet-absorbeerbare disacharide nam de  $H_2$ -excretie (gemeten als het oppervlak onder de curve gedurende 2 uur na het begin van de stijging) lineair toe met de toegediende dosis. Deze resultaten wijzen erop dat het mogelijk is met dit wat ingewikkelde en voor de patient nogal belastende systeem een kwantitatieve indruk te krijgen over de hoeveelheid koolhydraat die door malabsorptie het colon bereikt.

De mogelijkheid om de koolhydraatmalabsorptie kwantitatief te meten werd door hen toegepast bij 5 patienten met een partiële maagresectie en een Billroth II anastomose die klaagden over diarree en vermagering sinds de operatie (Bond en Levitt, 1972). Bij deze patienten werd eerst de  $H_2$ -excretie gemeten na 13 g lactulose en vervolgens na 100 g glucose. Aangezien de  $H_2$ -excretie gelijk zal zijn, wanneer eenzelfde hoeveelheid van deze beide koolhydraten het colon bereikt, is door vergelijking van het oppervlak onder de curve van de  $H_2$ -excretie na lactulose met die na glucose te berekenen hoeveel gram van de toegediende 100 g glucose het colon heeft bereikt. Het bleek dat bij elk van de 5 patienten een deel van de glucose niet werd geabsorbeerd (varierend van 3 tot 17 g). Bij 4 van de 5 trad diarree op na deze test. Een lagere dosis van 25 g glucose werd door deze 5 patienten wel



volledig geabsorbeerd. In een recent onderzoek (Bond en Levitt, 1977a) werden 10 patiënten met diarree na maagresectie bestudeerd op dezelfde wijze. Alle 10 bleken de 100 g glucose niet volledig te absorberen. Tien personen, die een maagresectie hadden ondergaan doch geen klachten hadden over diarree en 10 proefpersonen absorbeerden deze dosis volledig. Het kwantitatief bepalen van koolhydraat malabsorptie pasten Bond en Levitt (1976) ook toe bij 6 patiënten met lactasedeficientie en 4 proefpersonen. Na intubatie met een slang tot in het distale ileum werd per os 12,5 g lactose toegediend, gemengd met 4 g polyethyleenglycol (PEG). De  $H_2$ -excretie werd gemeten zoals boven beschreven en vergeleken met de  $H_2$ -excretie na 10 g lactulose. Op deze wijze werd het percentage niet geabsorbeerde lactose bepaald. Dit correleerde goed met de directe meting van de hoeveelheid lactose die door de slang uit het distale ileum kon worden geaspireerd (0-8% van de toegediende dosis bij 4 normalen, resp. 42-75% bij patiënten met lactasedeficientie).

### 2.3.2 Methoden voor het verkrijgen van uitademingslucht

Er zijn 3 methoden in gebruik.

#### 1 De methode met gemengde expiratielucht.

Deze kan worden verkregen door de te onderzoeken persoon te laten uitademen in een ballon totdat een bepaald volume, bijvoorbeeld 4 l is bereikt (Calloway, 1966; Gearhart e.a., 1976). Ook kan gedurende een bepaalde tijd, bijvoorbeeld 4 min. worden uitgeademd (Metz e.a., 1976c). Op deze wijze kan bij het uitvoeren van de  $H_2$ -ademtest bijvoorbeeld elke 15-30 min. expiratielucht worden verkregen. In een monster hieruit wordt vervolgens gaschromatografisch de  $H_2$ -concentratie bepaald en uitgedrukt in ppm (parts per million of het aantal moleculen  $H_2$  op 1 miljoen moleculen in het luchtmengsel). Als de ademplucht gedurende een bekende tijd werd verzameld, dan kon de  $H_2$ -excretie per minuut berekend worden.

Douwes en Fernandes (1978) pasten de methode om gemengde expiratielucht te verkrijgen aan, zodat deze ook voor kinderen en zelfs voor babies kon toegepast worden.

## 2 De rebreathing methode

De te onderzoeken persoon ademt met een klem op de neus via een mondstuk in en uit in een gesloten systeem dat gevuld is met zuurstof, bijvoorbeeld een spirometer (Levitt, 1969; Levitt en Donaldson, 1970) of een ballon (Newcomer e.a., 1975).

Een luchtpompje of kleppensysteem zorgt voor voortdurende circulatie van de lucht in dit systeem.  $\text{CO}_2$  wordt geabsorbeerd en de verbruikte  $\text{O}_2$  wordt aangevuld, zodat het totale volume waarin geademd wordt constant blijft. Na 4 of 5 min. is er vrijwel een gelijke verdeling ontstaan van de  $\text{H}_2$  over de luchtwegen en het systeem waarin geademd wordt. In een ademmonster uit het systeem wordt de  $\text{H}_2$ -concentratie gaschromatografisch bepaald. Na meting van het totale verdelingsvolume (spirometer en luchtwegen van de patient) kan de  $\text{H}_2$ -excretie per minuut berekend worden. Op deze wijze kan wederom bijvoorbeeld elke 15 tot 30 min. ademlucht verkregen worden door de patient telkens 4 min. te laten ademen in het systeem.

Voor een zo goed mogelijke kwantitatieve berekening van de koolhydraatmalabsorptie sloten Bond en Levitt (1972 en 1977) de patient gedurende 3 tot 6 uur aan op een systeem, dat bestond uit een kas die over het hoofd werd geplaatst en afgesloten werd rond de nek. Periodiek werden enkele ml lucht aan het systeem onttrokken voor bepaling van de  $\text{H}_2$ -concentratie. Door tegelijkertijd met behulp van een heliumverduunningsmethode het verdelingsvolume te meten, kon telkens de  $\text{H}_2$ -excretie in ml per minuut berekend worden.

## 3 De single breath methode

Deze veel eenvoudiger methode werd geïntroduceerd door Metz e. a. (1976c). Zij is gebaseerd op het principe van de Haldane-Priestley buis (Haldane en Priestley, 1905) welke voor dit doel werd gemodificeerd: de lengte werd 170 cm en de inwendige diameter 12 mm (oorspronkelijke buis 120 cm en 25 mm resp.). Aan het eind van een zo diep mogelijke uitademing wordt via een kleine opening in de slang op enkele cm van de plaats waar de patient in de slang blaast een ademmonster van 30-50 ml opgezogen in een plastic spuit. Hierin wordt gaschromatografisch de  $\text{H}_2$ -

concentratie bepaald. Een essentieel punt bij deze methode is dat de patient zo diep mogelijk kan en wil uitblazen, en dat de onderzoeker op het juiste moment het ademmonster opzuigt. Op deze wijze wordt eindexpiratoire lucht verkregen. Dankzij de lengte van de slang kan - mits de patient nog blaast tijdens het nemen van het ademmonster - geen buitenlucht worden aangezogen. Door de diameter van de slang van 12 mm is het uitblazen erg makkelijk en wordt in enkele seconden het einde van de expiratie bereikt.

Deze simpele methode correleerde goed met een rebreathing methode en met een methode waarbij gemengde uitademingslucht werd opgevangen. Duplomonsters toonden echter een vrij grote spreiding: de variatiecoëfficiënt van 61 duplomonsters van 8 proefpersonen, bij wie de  $H_2$ -excretie na lactulose werd gemeten, was 11,6%. De  $H_2$ -concentratie van deze monsters varieerde van 5-352 ppm. Als bij één persoon 10 samples, genomen met 1 min. tussenpoze, werden gemeten, was de variatiecoëfficiënt 17,6% (Metz e.a.1976c).

### 2.3.3 Het bepalen van de $H_2$ -concentratie in uitademingslucht

De gebruikelijke methode is gaschromatografische analyse. Het principe van dit instrument is dat de te analyseren lucht met behulp van een drijfgas (argon of helium, afhankelijk van de gebruikte detector) door een kolom wordt gedreven welke in dit geval gevuld is met molecular sieve. Dit is een poeder bestaande uit gedehydroëerde korreltjes kristallijn natriumaluminiumsilicaat (type 13X) of calciumaluminiumsilicaat (type 5A). Deze korreltjes hebben poriën van 10 resp. 5 Angström. De passagesnelheid van sommige gassen hier doorheen is groter dan die van anderen. Na injectie van een vast volume van bijvoorbeeld 2 of 5 ml lucht in de kolom, hetzij direct via een rubberdopje of beter met behulp van een samplekraan met sampleloop, zal aan het eind van de kolom een scheiding van de verschillende componenten van het luchtmengsel zijn opgetreden.  $H_2$  komt er het eerst uit, gevolgd door  $O_2$  en  $N_2$ . De kolom bevindt zich in een oven die op een bepaalde temperatuur wordt gehouden. Bij hogere temperatuur neemt de vluchtigheid van een gas toe en wordt de tijd waarin de kolom doorlopen wordt korter.

Van  $H_2$  dat als eerste uit de kolom komt wordt vervolgens de concentratie gemeten in een speciale detector. De meest gebruikte is de warmtegeleidingsdetector of katharometer. Deze is gebaseerd op het verschil in vermogen van verschillende gassen om warmte te geleiden. De warmtegeleidingscoëfficiënt van  $H_2$  verschilt aanzienlijk van die van argon (Weast en Selby, 1966). Daarom wordt dit laatste gas als drijfgas gebruikt. De katharometer bestaat uit 2 kanalen waarin zich filamenten bevinden die elektrisch verhit worden en die deel uitmaken van een brug van Wheatstone. Door het ene kanaal stroomt alleen argon, door het andere ook, echter na injectie van het luchtmonster in de kolom wordt argon in één kanaal vermengd met  $H_2$  en de andere gassen van het luchtmengsel. Door de veel hogere warmtegeleidingscoëfficiënt van  $H_2$  dan die van argon, zal bij het passeren van  $H_2$  langs het filament meer warmte afgegeven worden. Dit beïnvloedt de weerstand van het filament, hetgeen de elektrische weerstand in de Wheatstone brug verandert, waardoor een elektrisch signaal ontstaat. Dit signaal is sterker naarmate meer  $H_2$  het filament passeert zodat  $H_2$  kwantitatief bepaald kan worden. Het signaal wordt doorgegeven aan een schrijver. De hoogte van de uitslag (de piek) is aldus een maat voor de  $H_2$ -concentratie. Na het passeren van  $H_2$  door het kanaal volgen de andere componenten van het geïnjecteerde luchtmengsel, waardoor meerdere pieken van verschillende hoogte worden geregistreerd. Aldus ontstaat een chromatogram.

Een geheel ander type detector, dat aanvankelijk voor het meten van  $O_2$  en  $CO$  in steenkoolmijnen gebruikt werd en later werd aangepast om de  $H_2$ -concentratie te meten is de "metallised membrane electrode detector" welke ten tijde van het verschijnen van de publicatie van Bergman e.a. (1975) nog niet commercieel beschikbaar was. Door combinatie van deze detector met een kleine draagbare gaschromatograaf, die lucht als carriergas gebruikt en werkt bij kamertemperatuur, ontstond een handzaam apparaat. De ervaringen van Scarpello e.a. (1976) met deze apparatuur waren goed.

#### 2.3.4 Toepassing van de $H_2$ -ademtest

#### 2.3.4.1 het opsporen van stoornissen in de vertering en absorptie van koolhydraten

Na de fundamentele onderzoeken door Calloway en Murphy en door Levitt en medewerkers die reeds beschreven werden (2.3.1) en hun bemoedigende resultaten met de toepassing van de  $H_2$ -ademtest voor het aantonen van malabsorptie van lactose en glucose, werd door nog enkele onderzoekers de bruikbaarheid van deze onderzoeksmethode aangetoond.

##### A Het opsporen van lactosemalabsorptie

Calloway en Murphy (1969) vonden een verhoogde  $H_2$ -excretie bij 6 personen met melkintolerantie in vergelijking tot 5 personen die melkproducten goed verdroegen.

Levitt en Donaldson (1970) vonden bij 7 van 8 patiënten met een vlakke LTT en diarree na toediening per os van 50 g lactose een toename van de  $H_2$ -excretie van meer dan 0,30 ml/min, welke significant verschilde van die bij 15 personen met een normale LTT en zonder klachten na lactosebelasting.

Newcomer e.a. (1975) correleerden de  $H_2$ -excretie, gemeten met een rebreathingmethode, na 50 g lactose met de lactase-activiteit van het jejunumslimvlies. Bij 25 personen met een verlaagde lactase-activiteit was de stijging van de  $H_2$ -excretie 2 uur na de lactosetoediening meer dan 0,30 ml/min, terwijl deze bij 25 personen met een normale lactase-activiteit minder dan 0,30 ml/min bedroeg. Bij beide groepen werden nog 3 andere indirecte methoden toegepast om lactasedeficientie aan te tonen nl.  $^{14}CO_2$ -excretie met de ademlucht na toediening van  $^{14}C$ -lactose, de LTT en de stijging van het plasmagalactosegehalte na toediening van 50 g lactose, voorafgegaan door 300 mg ethanol per kg lichaamsgewicht. De  $H_2$ -excretie correleerde geheel met de lactase-activiteit in het biopt, d.w.z. er waren geen vals-negatieve of vals-positieve resultaten. De  $^{14}CO_2$ -excretie gaf 2 vals-negatieve testen, de LTT 6 vals-negatieve en 1 vals-positieve test en de galactose-ethanol proef 1 vals-negatieve uitslag.

Gebruik makend van de single breath methode correleerde Metz e.a. (1975b) de  $H_2$ -concentratie in de uitademingslucht 2 uur na toediening van 50 g lactose met de LTT. Bij 15 patiënten

met een normale LTT was de H<sub>2</sub>-excretie minder dan 4 ppm, doch bij 10 patienten met een vlakke LTT (stijging van het bloedsuikergehalte minder dan 20 mg %) was de H<sub>2</sub>-concentratie na 2 uur meer dan 20 ppm (gemiddeld 85,8 ppm  $\pm$  44,3). Bij 8 patienten werd de lactase-activiteit in het jejunumbiopt bepaald. Twee patienten met een normale lactase-activiteit en een normale LTT hadden vrijwel geen H<sub>2</sub>-excretie, terwijl 6 met een verlaagde lactase-activiteit en een vlakke LTT een H<sub>2</sub>-stijging van meer dan 20 ppm vertoonden. Zowel het onderzoek van Newcomer e.a. (1975) als dat van Metz e.a. (1975b) wijzen er dus op, dat met behulp van de H<sub>2</sub>-excretie in de ademlucht lactasedeficientie op een elegante, niet invasieve wijze is op te sporen.

Met dezelfde single breath methode onderzochten Metz e.a. (1976a) 12 patienten met onbehandelde darmspruw en een vlak jejunumslijmvlies die allen een vlakke LTT hadden. Bij 7 van de 12 was de H<sub>2</sub>-excretie na 50 g lactose normaal, mogelijk omdat door afbraak en absorptie in het distale deel van het jejunum of het ileum, waar de beschadiging van het slijmvlies vaak minder of afwezig is, geen lactose het colon bereikt zodat in feite geen lactosemalabsorptie bestaat.

Twee groepen onderzoekers hebben de H<sub>2</sub>-excretiebepaling toegepast voor bevolkingsonderzoek op lactose-intolerantie, resp. lactasedeficientie. Caskey e.a. (1977) maten de H<sub>2</sub>-concentratie in ppm in gemengde expiratielucht na toediening van 5 ml magere melk per kg lichaamsgewicht (= 0,25 g lactose/kg). De onderzochte personen mochten na een uur een sneetje brood met jam en een kopje koffie, thee of water nuttigen, dit alles lactosevrij. Elke 15 min. werd gedurende 2 uur expiratielucht opgevangen. Het resultaat werd uitgedrukt als het gemiddelde van de drie hoogste op elkaar volgende waarden tussen 1 en 2 uur na de toediening van de magere melk. Op deze wijze vonden zij bij 15 proefpersonen, allen met een normale LTT, een H<sub>2</sub>-concentratie van 2-15 ppm (gemiddeld 8 ppm). Een waarde boven 20 ppm beschouwden zij als pathologisch. Zij onderzochten 60 Noord-Amerikaanse indianen in leeftijd variërend van 3 tot 64 jaar. Bij 3 van de 20 kinderen (15%) onder de twaalf jaar was de H<sub>2</sub>-excretie verhoogd. Echter bij niet minder dan 33 van de 40 (82,5%) uit de leeftijdsgroep boven de twaalf

jaar was de test positief. De frequentie van lactose-intolerantie neemt bij deze bevolkingsgroep kennelijk na de puberteit sterk toe.

De H<sub>2</sub>-ademtest voor het doen van bevolkingsonderzoek werd ook toegepast door Newcomer e.a. (1977) eveneens bij Amerikaanse indianen. 104 kinderen van 5 tot 17 en 52 volwassenen van 18 tot 73 jaar namen aan het onderzoek deel. De lactosebelasting was 2 g per kg tot een maximum van 50 g. De H<sub>2</sub>-excretie werd gemeten met een rebreathing methode. Een stijging boven 0,20 ml H<sub>2</sub>/min na 2 uur werd als pathologisch beschouwd. Van de in totaal 156 onderzochte personen had 66% een lactose-intolerantie. Zij vonden geen verschil tussen kinderen en volwassenen. De mate van meer of minder gemengde afkomst bleek echter wel duidelijk van betekenis te zijn. Bij personen die voor minder dan 50% van indianen afstamden kwam lactose-intolerantie in 33% voor; als zij voor 84% of meer van indianen afstamden, was de frequentie bijna 100% (32 van de 33 onderzochten).

Fernandes e.a. (1977) bepaalden de H<sub>2</sub>-excretie elk half uur gedurende 2½ uur met een rebreathing methode bij 52 kinderen van 4 tot 15 jaar na toediening van 2 g lactose per kg tot een maximum van 50 g. De kinderen hadden een verscheidenheid van aandoeningen (diarree e.c.i., buikpijn, coeliakie, giardiasis, ziekte van Crohn, enz.). Bij 10 kinderen was de H<sub>2</sub>-excretie toegenomen (>0,1 ml/min tussen 0 en 2 uur). Bij 9 van deze 10 kinderen was de lactase-activiteit in het jejunumbiopt verlaagd en bij 7 was de LTT vlak (stijging bloedsuikergehalte <1,2 mmol/l).

## B Het opsporen van sucrosemaalabsorptie

Op dezelfde wijze als voor het aantonen van lactosemaalabsorptie kan de H<sub>2</sub>-ademtest gebruikt worden om sucrosemaalabsorptie aan te tonen, een aandoening die bij de Eskimo's van Groenland frequent voorkomt, echter overigens zeer zeldzaam is. Bij 2 patienten met een sucrase-deficientie blijkens enzymbepalingen in het jejunumbiopt en klachten na toediening van 25 g sucrose, steeg de H<sub>2</sub>-excretie binnen 2 uur tot max. 62 resp. 72 ppm. Bij 9 patienten met buikklasten doch een normaal sucrasegehalte in

het biopt steeg de  $H_2$ -excretie na toediening van 50 g sucrose in het geheel niet. Zelfs na 100 g sucrose aan 2 van deze 9 patiënten trad geen stijging van de  $H_2$ -excretie op (Metz e.a., 1976e).

### C Het aantonen van glucosemalabsorptie

Bij normalen steeg de  $H_2$ -excretie na toediening van 100 g glucose niet, integendeel, meestal trad een daling op ten opzichte van de nuchtere waarde. Echter bij 5 patiënten die een maagresectie hadden ondergaan en klachten hadden van diarree en vermagering ontstond een stijging van de  $H_2$ -excretie (Levitt en Donaldson, 1970; Bond en Levitt, 1972). De verklaring hiervoor moet gezocht worden in een snelle passage van een deel van de glucose naar het colon, waar deze door de bacterieflora wordt afgebroken onder vorming van  $H_2$  (Bond en Levitt, 1977). Deze snelle passage kan vertraagd worden door pectine aan het dieet toe te voegen. Guar en pectine zijn niet verteerbare plantaardige polysachariden, die de viscositeit van de vloeistof waar ze aan toegevoegd worden, vergroten. Jenkins e.a. (1977) onderzocht 9 patiënten met diarree, buikpijn en/of hypoglycemie-aanvallen na maagresectie (4 patiënten) of vagotomie met pylorusplastiek (5 patiënten). Bij 4 trad een pathologische stijging van de  $H_2$ -excretie op na toediening van 50 g glucose (meer dan 20 ppm  $H_2$  in de eindexpiratoire ademlucht). Na herhaling van de test met 50 g glucose waaraan 14,5 g pectine was toegevoegd, trad bij 2 patiënten in het geheel geen stijging van de  $H_2$ -excretie meer op en bij de andere 2 was deze gehalveerd. Tevens werd een afvlakking van de bloedglucosecurve gezien na de toevoeging van pectine en werden de hypoglycemieën minder frequent of minder ernstig. De auteurs menen dat door de toevoeging van pectine de passage door de maag en/of dunne darm werd vertraagd, waardoor de glucosemalabsorptie verminderde of zelfs geheel verdween. Voor bacteriele overgroei als verklaring voor de positieve  $H_2$ -ademtest waren, naar zij meenden, onvoldoende aanwijzingen. Bacteriologisch onderzoek van darmvocht werd echter niet verricht.



## D Het aantonen van bacteriele overgroei in de dunne darm

Een andere mogelijkheid voor een stijging van de  $H_2$ -excretie na glucosetoediening is, dat de glucose gedeeltelijk in het lumen van de dunne darm wordt afgebroken, hetgeen mogelijk is bij bacteriele overgroei in de dunne darm. De eerste waarneming hierover is gedaan door Levitt (1969) bij een patient met een blind eindigende darmlis en meer dan  $10^9$  micro-organismen per ml jejunumvocht. Lactose direct in de dunne darm gebracht bij deze patient resulteerde in  $H_2$ -productie in de dunne darm. Toediening van 10 g glucose aan een patient met een blind eindigende darmlis gaf een kortdurende stijging van de  $H_2$ -excretie (Bond en Levitt, 1972).

Metz e.a. (1976b) hebben de  $H_2$ -excretie aanbevolen als hulpmiddel voor de diagnostiek van bacteriele overgroei in de dunne darm. Zij onderzochten met een single breath methode de  $H_2$ -excretie na toediening van 50 g glucose bij 12 patienten met een toename van de bacterieconcentratie (meer dan  $10^3$  bacteriën per ml) in het dunne darmvocht en vonden bij 8 een verhoogde  $H_2$ -excretie (meer dan 20 ppm stijging binnen 2 uur na glucosetoediening), terwijl 5 patienten met een normale bacterieconcentratie geen toename van de  $H_2$ -excretie toonden. Bij nadere bestudering van de publicatie van Metz e.a. (1976b) blijkt echter dat 8 van de 17 een maagresectie hadden ondergaan en 3 een vagotomie met pylorusplastiek, terwijl bij één een kortsluiting tussen jejunum en ileum was gemaakt. Bij al deze patienten is snelle passage naar het colon en daardoor malabsorptie van een deel van de glucose niet uitgesloten. Van de resterende 5 patienten leden 2 aan de ziekte van Crohn. Zij hadden een negatieve  $H_2$ -ademtest. Van de overige 3 patienten wordt de  $H_2$ -excretie niet expliciet genoemd. De conclusie van de auteurs, dat de  $H_2$ -excretie na glucosetoediening een hulpmiddel is bij de diagnostiek van bacteriele overgroei, zou alleen gerechtvaardigd zijn geweest als snelle dunne darm passage van de glucose met als gevolg  $H_2$ -productie in het colon had kunnen worden uitgesloten.

In principe werd hiervoor een oplossing aangegeven door Sciarretta (1977). Hij mat de  $H_2$ -excretie met een single breath methode na toediening van een mengsel van 60 ml 50% lactulose en

bariumpap en bepaalde elke 15 min röntgenologisch de plaats van het lactulose-barium mengsel in de darm.  $H_2$ -excretie was bij controlepersonen onmeetbaar tijdens passage van de lactulose door de dunne darm, maar steeg binnen 10 minuten nadat het colon bereikt was. Op deze wijze is het mogelijk om de  $H_2$ -productie door afbraak van koolhydraten in de dunne darm te onderscheiden van  $H_2$ -productie in het colon.

#### E Het aantonen van abnormale afbraak van zetmeel

Hierover zijn slechts enkele mededelingen in de literatuur verschenen. Calloway en Murphy (1968) gaven een persoon gedurende 8 dagen een dieet dat 150 g ongekookt aardappelzetmeel bevatte. In deze periode liep de  $H_2$ -excretie in de ademlucht op tot 20-80 ppm. Echter met een gelijke hoeveelheid eveneens ongekookt tarwezetmeel was de  $H_2$ -excretie vrijwel nihil.

Bond en Levitt (1972) gaven aan 2 patienten die een maag-resectie hadden ondergaan en last hadden van diarree gekookt zetmeel (tapioca) in een dosis van 25 g. Hiervan werd volgens berekening bij één patient 15 g niet geabsorbeerd. Bij een tweede patient werd 25 g wel volledig geabsorbeerd.

#### 2.3.4.2 de $H_2$ -ademtest voor het onderzoek van de Darmflora

Pasgeboren babies produceren geen  $H_2$  gedurende de eerste 12 uur, maar binnen 48 uur is  $H_2$ -excretie aantoonbaar (Levitt en Bond, 1970). Kiemvrije ratten produceren noch  $H_2$  noch  $CH_4$ . Hieruit blijkt dat de bacterieflora essentieel is voor de  $H_2$ -productie. Beïnvloeding van deze flora weerspiegelt zich dan ook in de  $H_2$ -excretie, zoals is aangetoond in dierexperimenten (Levitt e.a., 1968; Richards e.a., 1968; Steggerda, 1968).

Ook bij de mens verandert de  $H_2$ -excretie als de bacterieflora door antibiotica of chemotherapeutica wordt veranderd. Murphy en Calloway (1972) maten de  $H_2$ -excretie in gemengde expiratielucht bij 8 proefpersonen 4 en 8 uur na een dieet dat bijna een halve kilo bonen bevatte. Hiermee varieerde de gemiddelde  $H_2$ -excretie in de ademlucht van 11-29 ppm. Na toediening van iodochlorhydroxychinoline (Enterovioform) daalde de  $H_2$ -

excretie tot waarden van 2-6 ppm. Na toediening van succinylsulfathiazol (Sulfasuxidine) steeg de H<sub>2</sub>-excretie echter tot waarden van 31-73 ppm. Na toedienen van neomycine was het effect variabel: bij 2 van de 6 onderzochte personen daalde de H<sub>2</sub>-excretie, terwijl bij de andere 4 een lichte stijging optrad of dezelfde H<sub>2</sub>-excretie gemeten werd als vóór neomycine. De verandering in het volume H<sub>2</sub> in de flatus bij deze zelfde proefpersonen liep parallel aan de toename resp. afname van de H<sub>2</sub>-excretie.

In een soortgelijk onderzoek (Steggerda, 1968) werd alleen de verandering in het flatusvolume gemeten tijdens een dieet, dat voor 73% uit bonen bestond met en zonder toediening van medicamenten. Iodochlorhydroxycholine reduceerde het flatusvolume zoals ook in het boven beschreven onderzoek werd aangetoond.

De toepassing van de H<sub>2</sub>-ademtest voor het opsporen van een abnormale bacterieflora in de dunne darm is tot nu toe nog nauwelijks ontwikkeld (Bond en Levitt, 1972), of leverde niet duidelijk te interpreteren resultaten op (Metz e.a., 1976b).

#### 2.3.4.3 de H<sub>2</sub>-ademtest voor het bepalen van de passagetijd van mond naar coecum

Na toediening van het niet absorbeerbare disacharide lactulose zal vrijwel steeds na aankomst in het colon H<sub>2</sub> geproduceerd worden. De tijd die verloopt tussen het bereiken van het colon en een meetbare stijging in de H<sub>2</sub>-excretie bedraagt 4 tot 5 min. (Bond en Levitt, 1975). Hierdoor is de tijd die verloopt tussen het innemen van de lactulose en het begin van de stijging van de H<sub>2</sub>-excretie een maat voor de passagetijd van mond naar coecum. Bij 40 proefpersonen maten Bond en Levitt (1975) met een rebreathing methode de H<sub>2</sub>-excretie na toediening van 10 g lactulose. Zij vonden een passagetijd van gemiddeld 72,6 min ± 5 (SEM). De spreiding was groot: 25-118 min. Deze tijd is afhankelijk van de dosis lactulose. Een hogere dosis zal mogelijk door zijn hogere osmotische waarde, welke door het ontbreken van absorptie door de hele dunne darm gehandhaafd blijft, een kortere passagetijd geven. Genoemde onderzoekers vonden voor 5, 10 en 20 g lactulose bij 9 proefpersonen een passagetijd van resp. 128 ± 19, 94 ± 15 en 40 ± 8 (SEM) minuten. Deze passagetijd correleerde goed met de

passagetijd die direct werd gemeten met 2-3 g polyethyleenglycol (PEG), een niet absorbeerbare stof die tegelijk met de 10 en 20 g lactulose werd toegediend. Via een slang, die lag in het distale ileum, werd elke 10 min. vocht opgezogen, waarin PEG werd bepaald. De paasagetijd gemeten met PEG was bij 9 proefpersonen 7,6 min. korter dan de passagetijd gemeten met de H<sub>2</sub>-excretie. De correlatie tussen de beide methoden was zeer goed (r=0,97).

Deze methode hebben dezelfde onderzoekers (Bond en Levitt, 1977a) toegepast bij 10 patienten met diarree na maagresectie. Met 10 g lactulose vonden zij een significant kortere passagetijd van  $35,2 \pm 3$  min (SEM), terwijl bij 10 maagresectie-patienten zonder diarree de passagetijd  $74,6 \pm 5$  min was, een waarde, die niet van die van de bovengenoemde groep van 40 proefpersonen verschilde. De passagetijd van jejunum naar coecum, bepaald door 10 g lactulose via een slang direct in het jejunum te brengen, was bij 5 proefpersonen en 5 patienten met diarree na maagresectie gelijk. Hun conclusie was, dat de kortere passagetijd bij sommige maagresectiepatienten met diarree het gevolg was van snelle maagontlediging.

Een mogelijke foutenbron bij het bepalen van de passagetijd op de beschreven wijze is het vóórkomen van bacteriele overgroei in de dunne darm, aangezien dan reeds een stijging in de H<sub>2</sub>-excretie gevonden kan worden terwijl de lactulose zich nog in de dunne darm bevindt, hetgeen een vals-korte passagetijd zou geven.

Scarpello e.a. (1976) pasten de meting van de passagetijd toe bij diabetici met en zonder neuropathie. De H<sub>2</sub>-excretie werd bepaald met een single breath methode na toediening van 13 g lactulose. Bij 6 diabetici met tekenen van neuropathie was de passagetijd significant langer (gem. 140 min) dan bij 6 diabetici zonder neuropathie en 8 controlepersonen (70 resp. 71 min.).

Metz e.a. (1976d) vonden na toedienen van 33 g lactulose en single breath sampling bij 13 proefpersonen een passagetijd van  $85,4 \pm 6,7$  min. Van 15 patienten met diarree hadden 11 een normale passagetijd en 4 een verkorte (30 min.). Deze 4 bleken te lijden aan hyperthyreoidie (2 patienten), een medullaire schildkliertumor en aan een "irritable bowel" syndroom. Van 4 maagresectiepatienten met diarree hadden er twee een verkorte passagetijd.

Daarentegen hadden 3 patienten met onbehandelde darmspruw een vertraagde passagetijd ( $>150$  min). Uit deze bevindingen blijkt dat het meten van de passagetijd met behulp van de  $H_2$ -excretie na toedienen van lactulose helpen kan bij de diagnostiek van maag-darmziekten.

Ook het effect van therapeutische maatregelen om de passagetijd te beïnvloeden kan met behulp van de  $H_2$ -excretie na toedienen van lactulose gemeten worden. Guar is evenals pectine een niet absorbeerbaar plantaardig polysacharide, dat gebruikt wordt om de viscositeit van vloeistoffen te vergroten. Toevoeging van 14,5 g guar aan een standaardmaaltijd die tevens 70 ml 50% lactulose bevatte, deed de passagetijd van mond naar coecum toenemen van  $1\frac{1}{2}$  tot 4 uur (Leeds e.a., 1975). Dit effect kan berusten op vertraagde maagontlediging of op vertraging van de passage door de dunne darm of op een combinatie van beide. Waarschijnlijk berust het effect op verhoging van de viscositeit van de inhoud van het maag-darmkanaal, ofschoon een remmend effect van pectine op de darmflora niet geheel is uitgesloten (Jenkins e.a., 1977).

### 2.3.5 Samenvatting van de literatuurgegevens

Samenvattend kan over de bruikbaarheid van de  $H_2$ -ademtest op basis van de literatuurgegevens het volgende gezegd worden:

- 1 De test is niet belastend voor de patient
- 2 Elk van de drie methoden die in gebruik zijn om ademplucht te verkrijgen voldoet voor een kwalitatieve beoordeling van de test. Met de wat meer ingewikkelde rebreathing methode is zelfs een semi-kwantitatieve beoordeling mogelijk.
- 3 De  $H_2$ -ademtest met lactose is een zeer, mogelijk de meest, betrouwbare indirecte test om primaire lactasedeficientie aan te tonen.
- 4 De waarde van de  $H_2$ -ademtest voor de diagnostiek van bacteriële overgroei dient nader geëvalueerd te worden, aangezien een positieve test na toedienen van glucose zowel door bacteriële overgroei als door snelle passage naar het colon kan veroorzaakt worden.
- 5 Bepaling van de passagetijd van mond naar coecum met de  $H_2$ -ademtest met lactulose lijkt interessante toepassingsmogelijk-

heden te hebben voor de diagnostiek van bepaalde maag-darmklachten.

- 6 De mogelijkheden om de bacteriele darmflora te beïnvloeden is slechts spaarzaam onderzocht met behulp van de  $H_2$ -bepaling in uitademingslucht.

## 2.4 De bepaling van andere gassen dan $H_2$ in de uitademingslucht

### 2.4.1 Inleiding

Een aantal stoffen in de uitademingslucht kan door de reuk worden waargenomen. Enkele voorbeelden uit het dagelijkse leven zijn knoflook en alcohol. Uit de medische praktijk zijn bekend aceton, foetor hepaticus en foetor uremicus.

Door gaschromatografische analyse kunnen vele stoffen in de uitademingslucht worden aangetoond. Pauling e.a. (1971) konden op deze wijze 250 verschillende stoffen onderscheiden.

Slechts van een klein aantal stoffen heeft de bepaling toepassing gevonden in de geneeskunde.

- 1 De intensiteit van foetor hepaticus is volgens gegevens van Chen e.a. (1970a) gerelateerd aan de concentratie van dimethylsulfide in de uitademingslucht bij patienten met levercirrhose. Twee andere zwavelhoudende verbindingen, de mercaptanen methaanthiol en ethaanthiol komen eveneens in verhoogde concentratie in de uitademingslucht voor bij deze patienten. Mercaptanen zijn waarschijnlijk van tweeërlei oorsprong. Zij worden in de lever gevormd bij de afbraak van methionine en ontstaan bovendien als bacteriele afbraakproducten in de darm. Ook de vluchtige vetzuren azijnzuur en propionzuur komen bij patienten met ernstige levercirrhose in verhoogde concentratie in de uitademingslucht voor (Chen e.a., 1970b).

- 2 Bij patienten met een terminale nierinsufficiëntie is de uitscheiding met de ademplucht van diethyl- en triethylamines, die met name in de darm worden gevormd door bacteriele afbraak van choline, toegenomen. De concentratie ervan is gerelateerd aan de typische foetor uremicus en daalt na hemodialyse en na behandeling met antibiotica (Simenhoff e.a., 1977).

- 3 Methaan ( $CH_4$ ) is een product van strikt anaerobe colonbac-

teriën. Welk substraat zij gebruiken is niet bekend. De bepaling van  $\text{CH}_4$  in uitademingslucht heeft slechts op twee gebieden toepassing gevonden. Allereerst om "producers" van "non-producers" te onderscheiden (Bond e.a., 1971). De feces van "producers" hebben een hoog  $\text{CH}_4$ -gehalte en hierdoor een laag soortelijk gewicht, waardoor deze blijven drijven in water (Levitt en Duane, 1972). Na blootstellen van de feces aan een negatieve druk om het gas te verwijderen, steeg het soortelijk gewicht en zonken de feces in water, zoals het geval is bij feces van "non-producers".

Een tweede toepassingsgebied is misschien de bepaling van  $\text{CH}_4$  in uitademingslucht bij patienten met colanafwijkingen. Haines e.a. (1977) vonden dat 24 van 30 patienten (80%) met een coloncarcinoom methaan-"producers" waren tegenover 25 van 64 patienten (39%) met niet-maligne colanafwijkingen en 83 van 208 controle-personen (40%). Ook ademden de "producers" uit de coloncarcinoom groep significant meer  $\text{CH}_4$  uit dan de "producers" uit beide andere groepen.

4 Zeer uitgebreide toepassing heeft de bepaling van  $^{14}\text{CO}_2$  in uitademingslucht gevonden. Door verschillende substraten te merken met  $^{14}\text{C}$  kan een grote verscheidenheid van metabole processen bestudeerd worden.

#### 2.4.2 $^{14}\text{CO}_2$ -ademtesten

$\text{CO}_2$  wordt gevormd bij het stofwisselingsproces van vele stoffen. Aangezien  $\text{CO}_2$  zeer gemakkelijk diffundeert, eerst naar het bloed en vandaar naar de alveolaire ruimte kan de  $^{14}\text{CO}_2$ -excretie gebruikt worden om aan te tonen, dat het met  $^{14}\text{C}$  gemerkte substraat gemetaboliseerd werd.

Aanvankelijk werd de  $^{14}\text{CO}_2$ -excretie continu gemeten (Schwabe e.a., 1962). Later werd door Abt en von Schuching (1966) aangetoond, dat een discontinue meting met tussenpozen voldoende informatie gaf. Pas sindsdien kreeg de meting van de  $^{14}\text{CO}_2$ -excretie ruimere toepassing. Deze belangrijke vereenvoudiging is gebaseerd op het gegeven dat de  $\text{CO}_2$ -excretie over een zekere periode constant is en ongeveer 9 mmol per kg lichaamsgewicht per uur bedraagt. Dit geldt echter alleen als de lichaamsactiviteit van

de te onderzoeken persoon tijdens deze periode constant blijft en als andere variabelen die de  $\text{CO}_2$ -excretie mede bepalen, ongewijzigd blijven. Dit maakt de discontinue meting tot een semi-kwantitatieve methode, die in de praktijk goed bruikbaar is.

De uitvoering van de discontinue meting van de  $^{14}\text{CO}_2$ -excretie is eenvoudig. Na toediening van het met  $^{14}\text{C}$  gemerkte substraat blaast de patient via een buisje met een waterabsorberende stof in een flesje dat 2 mmol 1 M hyaminehydrochloride bevat, een stof die  $\text{CO}_2$  equimolair bindt. Als 2 mmol  $\text{CO}_2$  aan de hyaminehydrochloride gebonden zijn, verandert de kleur van een indicator in de hyamine-oplossing, waardoor de patient ziet dat er voldoende geblazen is. Met behulp van een vloeistofscintillatieteller wordt de radio-activiteit van het flesje bepaald. Hieruit wordt de specifieke activiteit van  $^{14}\text{CO}_2$  berekend ( $^{14}\text{CO}_2/\text{mmol CO}_2$ ). Deze kan worden uitgedrukt als een percentage van de toegediende dosis radio-activiteit van het substraat. Bij de  $^{14}\text{C}$ -glycinecholzuur ademtest wordt dit percentage vermenigvuldigd met het lichaamsgewicht (Fromm en Hofmann, 1971) of lichaamsoppervlak (Sherr e.a., 1971) om te corrigeren voor de verschillen in endogene  $\text{CO}_2$ -productie. Bij een hoger lichaamsgewicht zal de endogene  $\text{CO}_2$ -productie hoger zijn, hetgeen de gemeten specifieke activiteit verlaagt. Dit impliceert dat indien correctie voor het lichaamsgewicht wordt nagelaten, de bovengrens van normaal bij magere mensen hoger moet liggen dan bij personen met een gemiddeld lichaamsgewicht. Om vals-positieve uitslagen te vermijden kan ook - zonder correctie voor de verschillen in endogene  $\text{CO}_2$ -productie - de bovengrens voldoende hoog gesteld worden.

De stralenbelasting voor patient en milieu blijft een nadeel bij de toepassing van elke test waarbij  $^{14}\text{C}$  wordt toegediend. De meeste  $^{14}\text{C}$  uit de verschillende substraten wordt echter snel uit het lichaam geelimineerd doordat de biologische halfwaardetijd van deze stoffen slechts kort is. Een zeker percentage kan echter worden ingebouwd in verbindingen die een lagere turnover hebben. Deze kans bestaat bijvoorbeeld als aminozuren, gemerkt met  $^{14}\text{C}$  worden toegediend, zoals  $^{14}\text{C}$ -glycinecholzuur. Hierbij is het glycine gemerkt met  $^{14}\text{C}$ . Hepner e.a. (1972) berekenden dat bij mensen met een intacte enterohepatische kringloop van de galzou-



ten, 60% van de toegediende dosis binnen 1 week is uitgescheiden. Berekningen van Tolbert en Cozzetto (1963, geciteerd door Newman, 1974) wijzen erop, dat de stralenbelasting van de gehele test slechts een fractie is van de kosmische straling per jaar (15 m. rad vergeleken met 1200 m. rad). Niettemin lijkt de toepassing van deze test bij zwangeren en kinderen alsook het herhaaldelijk uitvoeren bij eenzelfde persoon niet verantwoord.

De bepaling van  $^{14}\text{CO}_2$  in uitademingslucht heeft vooral toepassing gevonden op de volgende gebieden in de gastroenterologie.

- a onderzoek van de vetabsorptie,
- b onderzoek van de enterohepatische kringloop van galzouten,
- c onderzoek van de lactose-absorptie,
- d onderzoek van de leverfunctie.

#### 2.4.2.1 onderzoek van de vetabsorptie

Kaihara en Wagner (1968) vergeleken de  $^{14}\text{CO}_2$ -excretie na toediening van  $5 \mu\text{Ci } ^{14}\text{C}$ -tripalmitaat met de resultaten van de vetbepaling in de feces. Bij 36 gezonde personen met minder dan 6 g vet in de feces, werd gemiddeld meer  $^{14}\text{CO}_2$  uitgescheiden in de uitademingslucht dan bij 14 patienten met steatorree. Ofschoon de patienten en de normale personen als groep goed van elkaar te onderscheiden waren, was er een overlap tussen beide groepen.

Bhatia e.a. (1969) vonden na toediening van  $5 \mu\text{Ci}$  glycerol-tripalmitaat- $1\text{-}^{14}\text{C}$  een hogere  $^{14}\text{CO}_2$ -excretie bij 20 normale personen dan bij 17 patienten met steatorree. Zij vonden slechts een geringe overlap tussen beide groepen.

Chen e.a. (1974) vonden eveneens een goede scheiding tussen normale personen en patienten met een toegenomen vetuitscheiding in de feces. Bij patienten bij wie de steatorree het gevolg was van pancreasinsufficiëntie, steeg de  $^{14}\text{CO}_2$ -excretie significant als direct na het  $^{14}\text{C}$ -tripalmitaat lipase werd toegediend.

#### 2.4.2.2 onderzoek van de enterohepatische kringloop van de galzouten

Deze test berust op het principe dat na orale toediening van  $^{14}\text{C}$ -glycinecholzuur het glycine slechts door bacteriele

enzymen kan worden afgesplitst van het cholzuur. Geen enkele cel van het menselijk lichaam is, voor zover onderzocht, hiertoe in staat (Newman, 1974). Uit in vitro studies door Lewis en Gorbach (1972) bleek dat vooral strikt anaerobe bacteriën zoals Bacteroides, Clostridium, Bifidobacterium, Eubacterium en sommige Veillonellae tot deconjugatie in staat zijn. Echter de meeste facultatief anaeroben kunnen dit niet.

Onder normale omstandigheden worden galzouten voor meer dan 95% in het distale ileum in geconjugeerde vorm geabsorbeerd. Slechts de kleine fractie die het colon bereikt wordt gedeconjugeerd. In het darmlumen wordt vervolgens het afgesplitste glycine door de bacteriën verder afgebroken onder vorming van CO<sub>2</sub>. Wanneer absorptie van het glycine optreedt, dan ontstaat door de afbraak ervan CO<sub>2</sub> in de weefsels. Het op beide plaatsen ontstane CO<sub>2</sub> diffundeert naar het bloed, vandaar naar de alveolaire ruimte en wordt tenslotte uitgeademd.

Fromm en Hofmann (1971) en Sherr e.a. (1971) pasten deze test als eersten toe. Aan 5 patienten met bacteriele overgroei in de dunne darm en 19 patienten met een ileumresectie en malabsorptie van galzouten (gemeten aan de excretie met de feces van oraal toegediend cholyl-2,4-<sup>3</sup>H-aurine) gaven Fromm en Hofmann (1971) per os 10 µCi <sup>14</sup>C-glycinecholzuur. In de uitademingslucht na 2 en 4 uur was de <sup>14</sup>CO<sub>2</sub>-excretie bij alle patienten met bacteriele overgroei en bij 14 van de 19 patienten met een ileumresectie hoger dan bij 18 proefpersonen. De 5 patienten met een ileumresectie, die een normale <sup>14</sup>CO<sub>2</sub>-excretie hadden, scheidde alle duidelijk meer <sup>14</sup>C uit in de feces vergeleken met proefpersonen. Bij de patienten met bacteriele overgroei was de <sup>14</sup>C-excretie in de feces normaal. Dat het bepalen van de <sup>14</sup>C-excretie in de feces belangrijk is, werd ook aangetoond door Lenz (1975). Zij onderzocht 26 patienten met de ziekte van Crohn die een grotere of kleinere ileumresectie hadden ondergaan. Slechts de helft van de patienten had een gestoorde <sup>14</sup>C-glycinecholzuur ademtest; de excretie van <sup>14</sup>C in de feces was echter bij 25 van de 26 patienten verhoogd.

Door dus de <sup>14</sup>CO<sub>2</sub>-excretie met de uitademingslucht te combineren met meting van de uitscheiding van <sup>14</sup>C in de feces kan

galzoutmalabsorptie nauwkeurig gediagnostiseerd worden. Bovendien helpt de meting van  $^{14}\text{C}$ -excretie in de feces om bacteriele overgroei van galzoutmalabsorptie te onderscheiden. Een positieve  $^{14}\text{C}$ -glycinecholzuur ademtest en toegenomen  $^{14}\text{C}$ -excretie in de feces kan ook op een combinatie van beide afwijkingen berusten (Fromm e.a., 1973).

Sherr e.a. (1971) dienden een lagere dosis van  $5 \mu\text{Ci } ^{14}\text{C}$ -glycinecholzuur toe. Zeven patienten met een ileumresectie en 4 patienten met bacteriele overgroei konden duidelijk onderscheiden worden van 7 proefpersonen en 10 patienten met steatorree zonder afwijkingen in de enterohepatische kringloop van de galzouten. Zij maten de  $^{14}\text{CO}_2$ -excretie cumulatief over 6 uur. Het discriminerend vermogen van de test verbeterde niet als de  $^{14}\text{CO}_2$ -excretie werd gerelateerd aan het lichaamsoppervlak om te corrigeren voor de verschillen in endogene  $\text{CO}_2$ -productie.

James e.a. (1973) vonden dat de test ook gestoord was bij 5 van de 6 patienten met een cholangitis. Bij 2 van de 3, bij wie jejunumvocht werd gekweekt, bleek er merkwaardigerwijs sprake te zijn van bacteriele overgroei in de dunne darm.

Een andere groep waarbij de test gestoord kan zijn betreft patienten, die aan een bestralingseenteritis lijden. Newman e.a. (1973) vonden een gestoorde  $^{14}\text{CO}_2$ -ademtest bij 16 van 17 patienten die op het bekken waren bestraald (3000-6000 rad) wegens een maligne afwijking. De verklaring voor het positief zijn van de test onder deze omstandigheden, kan zowel een gestoorde functie van het distale ileum zijn als bacteriele overgroei in de dunne darm door het ontstaan van stenosen of motiliteitsstoornissen als gevolg van de bestraling. Een derde mogelijkheid is dat door een snelle passage als gevolg van diarree, die bij 12 van de 17 patienten bestond, een onvolledige absorptie van de galzouten was opgetreden. Uit een onderzoek van Fromm e.a. (1973) is gebleken dat snelle passage wel tot onvolledige absorptie van galzouten aanleiding kan geven, zonder dat dit echter gepaard hoeft te gaan met een positieve ademtest.

Om het discriminerend vermogen van de  $^{14}\text{C}$ -glycinecholzuur ademtest tussen enerzijds bacteriele overgroei en anderzijds malabsorptie van galzouten te vergroten, onderzochten de Groot

e.a. (1976) het tijdstip van de maximale  $^{14}\text{CO}_2$ -excretie. Bij 10 patiënten met bacteriele overgroei lag dit op of vóór 4 uur na toediening van  $^{14}\text{C}$ -glycinecholzuur. Echter bij 35 patiënten met een ziekte of een resectie van het distale ileum lag de maximale excretie op of na 4 uur. Er was een overlap bij 6 patiënten.

#### 2.4.2.3 onderzoek van de lactose-absorptie

Salmon e.a. (1969) bepaalden de  $^{14}\text{CO}_2$ -excretie met de uitademingslucht na toediening van 5  $\mu\text{Ci}$   $^{14}\text{C}$ -lactose samen met 50 g lactose in 500 ml water. De lactose was met  $^{14}\text{C}$  gemerkt aan het glucosemolecuul. Zij vonden 2 uur na de toediening aan 12 patiënten met een lactasedeficientie een significant lagere ( $p < 0,01$ )  $^{14}\text{CO}_2$ -excretie vergeleken met de uitkomsten bij 24 proefpersonen. Na 4 en 5 uur was er een overlap tussen beide groepen, waarschijnlijk door  $^{14}\text{CO}_2$ -productie uit de niet-geabsorbeerde lactose in het colon.

Sasaki e.a. (1970) bevestigden bovenstaande bevindingen. Zij bepaalden de cumulatieve  $^{14}\text{CO}_2$ -excretie gedurende 4 uur bij 7 personen met melkintolerantie en een vlakke LTT en tevens bij 11 personen met een normale tolerantie van melk en een normale LTT. Beide groepen verschilden significant. Bij enkele individuele personen gaf de test geen uitsluitel. Niet van alle patiënten uit dit onderzoek was echter de lactase-activiteit van het jejunumslijmvlies bekend, hetgeen de waarde van dit onderzoek vermindert.

Meer recent werd door Newcomer e.a. (1975) de waarde van de  $^{14}\text{CO}_2$ -excretie onderzocht na toediening van  $^{14}\text{C}$ -lactose voor het opsporen van lactasedeficientie. De  $^{14}\text{CO}_2$ -excretie was bij 23 van 25 personen met een verlaagde lactase-activiteit in het jejunumslijmvlies lager dan bij 25 personen met een normale lactase-activiteit. Bij 2 personen was de test vals-negatief. Er waren geen vals-positieve resultaten.

#### 2.4.2.4 onderzoek van de leverfunctie

Dimethylamino-antipyrine (aminopyrine) wordt uitsluitend in de microsomen van de lever gedemethyleerd. Het vervolgens gevormde  $\text{CO}_2$  wordt voor 50% in de uitademingslucht uitgescheiden. Als de leverfunctie gestoord is, zal de demethylering vertraagd zijn

en dus in hetzelfde tijdsbestek minder  $\text{CO}_2$  in de ademplucht worden uitgescheiden. Ook de invloed van geneesmiddelen, die de demethylering beïnvloeden, kan op deze wijze bestudeerd worden. Na toediening van  $2 \mu\text{Ci } ^{14}\text{C}$ -aminopyrine kan de  $^{14}\text{CO}_2$ -excretie semi-kwantitatief bepaald worden door gedurende 12 uur periodiek ademmonster te nemen, waarin de specifieke activiteit wordt bepaald.

Hepner en Vesell (1974 en 1975) vonden dat de  $^{14}\text{CO}_2$ -excretie na toediening van  $2 \mu\text{Ci } ^{14}\text{C}$ -aminopyrine goed correleerde met de halfwaardetijd in het bloed. Bij controle-personen was de  $^{14}\text{CO}_2$ -excretie significant hoger dan bij patiënten met levercirrhose, hepatitis, leversteatose en maligne afwijkingen van de lever. Bij patiënten met levercirrhose bestond een significante correlatie tussen de  $^{14}\text{CO}_2$ -excretie enerzijds en het serum albuminegehalte en de broomsulphthaleineretentie anderzijds. Als met fenobarbital het demethyleringsproces werd versneld, dan werd dit weerspiegeld in een kortere halfwaardetijd van aminopyrine in het bloed en een verhoogde  $^{14}\text{CO}_2$ -excretie in de uitademingslucht. Op analoge wijze verlengde disulfiram de halfwaardetijd, hetgeen gepaard ging met een vermindering van de  $^{14}\text{CO}_2$ -excretie.

Ook bij patiënten met levermetastasen was de  $^{14}\text{CO}_2$ -excretie meestal verminderd (83% van 75 patiënten) terwijl deze bij patiënten met metastasen buiten de lever meestal normaal was (94% van 78 patiënten) (Hepner e.a., 1976).

Na orale toediening van  $^{14}\text{C}$ -ethanol kan informatie over de leverfunctie verkregen worden door hierna de  $^{14}\text{CO}_2$ -excretie in de de ademplucht te meten (Dordoni e.a., 1975). Bij alcoholisten met leversteatose of cirrhose was de  $^{14}\text{CO}_2$ -excretie significant hoger dan bij normale personen. Dit wijst erop dat het metabolisme van alcohol in de lever bij alcoholisten is toegenomen.

## 2.5 De vertering en absorptie van koolhydraten onder normale en pathologische omstandigheden

### 2.5.1 De normale vertering en absorptie van koolhydraten

Ongeveer de helft van de dagelijkse calorieënbehoefte bij de mens wordt gedekt door koolhydraten. Deze bestaan bij Europeanen en Noord-Amerikanen voor 60% uit de polysachariden zetmeel

en glycogeen, voor 30% uit sucrose en voor 10% uit lactose (Gray, 1975). Daarnaast zijn er nog disacchariden, die kwantitatief geen rol spelen, zoals bijvoorbeeld trehalose, dat o.a. in paddestoelen voorkomt.

De vertering van de koolhydraten gebeurt deels in het darmlumen en deels in de borstelzooam van de epitheelcellen van de dunne darm, de enterocyten.

In het darmlumen bevindt zich  $\alpha$ -amylase uit de speekselklieren en het pancreas. Dit verzorgt de eerste stap in de afbraak van zetmeel. Zetmeel bestaat voor 80% uit amylopectine en voor 20% uit amylose. Door  $\alpha$ -amylase worden amylopectine, amylose en glycogeen afgebroken tot de oligosacchariden  $\alpha$ -dextrine en maltotriose en het disaccharide maltose.

De verdere afbraak van deze splitsingsproducten gebeurt, evenals de vertering van sucrose en lactose door enzymen in de borstelzooam van de enterocyten. De epitheelcellen in de crypten van Lieberkühn bevatten géén enzymen voor de koolhydraatvertering. Deze enzymen zijn glycoproteïnen, welke waarschijnlijk tijdens de rijpingsfase van de epitheelcellen in de crypten gevormd worden. In de loop van de verdere rijping en migratie van de epitheelcellen naar de top van de villus worden deze eiwitten overgebracht naar de borstelzooam (Gray, 1975).

De borstelzooamenzymen zijn te onderscheiden in  $\beta$ -galactosidasen en  $\alpha$ -glucosidasen. Tot de  $\beta$ -galactosidasen hoort lactase. Tot de  $\alpha$ -glucosidasen horen 3 enzymen: glucoamylase (=maltase), sucrose- $\alpha$ -dextrinase (=sucrose-isomaltase) en trehalase. Het enzym glucoamylase breekt maltose en maltotriose af tot glucose. Sucrose- $\alpha$ -dextrinase is een enzymcomplex dat enerzijds sucrose afbreekt tot glucose en fructose en anderzijds  $\alpha$ -dextrine afbreekt tot glucose. Tenslotte breekt trehalase trehalose af tot glucose.

Door analyse van extracten van dunne darmslijmvlies kon Dahlquist (1977) naast lactase nog 2 andere  $\beta$ -galactosidasen onderscheiden. Deze bevonden zich echter niet in de borstelzooam maar intracellulair. Een van deze, het zure  $\beta$ -galactosidase, bevond zich in de lysosomen en was o.a. tot het splitsen van lactose in staat. Het andere, hetero- $\beta$ -galactosidase geheten, bevond zich in het cytoplasma en kon geen lactose splitsen. De

functie van dit enzym is niet bekend. Alleen het  $\beta$ -galactosidase in de borstelzooam (lactase) neemt deel aan de vertering van lactose in het voedsel.

De enzymen in de borstelzooam zijn niet gelijk verdeeld over de lengte van de dunne darm (Newcomer en McGill, 1966). De activiteit van lactase is het hoogst ter hoogte van het ligament van Treitz en wordt naar distaal minder. In het distale ileum is geen lactase meer aantoonbaar. De activiteit van de andere borstelzooam-enzymen wordt eveneens naar distaal minder. Er blijft echter enzym-activiteit tot in het terminale deel van het ileum aantoonbaar (Rutgeerts, 1973).

Het contact tussen enzym en substraat wordt enigszins bemoeilijkt door de aanwezigheid van de "unstirred layer" (Wilson en Dietschy, 1974). Dit is een waterige laag die over 'et slijmvlies van de dunne darm ligt. Zij bevindt zich tussen de enterocyten aan de ene kant en de goed gemengde massa, die de inhoud van het darmkanaal vormt, aan de andere kant. Deze laag, waarvan de dikte bij de mens op 0,2 mm wordt geschat, vormt een barrière voor de diffusie van stoffen uit het darmlumen naar de enterocyten. Hierdoor wordt de afbraak van koolhydraten enigszins vertraagd omdat het contact met de enzymen in de borstelzooam minder goed is. Niettemin verloopt het verteringsproces van disacchariden sneller dan de absorptie van de monosacchariden, die na afbraak hieruit ontstaan. Een uitzondering hierop vormt lactose, waarvan de vertering de traagste schakel in het proces is.

De eindproducten van de koolhydraatvertering zijn 3 monosacchariden. glucose, galactose en fructose. Het glucose-aandeel hiervan is 80%. Deze monosacchariden worden door de enterocyten van de dunne darm geabsorbeerd. Het transport door de celmembraan van de enterocyten gebeurt met behulp van carriereiwitten. Glucose en galactose worden geabsorbeerd door een actief proces waarvoor energie nodig is, terwijl het transport van fructose passief gebeurt (Gray, 1975)

### 2.5.2 Stoornissen in de vertering en absorptie van koolhydraten

Stoornissen in de afbraak en absorptie van koolhydraten kunnen berusten op (1) anatomische of functionele afwijkingen

van het maag-darmkanaal, (2) afwijkingen van het slijmvlies, (3) stoornissen in de vertering en (4) specifieke defecten in de absorptie van monosachariden. Wij zullen elk van deze 4 mogelijkheden in het kort bespreken.

ad 1 Na anatomische veranderingen van het maag-darmkanaal kan de capaciteit van de dunne darm te kort schieten, zoals na uitgebreide resectie van de dunne darm. Ook kan door versnelde passage door de dunne darm een deel van de koolhydraten reeds in het colon zijn aangekomen voordat de vertering en absorptie volledig heeft kunnen plaatsvinden (Bond en Levitt, 1977a; Jenkins e.a., 1977). Op basis van anatomische of functionele afwijkingen van het maag-darmkanaal kan bacteriele overgroei in de dunne darm optreden, waarvan een abnormale afbraak van koolhydraten door de darmbacteriën het gevolg kan zijn (Levitt, 1969; Gracey e.a., 1969; Metz e.a., 1976b). Bij motiliteitsstoornissen zoals door sclerodermie of intestinale pseudo-obstructie (Maldonado e.a., 1970; Sullivan e.a., 1977) kan koolhydraatmalabsorptie door bacteriele overgroei optreden, maar wellicht ook het gevolg zijn van een verminderd contact tussen substraat en borstelzoomenzymen door de hypomotiliteit, mogelijk door een toegenomen dikte van de unstirred layer (Gray, 1975).

ad 2 De afwijking die koolhydraatmalabsorptie veroorzaakt kan ook beperkt zijn tot het slijmvlies van de dunne darm, zoals bij darmspruw (Cluysenaer, 1977).

ad 3 Stoornissen in de vertering van koolhydraten berusten op enzymdeficienties. Deze kunnen zowel enzymen in het darmlumen als enzymen in de borstelzoom van de enterocyten betreffen. Bij insufficiëntie van het exocriene deel van het pancreas, bijvoorbeeld bij mucoviscidosis of na recidiverende of chronische pancreatitis, kan de vertering van zetmeel gestoord zijn. Fogel en Gray (1973) onderzochten 9 proefpersonen en 5 patienten met pancreasinsufficiëntie. Deze laatsten hadden een toegenomen excretie van vet in de feces van 12-50 g per dag en gebruikten tot vóór het onderzoek pancreasextract. Na infusie in het duodenum van een amylopectine-oplossing, en tevens na een testmaaltijd die 50 g amylopectine bevatte, onderzochten zij de mate waarin



vertering van amylopectine had plaats gevonden. Bij patiënten met pancreasinsufficiëntie bleek de vertering minder ver gevorderd te zijn dan bij proefpersonen blijkens de aanwezigheid van meer zetmeel en meer oligosachariden in het jejunumvocht van de patiënten in vergelijking met de proefpersonen. Tevens bepaalden zij de amylase-activiteit in het jejunumvocht na de toediening van amylopectine. Deze was bij de patiënten met pancreasinsufficiëntie duidelijk lager dan bij de proefpersonen. Volgens berekening was de hoeveelheid amylase echter ook bij deze patiënten meer dan voldoende om de hoeveelheid amylopectine, die was toegediend, te kunnen verteren. Bij de proefpersonen was de amylase-activiteit vele malen groter dan de hoeveelheid die volgens berekening nodig was om het toegediende amylopectine af te breken. De grote overmaat amylase, die door het pancreas wordt uitgescheiden maakt het waarschijnlijk dat, hoewel bij pancreasinsufficiëntie de zetmeelvertering gestoord is, malabsorptie van zetmeel bij deze aandoening vaak toch beperkt blijft.

Van de enzymdeficiënties in de borstelzoom van het dunne darmslijmvlies is lactasetekort het best onderzocht. Lactasedeficiëntie kan in drie vormen voorkomen (Dahlquist, 1977):

a Congenitale lactasedeficiëntie. Dit is een "inborn error of metabolism", waardoor de lactase-activiteit al vanaf de geboorte laag is. Deze aangeboren stoornis is gekoppeld aan een structureel gen (Dahlquist, 1977). De deficiëntie betreft uitsluitend het  $\beta$ -galactosidase in de borstelzoom. De door sommige onderzoekers gevonden restactiviteit van lactase in het slijmvlies van de dunne darm bij deze patiënten berust op de aanwezigheid van het zure  $\beta$ -galactosidase in de lysosomen (Dahlquist, 1977).

b De volwassen vorm van lactasedeficiëntie. Bij deze vorm is de lactase-activiteit bij de geboorte normaal, doch deze wordt vanaf het 3-5<sup>e</sup> en soms pas vanaf het 10-16<sup>e</sup> jaar minder (Ransome-Kuti, 1977; Dahlquist, 1977). De deficiëntie is recessief erfelijk en berust op een regulatorisch gen (Dahlquist, 1977). Aangezien deze vorm van lactasedeficiëntie mogelijk zelfs bij de meerderheid van de wereldbevolking voorkomt, zijn er goede argumenten om de lactasedeficiëntie van volwassenen eerder als een normale toestand te beschouwen. In deze visie is het persisteren van de lactase-

activiteit tot op volwassen leeftijd veeleer de niet normale toestand (Kretchmer, 1977). Volkeren die sinds vele eeuwen veehouders en melkdrinkers zijn geweest, bestaan uit mensen bij wie in grote meerderheid de lactase-activiteit tot op volwassen leeftijd is blijven bestaan. Volgens de theorie van Kretchmer (1977) zou onder deze volkeren in de loop der eeuwen een selectie volgens de wetten van Darwin hebben plaats gevonden van die mensen bij wie, door een genetische mutatie, de lactase-activiteit van het dunne darmslijmvlies hoog bleef. Hierdoor waren zij in het voordeel ten opzichte van mensen met lactasedeficientie en dus intolerantie voor melkproducten.

De volwassen vorm van lactasedeficientie komt in sommige populaties voor met een frequentie van 80-100% (Kretchmer, 1977). Sinds kort wordt voor bevolkingsonderzoek naar het voorkomen van lactasedeficientie gebruik gemaakt van de bepaling van  $H_2$  in de uitademingslucht (Newcomer e.a., 1977; Caskey e.a., 1977).

c De derde vorm van lactasedeficientie is de secundaire vorm. Hierbij zijn afwijkingen aan het darmslijmvlies, zoals bij darm-spruw, de oorzaak van de deficiëntie. In dit geval is niet alleen de lactase-activiteit, maar ook de activiteit van andere borstel-zoomenzymen verminderd, ofschoon de deficiëntie van lactase meestal het meest uitgesproken is (Ransome-Kuti, 1977).

Deficiëntie van sucrose- $\alpha$ -dextrinase is zeldzaam. Zij komt vooral voor bij de Eskimo's van Groenland. De aandoening kan opgespoord worden door bepaling van  $H_2$  in de uitademingslucht na belasting met sucrose (Metz e.a., 1976e).

ad 4 Specifieke defecten in de absorptie van de monosachariden zijn zeer zeldzaam. T.g.v. een "inborn error of metabolism" kan het specifieke transportsysteem voor glucose en galactose ontbreken. Alle koolhydraten, zowel polysachariden als disachariden, die worden afgebroken tot glucose of galactose worden slecht geabsorbeerd en veroorzaken diarree bij deze patienten. De behandeling van deze aandoening bestaat uit het toedienen van alle koolhydraten in de vorm van fructose.

De pathofysiologische gevolgen van koolhydraatmalabsorptie werden door Christopher en Bayless (1971) nader onderzocht bij

patienten met lactasedeficientie en diarree na lactosetoediening. Zij vonden bij deze patienten een versterkte vochtsecretie in de dunne darm in combinatie met verminderde vochtabsorptie in het colon. Debongnie e.a. (1977) vonden aanwijzingen voor een versnelde passage door de dunne darm bij patienten met lactasedeficientie, merkwaardigerwijs óók als het dieet geen lactose bevatte.

Een deel van de koolhydraten die door malabsorptie het colon bereiken wordt daar door de bacterieflora afgebroken. Deze afbraaktproducten worden in het colon nog ten dele geabsorbeerd, waardoor het verlies aan calorieën beperkt blijft (Bond en Levitt, 1974).

## METHODEN VAN ONDERZOEK

3.1 Het bepalen van de  $H_2$ -concentratie in uitademingslucht door gaschromatografische analyse

Voor de analyse van de ademmonsters werd een gaschromatograaf gebruikt (fig 1). Het principe van de analyse werd besproken in 2.3.3. Ademmonsters werden geïnjecteerd via een samplekraan met een sample loop die een inhoud had van 2 ml. Argon werd als drijfgas gebruikt met een druk van 1,3 atm. en een stroomsnelheid van 30 ml/min. Na omdraaien van de samplekraan wordt het ademmonster eerst door de argonstroom langs een  $H_2O$  en  $CO_2$ -absorber gevoerd en vervolgens door een kolom van 240 cm lengte met een inwendige diameter van 0,4 cm. De kolom was gevuld met molecular sieve 13X en bevond zich in een oven met een temperatuur van  $75^\circ C$ . In de kolom komt een scheiding tot stand van de verschillende componenten van het geïnjecteerde gasmengsel. Na injectie van uitademingslucht verschijnt aan het einde van de kolom eerst  $H_2$ , daarna  $O_2$  en tenslotte  $N_2$ .

De  $H_2$ -concentratie werd vervolgens gemeten met een warmtegeleidingsdetector, uitgerust met wolfram-filamenten. Deze werden verwarmd door een elektrische stroom van 160 mA. Het elektrisch signaal van de detector werd na maximale versterking door een schrijver opgetekend. Na injectie van een gasmengsel dat  $H_2$  bevatte, verscheen na  $2\frac{3}{4}$  minuut een piek op de schrijver. Dit is de retentietijd voor  $H_2$ . De hoogte van deze piek, gemeten als het hoogteverschil in mm tussen het begin van de piek en de top, is een maat voor de  $H_2$ -concentratie. Door vergelijking met een standaardgasmengsel van 225 ppm  $H_2$  in argon werd elke dag vóór en na de analyse van een serie ademmonsters de dosis-responsrelatie vastgesteld.

De basislijn van de schrijver vertoonde een ruis van 2 mm. De laagste  $H_2$ -concentratie die kon worden aangetoond was 4 ppm. De gevoeligheid van de respons was 0,6 mm uitslag op de schrijver voor elke ppm  $H_2$ . Dit betekent dat 1 mm uitslag overeenkwam met een  $H_2$ -concentratie van 1,7 ppm.

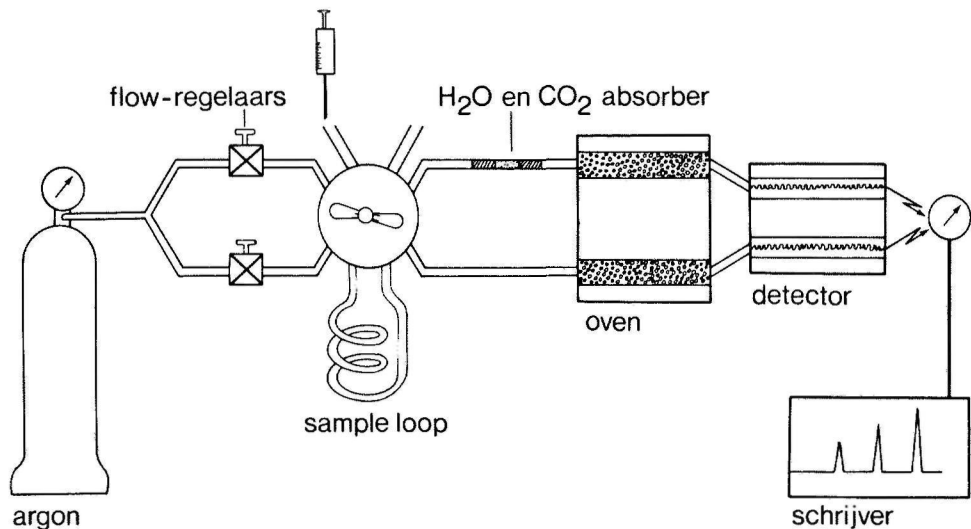


Fig 1 SCHEMA GASCHROMATOGRAAF (TYPE F EN M 700)

MEETCONDITIES: DRIJFGAS ARGON, FLOW 30 ML/MIN

2 ML SAMPLE LOOP

OVENTEMPERATUUR 75<sup>0</sup>C

KOLOM: 240 CM LENGTE; INWENDIGE DIAMETER

0,4 CM.GEVULD MET MOLECULAR SIEVE 13 X

DETECTOR: WARMTEGELEIDINGSDETECTOR MET

WOLFRAM FILAMENTEN.STROOM DOOR

DE FILAMENTEN 160 mA

DETECTORTEMPERATUUR 65<sup>0</sup>C

Na elke injectie van een gasmengsel ontstond een negatieve injectiepiek ten gevolge van het drukverschil tussen het ingespoten gasmengsel (1 atm) en het drijfgas (1,3 atm). Na injectie van een gasmengsel van  $H_2$  in argon werd na de negatieve injectiepiek een positieve  $H_2$ -piek geregistreerd. Na injectie van een mengsel van  $H_2$ ,  $O_2$  en  $N_2$  werden na de injectiepiek achtereenvolgens de pieken van  $H_2$ ,  $O_2$  en  $N_2$  geschreven. Als kamerlucht werd geïnjecteerd, ontstond een piekje van 7-9 mm op de plaats van de  $H_2$ -piek in het chromatogram. Dit berust niet op  $H_2$ , dat slechts in een concentratie van 0,5 ppm in buitenlucht aanwezig is, maar waarschijnlijk op helium, waarvan de concentratie in buitenlucht 5,24 ppm is (Weast en Selby, 1966). Bij berekening van de  $H_2$ -concentratie in monsters van de uitademingslucht, werd steeds van de hoogte van de  $H_2$ -piek het piekje dat ontstond bij injectie van kamerlucht afgetrokken. In figuur 2 zijn enkele chromatogrammen weergegeven.

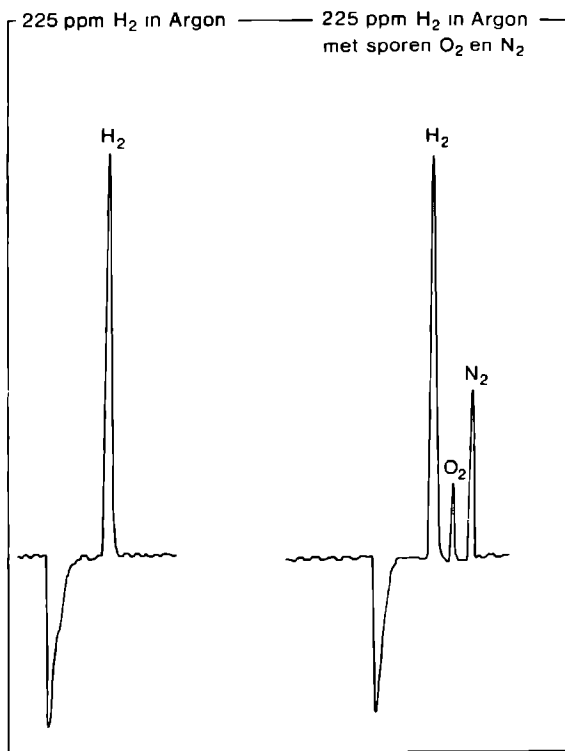


Fig 2  
 CHROMATOGRAMMEN VAN  $H_2$   
 IN ARGON (LINKS) EN  $H_2$   
 IN ARGON VERMENGD MET  
 SPOREN  $O_2$  EN  $N_2$  (RECHTS)

De dosis-respons-curve van degaschromatograaf was lineair. Wij hebben dit nagegaan met behulp van gasmengsels met H<sub>2</sub>-concentraties tussen 15 en 500 ppm. De resultaten hiervan toont figuur 3.

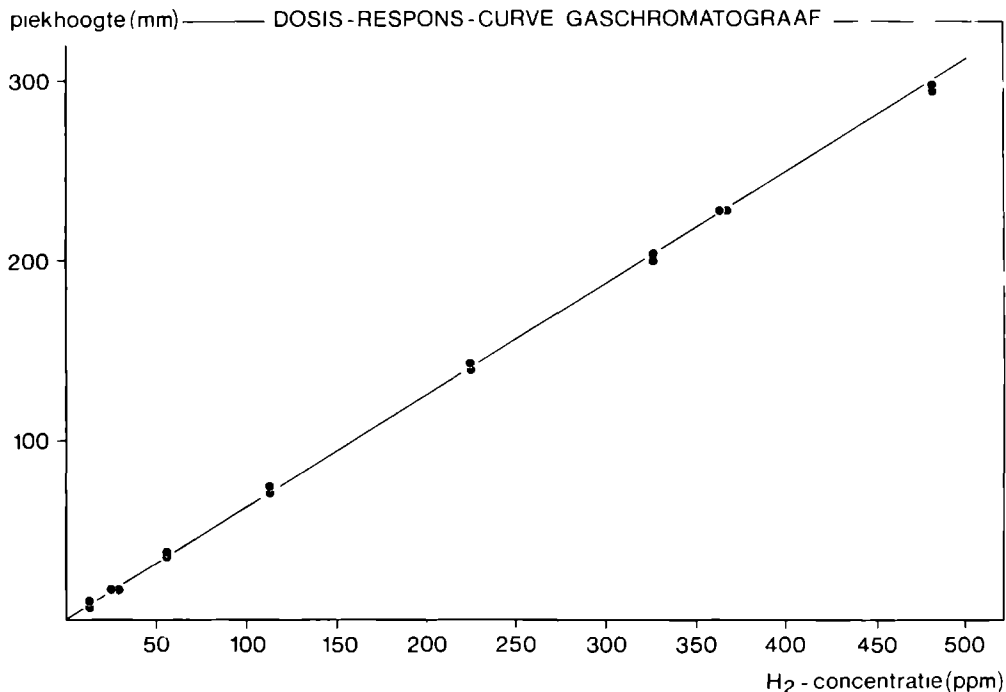


Fig 3 HET VERBAND TUSSEN H<sub>2</sub>-CONCENTRATIE EN PIEKHOOGTE NA INJICEREN VAN GASMENGSELS MET EEN BEKENDE H<sub>2</sub>-CONCENTRATIE.

De nauwkeurigheid van de analyse met de gebruikte gaschromatograaf werd in 2 series experimenten onderzocht. Allereerst werd de reproduceerbaarheid van de analyse van eenzelfde gasmengsel nagegaan door dit 10 x achter elkaar te injiceren. Uit het gemiddelde en de spreiding werd de variatiecoëfficiënt berekend (tabel 1).

Tabel 1 REPRODUCEERBAARHEID VAN DE GASCHROMATOGRAFISCHE ANALYSE ONDERZOCHT DOOR 10-VOUDIGE ANALYSE VAN 5 GASMENGSELS.

H <sub>2</sub> -concentratie (ppm)	SD (ppm)	variatiecoëfficiënt (%)
320	2,2	0,7
225	1,4	0,6
150	3,0	2,0
100	2,9	2,9
50	3,5	7,0

Bij lagere concentraties was de reproduceerbaarheid minder goed dan bij hogere.

Ten tweede werd de nauwkeurigheid van de analyse onderzocht door bij 11 H<sub>2</sub>-ademtesten eerst de ene helft van de ademmonsters en daarna de andere helft apart te analyseren. Zo werden in totaal 75 ademmonsters met H<sub>2</sub>-concentraties van 0-310 ppm in duplo geanalyseerd. Per ademtest werden gemiddelde duplo-SD en gemiddelde variatiecoëfficiënt berekend. Deze 2 grootheden werden vervolgens gemiddeld over de 11 H<sub>2</sub>-ademtesten. De resultaten toont tabel 2.

Tabel 2 REPRODUCEERBAARHEID VAN DE GASCHROMATOGRAFISCHE BEPALING, ONDERZOCHT DOOR DUPLO-ANALYSE VAN 75 ADEMMONSTERS, VERKREGEN TIJDENS 11 H<sub>2</sub>-ADEMTESTEN

aantal H <sub>2</sub> -ademtesten	H <sub>2</sub> -concentratie (ppm)	gem. duplo-SD (ppm)	gem. variatiecoëfficiënt (%)
11	0 - 310	2,2 ( $\pm$ 1,2 SD)	5,2 ( $\pm$ 6,6 SD)

Door gaschromatografische analyse wordt H<sub>2</sub> specifiek bepaald. Echter gassen met dezelfde retentie als H<sub>2</sub> kunnen met de H<sub>2</sub>-bepaling interfereren. Hiervan zagen wij enkele voorbeelden. Een monster uit een gasfles met 50% O<sub>2</sub> in N<sub>2</sub>, die wij gebruikten voor rebreathingexperimenten, bleek in het chromatogram een piek te geven op de plaats van H<sub>2</sub>. Nader onderzoek leerde dat de gasfles verontreinigd was met helium.

Ook op een andere manier kan de H<sub>2</sub>-bepaling gestoord worden. Als ademmonsters rook van tabak bevatten, wordt een piek gevonden die niet van H<sub>2</sub> te onderscheiden is. In de literatuur werd hierop gewezen door Tadesse en Eastwood (1977). Wij zagen eveneens na injectie van sigaren- of sigarettenrook een piek met dezelfde retentietijd als H<sub>2</sub>. Als bij een proefpersoon ademmonsters werden genomen tijdens het roken van een sigaret, dan was de H<sub>2</sub>-piek duidelijk hoger dan vóór het roken. Nadat het roken 10 minuten gestaakt was, werd weer de waarde bereikt van vóór het roken. Mede om deze reden werd aan personen bij wie de H<sub>2</sub>-excretie in



de uitademingslucht werd gemeten, het roken verboden vanaf tenminste een uur vóór de test tot na beëindiging ervan.

### 3.2 Het verkrijgen van ademmonsters met de rebreathing methode en met de single breath methode

#### 3.2.1 De rebreathing methode

Hiervoor maakten wij gebruik van een spirometer die gevuld werd met 50% O<sub>2</sub> in N<sub>2</sub>. De inhoud van de spirometer met de verbindingsslagen tot aan het mondstuk van de patient was 11,36 liter. Met een luchtpompje werd de inhoud voortdurend gemengd. CO<sub>2</sub> werd geabsorbeerd met sodalime. De te onderzoeken persoon ademde met een klem op de neus gedurende 4 min in de spirometer, te beginnen met een normale inademing en eindigend met een rustige uitademing. Figuur 4 toont de uitvoering van een ademtest met de rebreathing methode.

Doordat de adembewegingen werden geregistreerd kon aan het eind van de periode van 4 min het eindvolume van de spirometer berekend worden. Hiertoe werd de volumevermindering, ontstaan tijdens de rebreathing periode, afgetrokken van de beginstand. In een plastic spuit, voorzien van een driewegkraan, werd uit het eindvolume een monster van 40-50 ml genomen. Hierin werd gaschromatografisch de H<sub>2</sub>-concentratie bepaald. Door bij het eindvolume van de spirometer de FRC (functionele residuaal capaciteit) van de onderzochte persoon op te tellen werd het verdeelingsvolume van de H<sub>2</sub> bepaald. De FRC werd afgelezen in een normogram volgens Tammeling (1958) uitgaande van geslacht, leeftijd en lengte. De H<sub>2</sub>-excretie in de uitademingslucht werd berekend met de formule:

$$\text{H}_2\text{-excretie (ml/min)} = \frac{(\text{eindvolume spirometer} + \text{FRC}) \times \text{H}_2\text{-conc. (ppm)}}{4 \times 10^6 \text{ (ml)}} \\ (\text{ppm} = \text{ml H}_2 \times 10^{-6} \text{ ml gas})$$

De reproduceerbaarheid van het verkrijgen van ademmonsters met de rebreathing methode (inclusief de analyse) werd nagegaan

binnen één ademtest bij 6 proefpersonen. Bij hen werden tijdens een H<sub>2</sub>-ademtest telkens duplo-ademmonsters genomen vóór en elk half uur na toediening van 26 g lactulose gedurende 3 uur. Op deze wijze werden per persoon 7 duplo-ademmonsters genomen, dus in totaal werden 42 duplo-waarnemingen gedaan. Omdat tussen 2 periodes van rebreathing de spirometer verversst moet worden, lag de tweede waarneming steeds 6 min. na de eerste. Bij vergelijking van de duplo's werd hiermee rekening gehouden door telkens de eerste waarneming te vergelijken met een punt dat gevonden werd door lineaire interpolatie op de grafiek van de tweede waarneming van de duplo's. Per persoon werden gemiddelde duplo-SD en gemiddelde variatiecoëfficiënt berekend. De resultaten zijn weergegeven in tabel 3.

Tabel 3 REPRODUCEERBAARHEID VAN DE REBREATHING METHODE, ONDERZOCHT DOOR HET NEMEN VAN DUPLO-ADEMMONSTERS TIJDENS DE LACTULOSE-H<sub>2</sub>-ADEMTEST BIJ 6 PROEFPERSONEN

proefpersoon	H <sub>2</sub> -excretie min. en max. (ml/min)	gem. duplo-SD (ml/min)	gem. variatie- coëfficiënt (%)
1	0,01 - 0,29	0,005	8,7
2	0,04 - 0,19	0,01	9,9
3	0,06 - 0,85	0,02	2,0
4	0,15 - 0,92	0,02	4,1
5	0,06 - 0,50	0,03	8,0
6	0,07 - 1,26	0,07	7,5
gemiddeld	0,01 - 1,26	0,025 ± 0,021 SD	6,7 ± 3,0 SD

### 3.2.2 De single breath methode

Deze methode voerden wij uit zoals beschreven door Metz e.a. (1976c). Na een rustige inademing werd aan de te onderzoeken persoon gevraagd met een lange expiratie te blazen in een slang met een lengte van 170 cm en een inwendige diameter van 12 mm. Aan het eind van de diepe expiratie werd een ademmonster van 40-50 ml van de expiratielucht opgezogen in een plastic spuit via een

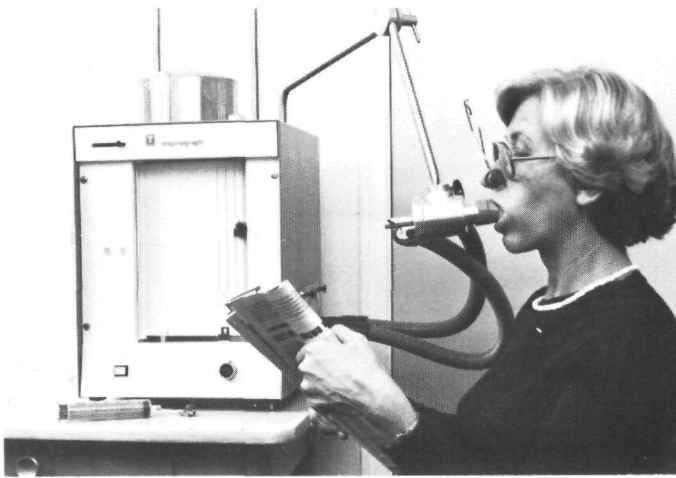


Fig 4  
UITVOERING VAN DE  
 $H_2$ -ADEMTEST VOLGENS  
DE REBREATHING  
METHODE.

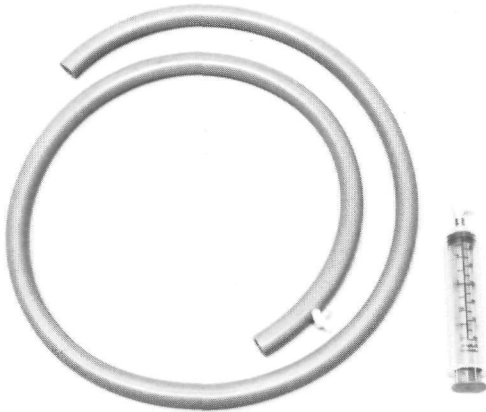


Fig 5a  
DE SLANG GEBRUIKT  
VOOR HET VERKRIJGEN  
VAN ADEMMONSTERS MET DE  
SINGLE BREATH METHODE.  
IN DE PLASTIC SPIJT  
WORDEN DE ADEMMONSTERS  
KORTE TIJD BEWAARD.



Fig 5b  
HET NEMEN VAN EEN  
ADEMMONSTER MET DE  
SINGLE BREATH METHODE.

gaatje in de slang op 5 cm afstand van de plaats waar ingeblazen werd. In dit ademmonster werd de H<sub>2</sub>-concentratie gaschromatografisch bepaald. De gebruikte slang en spuit zijn afgebeeld in figuur 5a en het nemen van een ademmonster in figuur 5b.

De reproduceerbaarheid van de single breath methode om ademmonsters te verkrijgen (inclusief de analyse ervan) werd binnen één ademtest benaderd op 2 manieren. Bij 4 personen die tijdens een H<sub>2</sub>-ademtest een H<sub>2</sub>-excretie toonden van 42-200 ppm werden 10 ademmonsters genomen met 1 minuut tussenpauze. Uit het gemiddelde en de SD werd de variatiecoëfficiënt berekend. De resultaten zijn weergegeven in tabel 4.

Tabel 4 REPRODUCEERBAARHEID VAN DE SINGLE BREATH METHODE, ONDERZOCHT DOOR BIJ 4 PERSONEN 10 ADEMMONSTERS MET 1 MINUUT TUSSENPAUZE TE NEMEN

onderzochte persoon	gem. H <sub>2</sub> -concentratie van 10 ademmonsters (ppm)	SD (ppm)	variatie- coëfficiënt (%)
1	158	26	16,5
2	157	20	13
3	145	17	12
4	57	12	21

Deze resultaten zijn vergelijkbaar met die van Metz e.a. (1976c). Zij vonden bij één patient op dezelfde wijze een variatiecoëfficiënt van 17,6%.

Op een tweede manier werd de reproduceerbaarheid van de single breath methode nagegaan door duplo-ademmonsters te nemen tijdens ademtesten bij 8 personen. Zo werden in totaal 53 duplo-ademmonsters genomen met H<sub>2</sub>-concentraties van 0-245 ppm. Per persoon werden de gemiddelde duplo-SD en de gemiddelde variatiecoëfficiënt berekend. De resultaten zijn weergegeven in tabel 5. Twee voorbeelden van in duplo uitgevoerde H<sub>2</sub>-ademtesten tonen figuur 6a en 6b.

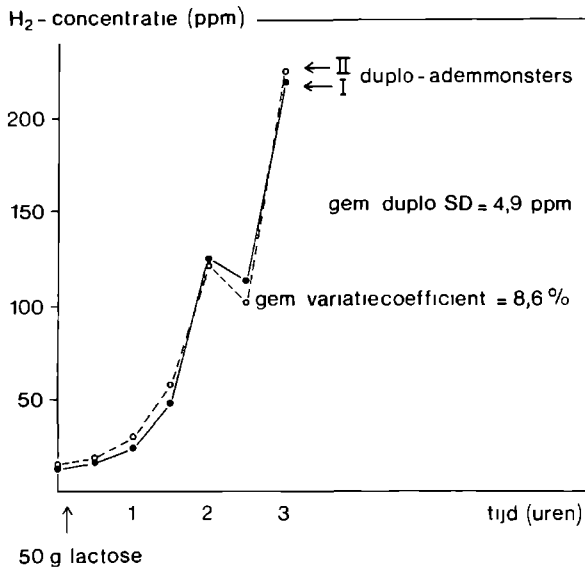


Fig 6a

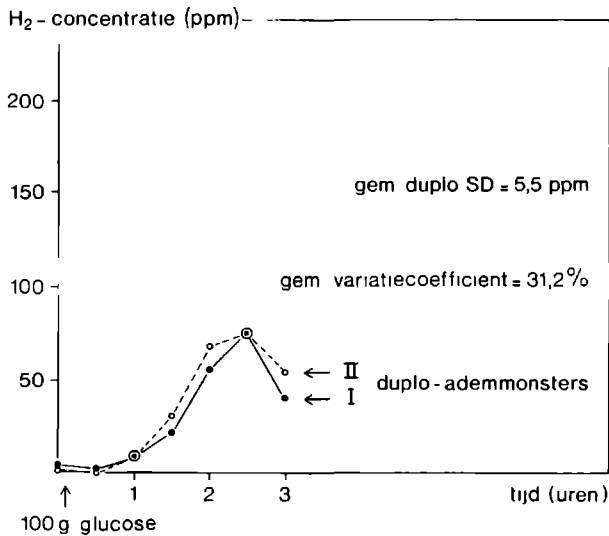


Fig 6b

Fig 6a+b TWEE VOORBEELDEN VAN DE REPRODUCEERBAARHEID VAN DE SINGLE BREATH METHODE TIJDENS EEN LACTOSE- RESP. GLUCOSE-H<sub>2</sub>-ADEMTEST. DE ADEMMONSTERS WERDEN IN DUPLO AFGENOMEN. VAN ALLE EERST AFGENOMEN ADEMMONSTERS WERD DE H<sub>2</sub>-CONCENTRATIE GRAFISCH WEERGEGEVEN DOOR EEN GETROKKEN LIJN EN VAN ALLE TWEEDE ADEMMONSTERS DOOR EEN ONDERBROKEN LIJN.

Tabel 5 REPRODUCEERBAARHEID VANDE SINGLE BREATH METHODE, ONDERZOCHT DOOR HET NEMEN VAN DUPLO-ADEMMONSTERS TIJDENS EEN H<sub>2</sub>-ADEMTEST BIJ 8 PERSONEN

onderzochte persoon	H <sub>2</sub> -concentratie min. en max. (ppm)	gem. duplo-SD (ppm)	gem. variatie- coefficient (%)
1	10 - 245	34	14,2
2	12 - 226	5	8,6
3	0 - 166	12	8,0
4	2 - 110	5	8,3
5	0 - 103	17	26,0
6	0 - 97	5	28,3
7	0 - 76	6	31,2
8	9 - 40	10	10,2
gemiddeld	0 - 245	12 $\pm$ 10 SD	16,8 $\pm$ 9,9 SD

Metz e.a. (1976c) vonden bij vergelijking van 61 duplo-ademmonsters met H<sub>2</sub>-concentratie van 5-352 ppm een variatiecoefficient van 11,6%.

Op beide manieren bepaald bleek de reproduceerbaarheid van de single breath methode dus matig te zijn. Niettemin is naar onze mening deze methode goed bruikbaar voor een kwalitatieve beoordeling van de H<sub>2</sub>-excretie, aangezien de verschillen tussen de nuchtere waarde en een volgende waarde bij een positieve test groot zijn. Deze verschillen variëren in het algemeen van een verdubbeling tot een vertienvoudiging. Een voorbeeld om dit te illustreren toont figuur 7, waarin een positieve test en een negatieve test zijn afgebeeld.

### 3.3 Vergelijking van de resultaten van H<sub>2</sub>-ademtesten uitgevoerd met de rebreathing en met de single breath methode

De rebreathing methode en de single breath methode werden onderling vergeleken door deze simultaan uit te voeren. Een voorbeeld hiervan toont figuur 8. Bij beide methoden treedt een forse stijging van de H<sub>2</sub>-excretie op. Bovendien is de vorm van de H<sub>2</sub>-

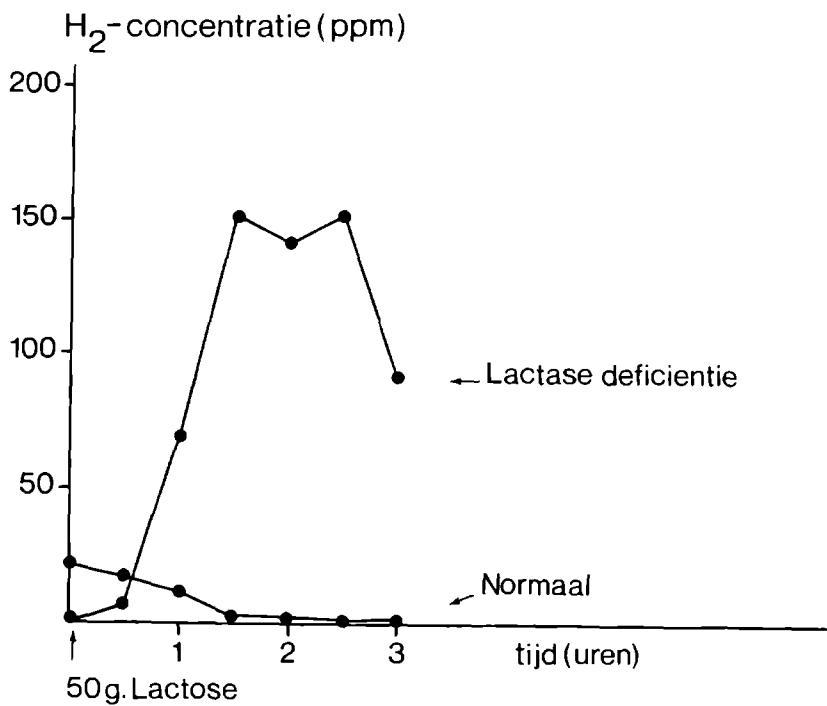


Fig 7 VOORBEELD VAN DE LACTOSE-H<sub>2</sub>-ADEMTEST BIJ EEN NORMALE  
 PERSOON EN BIJ EEN PATIENT MET LACTASEDEFICIENTIE. HET  
 TOONT DE STERKE STIJGING VAN DE H<sub>2</sub>-EXCRETIE BIJ EEN  
 POSITIEVE TEST.

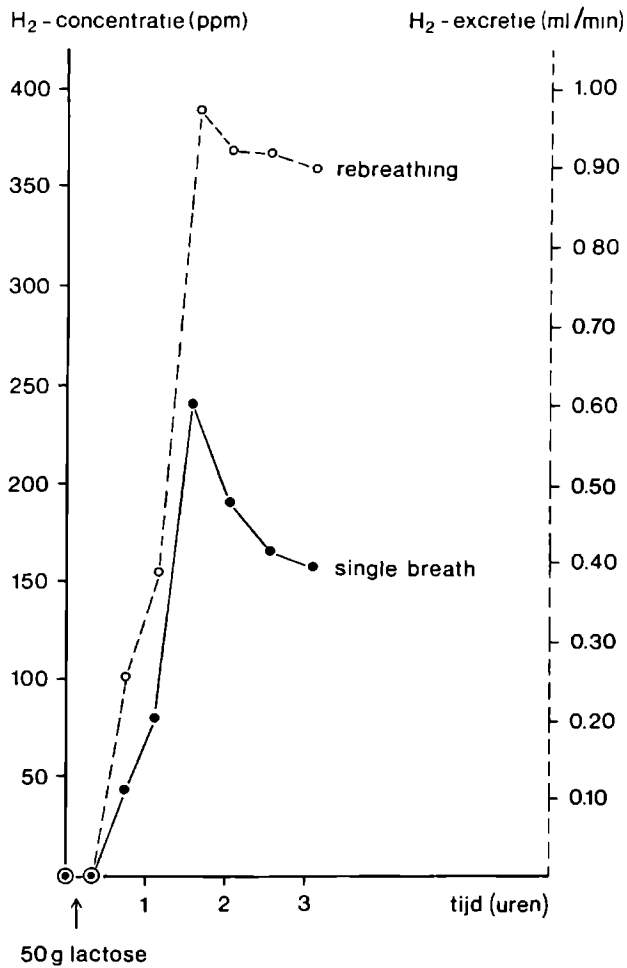


Fig 8 VOORBEELD VAN EEN LACTOSE-H<sub>2</sub>-ADEMTEST, WELKE SIMULTAAN WERD UITGEVOERD VOLGENS DE SINGLE BREATH METHODE EN VOLGENS DE REBREATHING METHODE. MET BEIDE METHODEN TREEDT EEN DUDELIJKE STIJGING VAN DE H<sub>2</sub>-EXCRETIE OP NA TOEDIENING VAN LACTOSE EN DE VORM VAN BEIDE CURVES IS VERGELIJKBAAR.



curve bij beide methoden vergelijkbaar.

Op deze wijze werden 57 ademtesten simultaan met beide methoden uitgevoerd. Op basis van de rebreathing methode werden de testen verdeeld in positieve en negatieve. Hierna werden deze beide categorieën beoordeeld volgens de single breath methode in positieve en negatieve ademtesten. De criteria voor een positieve en een negatieve test worden vermeld in paragraaf 4.3, 5.3.1 en 7.3. Tabel 6 toont de mate van overeenkomst in de beoordeling van de test volgens beide methoden.

Tabel 6 VERGELIJKING VAN DE KWALITATIEVE BEOORDELING VAN 57 H<sub>2</sub>-ADEMTESTEN WELKE SIMULTAAN WERDEN UITGEVOERD MET DE REBREATHING EN MET DE SINGLE BREATH METHODE

rebreathing	single breath
30 pos.	30 pos.
27 neg.	26 neg.
	1 pos.

Er was dus slechts bij één van de 57 testen een verschil in beoordeling.

De vorm van de H<sub>2</sub>-curve werd vergeleken bij de 30 positieve testen uitgevoerd met de rebreathing methode en met de single breath methode door de waarden van de H<sub>2</sub>-excretie op eenzelfde tijdstip, verkregen met elk van beide methoden, met elkaar te vergelijken. De correlatie tussen beide methoden was goed. De resultaten zijn weergegeven in tabel 7.

Bij 7 proefpersonen bij wie de H<sub>2</sub>-excretie werd bepaald na 26 g lactulose, werd de relatie tussen de H<sub>2</sub>-excretie in de rebreathing methode en in de single breath methode nader onderzocht. Het maximum was het hoogst in de rebreathing methode. Bovendien was de spreiding in de maximale H<sub>2</sub>-excretie bij de single breath methode aanzienlijk groter dan bij de rebreathing methode. De gegevens van deze 7 personen zijn samengevat in tabel 8.

Tabel 7 VERGELIJKING VAN DE VORM VAN DE H<sub>2</sub>-CURVES VAN 30 POSITIEVE H<sub>2</sub>-ADEMTESTEN, SIMULTAAN UITGEVOERD MET DE RE-BREATHING EN MET DE SINGLE BREATH METHODE

aantal testen	correlatiecoëfficiënt volgens Pearson	p
30	0,77 - 0,99	<0,05 - <0,001

Tabel 8 VERGELIJKING VAN DE MAXIMALE H<sub>2</sub>-EXCRETIE TIJDENS EEN LACTULOSE-H<sub>2</sub>-ADEMTEST, WELKE BIJ 7 PROEFPERSONEN SIMULTAAN WERD UITGEVOERD MET DE REBREATHING EN MET DE SINGLE BREATH METHODE

proefpersoon	maximale H <sub>2</sub> -excretie single breath methode (ppm)	maximale H <sub>2</sub> -excretie rebreathing methode (ppm)
1	38	176
2	45	177
3	47	164
4	57	169
5	87	218
6	194	260
7	197	283
gemiddelde	95	206
SD	70,4	48,6
variatiecoëfficiënt	74%	24%

Bij dezelfde 7 proefpersonen werd op elk tijdstip van de H<sub>2</sub>-ademtest de hoogte van de H<sub>2</sub>-concentratie in ppm met de rebreathing methode uitgezet tegen de hoogte bij de single breath methode. Op deze wijze werd per ademtest de regressielijn van de H<sub>2</sub>-concentratie met de rebreathing methode op de H<sub>2</sub>-concentratie met de single breath methode berekend. De 7 regressie-

lijnen zijn getekend in figuur 9. Tevens is hierin aangegeven de correlatiecoëfficiënt volgens Pearson (r) en de overschrijdingskans (p) per H<sub>2</sub>-ademtest.

### 3.4 De invloed van bewaren van ademmonsters op de H<sub>2</sub>-concentratie

De ademmonsters verkregen met de rebreathing methode en met de single breath methode werden opgezogen in een plastic disposable spuit van 60 ml en afgesloten met een plastic driewegkraantje. In deze spuitten werden de ademmonsters bewaard totdat deze gaschromatografisch geanalyseerd werden. Dit gebeurde steeds binnen 10 uur na het nemen van het ademmonster en meestal binnen 6 uur.

Om een indruk te krijgen van de lekkage van H<sub>2</sub> uit de spuitten, hebben wij deze na vulling met een gasmengsel van 250 ppm H<sub>2</sub> in kamerlucht 24 uur bewaard, waarna opnieuw de H<sub>2</sub>-concentratie werd gemeten. Op deze wijze werden 10 spuitten van 2 merken onderzocht. Bovendien werden 10 spuitten gedurende 46 uur in een koelkast (temp. 4°C) bewaard en daarna geanalyseerd. Vóór de analyse werden deze spuitten eerst gedurende 1½ uur op kamertemperatuur gebracht. De resultaten zijn samengevat in tabel 9.

Tabel 9 DALING VAN DE H<sub>2</sub>-CONCENTRATIE (IN % VAN DE OORSPRONKELIJKE CONCENTRATIE) VAN EEN GASMENGSEL DAT GEDURENDE 24 RESP. 46 UUR IN PLASTIC DISPOSABLE SPUITEN WERD BEWAARD BIJ KAMERTEMPERATUUR OF BIJ 4°C

	sput type Brünswick	sput type Monoject
gem. lekkage na 24 uur bewaren bij kamertemp.	4,8%	5,8%
gem. lekkage na 46 uur bewaren bij 4°C		3,6%

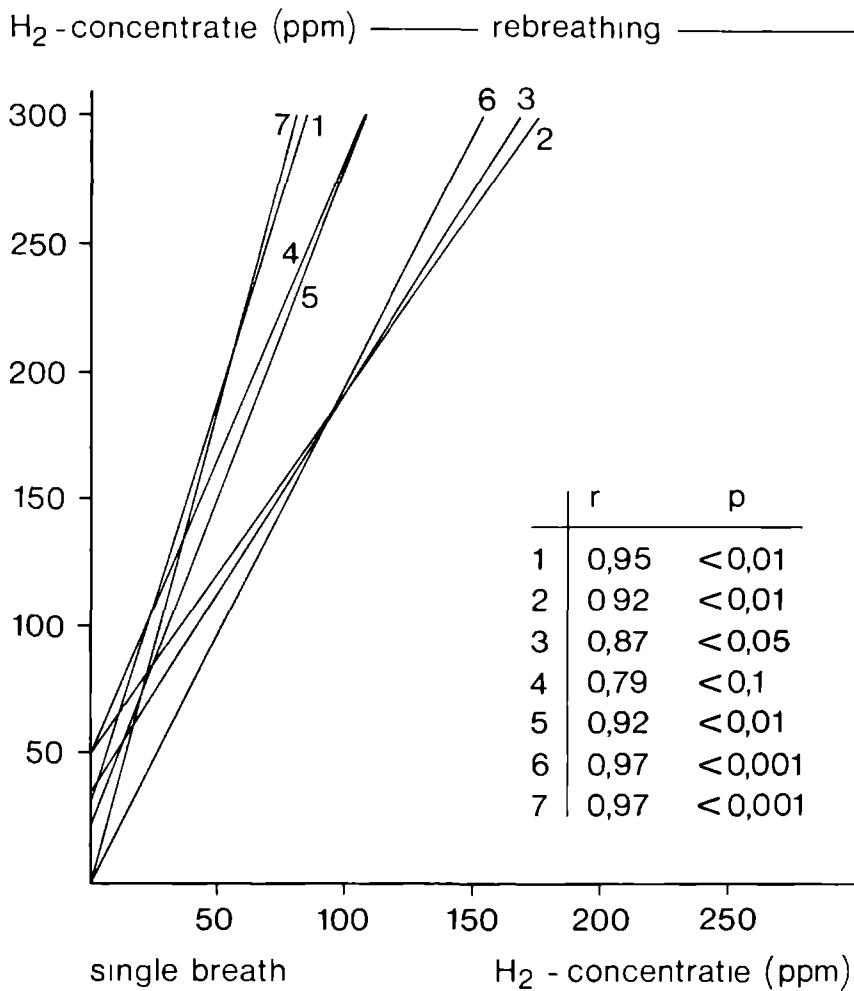


Fig 9 DE REGRESSIELIJNEN VAN DE H<sub>2</sub>-CONCENTRATIE GEMETEN MET DE REBREATHING METHODE OP DE H<sub>2</sub>-CONCENTRATIE MET DE SINGLE BREATH METHODE TIJDENS EEN LACTULOSE-H<sub>2</sub>-ADEMTEST BIJ 7 PROEFPERSONEN. PER H<sub>2</sub>-ADEMTEST IS DE CORRELATIE-COEFFICIENT (r) EN DE OVSCHRIJDINGSKANS (p) AANGEGEVEN.

Glazen gasspuiten met een metalen driewegkraantje die licht ingevet waren met vloeibare parafine, vertoonden in vergelijking met de disposable spuiten een veel grotere lekkage. Bij 3 spuiten van dit type bedroeg deze in 24 uur 60-80%.

Wij hebben daarom tijdens het onderzoek uitsluitend de plastic disposable spuiten gebruikt om de ademmonsters tijdelijk te bewaren. Aangezien alle ademmonsters meestal binnen 6 uur werden geanalyseerd, zal het verlies van  $H_2$  slechts een fractie zijn geweest van het in tabel 9 opgegeven percentage.

### 3.5 Reproduceerbaarheid van de $H_2$ -ademtest

De  $H_2$ -excretie in de uitademingslucht is afhankelijk van de  $H_2$ -productie in het darmlumen. Uit productie en verbruik van  $H_2$  door darmbacteriën resulteert een bepaalde hoeveelheid  $H_2$  in de darm. Een deel hiervan verschijnt in de uitademingslucht; de rest verlaat het lichaam in de flatus. Deze laatste factor zal niet constant zijn onder verschillende omstandigheden. Zo zijn er nog andere moeilijk te controleren factoren, die mede de  $H_2$ -excretie in de uitademingslucht bepalen, zoals de psychische toestand van de patient (Calloway en Murphy, 1968). Daarnaast hangt de reproduceerbaarheid tussen  $H_2$ -ademtesten ook af van de reproduceerbaarheid van de rebreathing en single breath methode binnen één  $H_2$ -ademtest. Deze werd beschreven in paragraaf 3.2.

Door de boven genoemde factoren is het niet te verwachten dat herhaling van dezelfde  $H_2$ -ademtest bij één persoon een identieke  $H_2$ -excretie zal geven. Een voorbeeld hiervan toont figuur 10. Hierin is de  $H_2$ -excretie weergegeven na toedienen van 26 g lactulose bij één persoon op 3 verschillende dagen. Bij 19 personen werd met de single breath methode dezelfde  $H_2$ -ademtest tweemaal uitgevoerd op verschillende dagen. De beoordeling van de  $H_2$ -ademtesten bij deze 19 personen (voor de criteria: zie 4.3; 5.3 en 7.3) is samengevat in tabel 10.

Bij 4 van de 19 was er een verschil in beoordeling tussen eerste en tweede onderzoek. Bij één patient met een primaire lactasedeficientie (no 17 uit tabel 10), die 100 g glucose kreeg toegediend, was bij navragen een duidelijke verklaring te vinden voor dit verschil. Zij had in strijd met de voorschrif-

ten de avond tevoren 2 tabletten bisacodyl gekregen en klaagde vóór het eerste onderzoek over rommelingen in de buik en had tijdens de proef diarree. Bij herhaling van het onderzoek zonder voorafgaand gebruik van laxantia was de test negatief en had patiënte ook geen klachten.

Tabel 10 REPRODUCEERBAARHEID VAN DE H<sub>2</sub>-ADEMTEST. BIJ 19 PERSONEN WERD MET DE SINGLE BREATH METHODE DEZELFDE ADEMTEST TWEEMAAL UITGEVOERD. VERGELEKEN WERD DE KWALITATIEVE BEOORDELING VAN HET EERSTE EN TWEDE ONDERZOEK

onderzochte personen	substraat	1e onderzoek	2e onderzoek
1	lactose	+	+
2	"	+	+
3	"	+	+
4	"	+	-
5	"	-	+
6	"	-	-
7	"	-	-
8	"	-	-
9	lactulose	+	+
10	"	+	+
11	"	+	+
12	"	+	+
13	"	+	+
14	glucose	-	-
15	"	-	-
16	"	+	-
17	"	+	-
18	"	+	+
19	"	+	+

Een andere patiënte met primaire lactasedeficientie bij wie geen lactase-activiteit in het jejunumslijmvlies aantoonbaar was (no 5 uit tabel 10), had mogelijk voorafgaand aan het eerste

onderzoek enkele weken Salazopyrine gebruikt. Dit was echter niet met zekerheid te achterhalen. Of dit van invloed is geweest is onzeker. Het tweede onderzoek was zeer duidelijk positief. Patient 16 had een ileitis terminalis. De reden waarom de eerste test positief uitviel is niet duidelijk. Mogelijk heeft een verandering van de bacterieflora in de darm als gevolg van de ileitis een rol gespeeld. De vierde persoon (no 4 uit tabel 10) bij wie het eerste en tweede onderzoek niet overeen kwamen, had buikklachten van onbekende oorsprong en diarree. De curve van de  $H_2$ -excretie bereikt bij deze patient de eerste keer het maximum binnen 2 uur en de tweede keer na 2 uur. Ofschoon de maxima ongeveer gelijk waren, werd de eerste test wel en de tweede niet positief beoordeeld.

Voor de reden hiervoor wordt verwezen naar het hoofdstuk over de toepassing van de  $H_2$ -ademtest voor het onderzoek van lactosemalabsorptie. Het is niet uitgesloten dat een verschil in passagesnelheid door de darm hier een rol heeft gespeeld.

Ook met de rebreathing methode varieert de  $H_2$ -excretie duidelijk, ofschoon de duplo-ademmonsters beter reproduceerbaar waren dan met de single breath methode (vergelijk de variatiecoëfficiënt van tabel 3 met die van tabel 5). Een voorbeeld van de  $H_2$ -excretie bepaald met de rebreathing methode op 3 verschillende dagen bij eenzelfde persoon na toediening van 26 g lactulose, toont figuur 11. Overigens werd de reproduceerbaarheid binnen één persoon niet systematisch onderzocht met de rebreathing methode.

### 3.6 Het onderzoekprotocol van de verschillende $H_2$ -ademtesten

Voor het onderzoek naar de nauwkeurigheid van de verschillende methoden om uitademingslucht te verkrijgen, werd gebruik gemaakt van de rebreathing methode, welke simultaan met de single breath methode werd toegepast. Voor de toepassing van de  $H_2$ -ademtest in de praktijk werd echter steeds gebruik gemaakt van de single breath methode met gaschromatografische analyse van het ademmonster. Een derde methode die werd ontwikkeld, waarbij volgens een nieuw principe het verkrijgen van de ademmonsters wordt

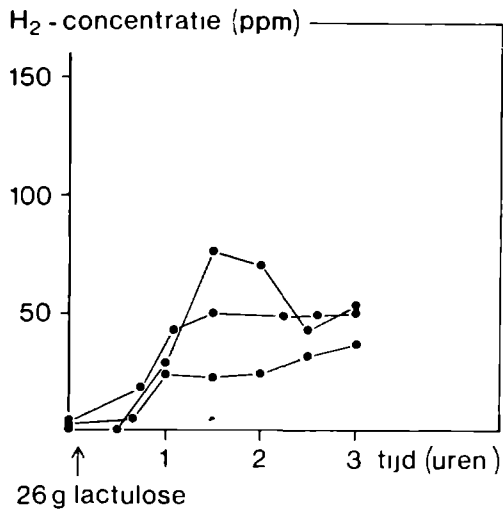


Fig 10 REPRODUCEERBAARHEID VAN DE H<sub>2</sub>-ADEMTEST, UITGEVOERD MET DE SINGLE BREATH METHODE.

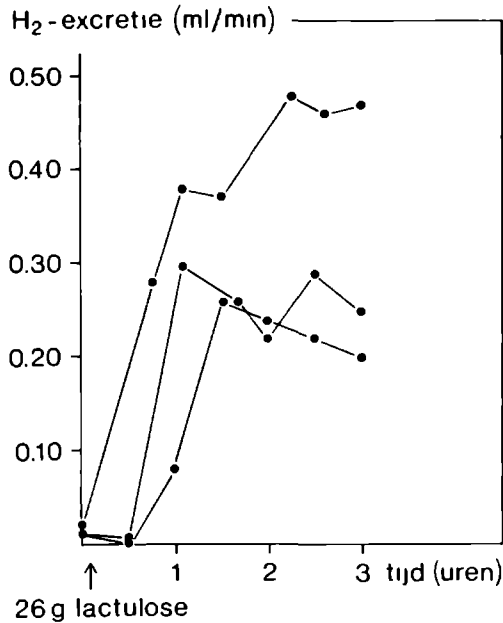


Fig 11 REPRODUCEERBAARHEID VAN DE H<sub>2</sub>-ADEMTEST, UITGEVOERD MET DE REBREATHING METHODE.



gecombineerd met directe bepaling van de H<sub>2</sub>-concentratie, wordt beschreven in paragraaf 3.8.

De uitvoering van de H<sub>2</sub>-ademtest werd als volgt gestandaardiseerd:

- de patient moest nuchter blijven vanaf 22 uur de avond tevoren. Het onderzoek begon de volgende ochtend tussen 8 en 9 uur. Water en thee zonder enige toevoeging waren toegestaan tot ½ uur vóór de test. Roken was verboden vanaf 1 uur vóór de test tot na beëindiging ervan.
- alle medicamenten werden de avond tevoren gestaakt tot na de test, echter antibiotica en chemotherapeutica reeds een week tevoren.
- de patient mocht vrij rondwandelen, zitten of in bed liggen, maar niet slapen (Solomons en Viteri, 1976). Inspanning was niet toegestaan (Metz en Jenkins, 1977).

De voorschriften voor het uitvoeren van de verschillende H<sub>2</sub>-ademtesten met de single breath methode worden hieronder beschreven. De uitvoering van de testen gedaan met het H<sub>2</sub>-ademtest apparaat (zie 3.8) en met de rebreathingmethode is hieraan gelijk.

#### Lactose-H<sub>2</sub>-ademtest (duur 2 uur)

- 1 neem een nuchter ademmonster
- 2 geef 50 g lactose in 400 ml water. Overigens mag de patient niets gebruiken tot na de test
- 3 neem een ademmonster 2 uur na de lactose-toediening
- 4 simultaan kan zonodig een LTT gedaan worden
- 5 beoordeling: zie 4.3

#### Glucose-H<sub>2</sub>-ademtest (duur 3 uur)

- 1 neem een nuchter ademmonster
- 2 geef 100 g glucose in 400 ml water (op speciale indicatie 50 g in 200 ml water). Verder mag de patient niets gebruiken tot na de test
- 3 neem een ademmonster elk half uur gedurende 3 uur
- 4 beoordeling: zie 5.3.1

### Glucose-barium-H<sub>2</sub>-ademtest (duur 3 uur)

- 1 deze wordt uitgevoerd op de röntgenafdeling
- 2 neem een nuchter ademmonster
- 3 laat de patient een mengsel drinken van 100 g glucose, 200 ml Mixobar (bariumpap) en 150 ml water. Noteer het tijdstip
- 4 de röntgenoloog doorlicht de patient elke 15 min. en maakt zonodig röntgenopnamen, om vast te stellen wanneer voor het eerst het contrastmiddel het coecum bereikt. Hierna wordt nog één keer een opname gemaakt een half uur later. In alle gevallen wordt het onderzoek na 3 uur beëindigd. De tijd die verloopt tussen het toedienen van het glucose-bariummengsel en het bereiken van het coecum is de passagetijd van mond naar coecum
- 5 simultaan met het röntgenonderzoek wordt elke 15 min. een ademmonster genomen. Nadat contrast in het coecum is aangekomen wordt nog elk ½ uur een ademmonster genomen tot in totaal 3 uur na het begin van het onderzoek
- 6 beoordeling: zie 5.3.4

### Zetmeel-H<sub>2</sub>-ademtest (duur 9 uur)

- 1 neem een nuchter ademmonster
- 2 geef de patient 100 g ongekookt tarwezetmeel, aangemaakt met 200 ml water en ½ zakje Orange Flavor (Vivonex). Op speciale indicatie wordt 50 g zetmeel in 100 ml water en ½ zakje Flavor gegeven
- 3 neem elk uur een ademmonster gedurende 9 uur
- 4 water en thee of koffie zonder enige toevoeging mogen vrij gebruikt worden gedurende de gehele test
- 5 4½ uur na het begin van de test krijgt patient een standaardlunch, bestaande uit 2 beschuiten met vlees, kaas en 1 tomaat
- 6 beoordeling: zie 6.3

### Lactulose-H<sub>2</sub>-ademtest (duur 3 uur)

- 1 neem een nuchter ademmonster
- 2 geef de patient 40 ml Duphalac (= 26 g lactulose) in 200 ml water. Overigens mag de patient niets gebruiken tot na de test
- 3 neem elke 15 min. een ademmonster gedurende 3 uur
- 4 beoordeling: zie 7.3

### 3.7 Andere toegepaste onderzoeksmethoden

#### 3.7.1 De lactosetolerantietest (LTT)

De LTT werd uitgevoerd met 50 g lactose, toegediend in 400 ml water. Veneuze bloedmonsters werden genomen in nuchtere toestand en 10, 20, 30, 45, 60 en 90 min. na de lactosetoediening. Gelet werd op de stijging van het bloedsuikergehalte ten opzichte van de nuchtere waarde. De test werd als normaal beoordeeld, wanneer de stijging minstens 1,2 mmol/l bedroeg (Cluysenaer, 1977).

#### 3.7.2 Bepaling van de lactase-activiteit in het jejunumslimvlies

De lactase-activiteit werd bepaald in biopten van het jejunum, verkregen met een apparaat voor multipiele biopsieën, zoals beschreven door Haex e.a. (1963). De capsule werd onder röntgencontrole tot 15 à 20 cm voorbij het ligament van Treitz gebracht. Er werden 1 of 2 biopten voor bepaling van de lactase-activiteit genomen en 1 of 2 voor morfologisch onderzoek van het slijmvlies. Het gewicht varieerde van 20-35 mg per biopt. De biopten werden na fixatie in de vloeistof van Bouin bekeken onder een stereomicroscop, waarbij op de vorm van de villi gelet werd. Het materiaal werd daarna histologisch onderzocht.

Voor bepaling van de lactase-activiteit werden 2 biopten direct na het verkrijgen overgebracht in een reageerbuis met tris-buffer en in een bakje met ijs gezet. De lactase-activiteit werd bepaald volgens Dahlquist (1970). Er werd 30 min. geïncubeerd. De bepaling werd in 2 of 3-voud uitgevoerd en afgegevens als het gemiddelde van de verkregen waarden, uitgedrukt in  $\mu\text{mol E/g nat gewicht}$ .

Om de betrouwbaarheid van de bepaling te onderzoeken werden bij een aantal patiënten extra biopten genomen en na homogenisatie ingevroren. Nadat voldoende materiaal verzameld was, werden de biopten samengevoegd, zodat 8 maal de bepaling van de lactase-activiteit kon gedaan worden uit deze hoeveelheid biopsiemateriaal. De gemiddelde waarde van de lactase-activiteit was  $0,6 \pm 0,28 \text{ SD } \mu\text{mol E/g nat gewicht}$ . Op een later tijdstip

werden op dezelfde wijze extra biopten van proefpersonen samengevoegd, waarmee 14 maal de lactase-activiteit kon worden bepaald. De gemiddelde waarde van dit materiaal was  $3,2 \pm 0,15$  SD  $\mu\text{mol E/g}$  nat gewicht. De reproduceerbaarheid van de lactasebepaling bleek dus bij een hoge lactase-activiteit goed te zijn, maar bij lage waarden minder goed.

Om de normale lactase-activiteit van het jejunumslijmvlies vast te stellen, werden bij 9 volwassen proefpersonen zonder tekenen van lactose-intolerantie en met een normale LTT en bij 15 controlepatienten multipele jejunumbiopten genomen op 15-20 cm voorbij het ligament van Treitz. Nadat hun de procedure van het onderzoek was uitgelegd, gaven zij er hun toestemming voor. Allen waren volwassenen. De controlepatienten bestonden uit patienten met buikklasten en/of diarree, waarvoor bij onderzoek geen verklaring was gevonden, een patient met de ziekte van Kahler en een patient met een ulcus ventriculi. Zij hadden geen röntgenologische afwijkingen van de dunne darm, geen klachten na melkgebruik en een normale LTT. Bij alle proefpersonen en controlepatienten toonde het stereomicroscopische beeld van het jejunumbiopt slanke vingervormige villi afgewisseld met wat bladvormige villi. Bij 8 proefpersonen varieerde de lactase-activiteit van 1,3 tot 3,4 en bedroeg bij 1 proefpersoon 0,6  $\mu\text{mol E/g}$  nat gewicht. Het gemiddelde van de 9 proefpersonen was  $1,79 \pm 0,84$  SD. Bij de 15 controlepatienten varieerde de lactase-activiteit van 0,7 tot 4,9  $\mu\text{mol E/g}$  nat gewicht (gemiddeld  $1,77 \pm 1,16$  SD). De waarde van de lactase-activiteit bij proefpersonen en controlepatienten verschilde volgens de tweezijdige toets van Wilcoxon niet systematisch van elkaar (overschrijdingskans >30%). Daarom werden proefpersonen en controlepatienten samen genomen als 24 normalen. De gemiddelde lactase-activiteit van deze 24 normalen was  $1,78 \pm 1,0$  SD  $\mu\text{mol E/g}$  nat gewicht. Door de grote SD was het niet mogelijk een bruikbaar voorspellingsinterval op te stellen voor de waarde van de lactase-activiteit bij een toekomstige normale. Wel werd met behulp van discriminant analyse nagegaan wat de waarde van de lactase-activiteit is waarbij of waaronder een toekomstige waarneming, die op eenzelfde wijze verkregen is als hiervoor beschreven, minstens 75% kans heeft om te behoren tot de groep van patienten

met een lactasedeficientie. Deze waarde was 0,6  $\mu\text{mol E/g}$  nat gewicht. Eveneens werd de waarde bepaald waarbij of waarboven een toekomstige waarneming minstens 75% kans heeft om te behoren tot de groep van personen zonder lactasedeficientie. Deze waarde was 1,2  $\mu\text{mol E/g}$  nat gewicht. Tussen deze grenzen doen wij geen uitspraak.

Op grond van de lactasebepaling alléén kon derhalve niet met zekerheid tot lactasedeficientie besloten worden. Als echter patiënten met lactose-intolerantie, een gestoorde LTT, een normaal röntgenonderzoek van de dunne darm en een morfologisch normaal jejunumbiopt een lactase-activiteit van minder dan 1,2  $\mu\text{mol E/g}$  nat gewicht hadden, werden deze aangeduid als patiënten met primaire lactasedeficientie.

### 3.7.3 De Schillingtest

De vitamine B<sub>12</sub> absorptie werd onderzocht volgens Schilling (1953). Oraal werd 0,5  $\mu\text{Ci}$  <sup>57</sup>Co-vitamine B<sub>12</sub> toegediend en tegelijk 1 mg vitamine B<sub>12</sub> i.m. gespoten. De radio-activiteit uitgescheiden in de urine gedurende de daaropvolgende 48 uren varieerde bij 28 proefpersonen van 15-35% van de toegediende dosis (Cluysenaer, 1977).

### 3.7.4 De <sup>14</sup>C-glycinecholzuur ademtest

De <sup>14</sup>C-glycinecholzuur ademtest werd uitgevoerd volgens het principe, beschreven door Fromm en Hofmann (1971). De praktische uitvoering kwam overeen met die van Hörchner e.a. (1972). Aan de nuchtere patient werd 4-5  $\mu\text{Ci}$  <sup>14</sup>C-glycinecholzuur toegediend. Dit werd toegevoegd aan een maaltijd bestaande uit 35 g gedehydrerde glucose, 30 g magere melkpoeder, 15 g maisolie en 200 ml water. Uitademingslucht werd verkregen door de patient te laten blazen door een buisje met CaSO<sub>4</sub> om H<sub>2</sub>O te absorberen. Daarna werd de uitademingslucht geleid door een flesje met 2 ml 1N hyamine en 2 ml ethanol, waaraan thymolphthaleine was toegevoegd als indicator. De patient blies totdat de indicator een kleuromslag toonde van blauw naar kleurloos, hetgeen meestal na 3-4 minuten het geval was. Op deze wijze werden monsters van de uitademingslucht verzameld bij de nuchtere patient, elk uur gedurende

8 uur en tenslotte 10 uur na toediening van het proefmaal. De patiënten waren ambulante en kregen normale maaltijden 4 en 8 uur na het begin van het onderzoek. Met een vloeistofscintillatieteller werd de radio-activiteit van elk flesje bepaald en uitgedrukt als percentage van de dosis toegediende radio-activiteit per mmol uitgeademde CO<sub>2</sub>. Op basis van gegevens van Hörchner e.a. (1972) en de Groot e.a. (1976) werd zonder correctie voor de endogene CO<sub>2</sub>-productie als bovengrens van normaal voor alle waarden tijdens de <sup>14</sup>C-glycinecholzuur ademtest aangehouden 1,5 x 10<sup>-3</sup> van de toegediende dosis <sup>14</sup>C per mmol CO<sub>2</sub>.

### 3.7.5 De indicanexcretie in de urine

Indican in de urine werd bepaald volgens Müting en Burgard (1965). Door 33 proefpersonen werd 180-480 µmol indican per 24 uur uitgescheiden (Cluysenaer, 1977).

### 3.7.6 Bacteriologisch onderzoek van jejunumvocht

Darmvocht voor bacteriologisch onderzoek werd verkregen na intubatie met een steriel slangetje dat aan het uiteinde verzwaard was met een kwikzakje. De proefpersonen of patiënten waren steeds nuchter. Tijdens de introductie werd door het slangetje, waar doorheen darmvocht zou worden opgezogen, langzaam steriel fysiologisch zout geïnfundeerd totdat de slang in maag of duodenum lag. Daarna werd deze onder röntgenologische controle opgevoerd tot 10 à 15 cm voorbij het ligament van Treitz. Darmvocht werd opgezogen in een steriele plastic spuit, zonodig ontlucht en vervolgens luchtdicht afgesloten. Een transportmedium werd niet gebruikt. Binnen 10 minuten werd het materiaal, via een sluis, in een kast met een zuurstofvrije atmosfeer gebracht. Met rubber handschoenen, bevestigd aan een doorzichtige wand, kon in de kast gewerkt worden. De kast werd voortdurend doorstroomd met een gasmengsel van 5% CO<sub>2</sub>, 10% H<sub>2</sub> en 85% N<sub>2</sub>. Dit gasmengsel bevatte minder dan 100 ppm O<sub>2</sub>. Met een paladiumkatalysator werden eventuele sporen O<sub>2</sub> weggevangen. Redox-indicatoren (resazurine en indigokarmijn) dienden als controle op de redoxpotentiaal.

Van het darmvocht werd in deze kast een verdunningsreeks gemaakt. Hiermee werden 1-2 dagen tevoren vers aangemaakte niet-

selectieve voedingsbodems beënt. Het medium van de voedingsbodems bestond uit een combinatie van bloed, agar, Brain Heart Infusion, broth, gistextract en cysteine. Het cysteine dient om de redox-potentiaal te verlagen. De beente bodems werden geïncubeerd bij 35°C in een stoofje dat zich in de anaerobe kast bevond. Ook werden na het maken van een verdunningsreeks aerobe kweken ingezet.

Na 48 uur werden de kweken afgelezen. Uit het aantal kolonies in de verschillende verdunningen werd het aantal bacteriën per ml jejunumvocht berekend. Dit werd aangeduid als het aantal vitale anaerobe resp. aerobe bacteriën. Onder de anaerobe bacteriën vallen zowel de strikt anaerobe als de facultatief anaerobe bacteriën. De verschillende kolonies die in het anaerobe milieu waren gekweekt, werden vervolgens overgeënt op gewone bloedplaten en zowel anaeroob als aeroob geïncubeerd bij 35-37°C. Kolonies die onder anaerobe omstandigheden wel groeiden, echter niet onder aerobe, werden aangeduid als strikt anaerobe bacteriën. Deze laatste werden nader geïdentificeerd op basis van een reeks biochemische reacties (API-systeem) en de morfologie na Gramkleuring. Het bacteriologisch onderzoek werd verricht op de afd. medische microbiologie o.l.v. Dr.G. van der Ploeg.

Teneinde een indruk te krijgen van de bacterieflora die onder normale omstandigheden in jejunumvocht aanwezig is, werden 10 proefpersonen onderzocht in de leeftijd van 18-23 jaar. Nadat hun de procedure was uitgelegd, gaven zij er hun toestemming voor. Zij hadden geen maag-darmklachten en hadden evenmin buikoperaties ondergaan. Zij gebruikten geen medicamenten of hadden deze minstens 10 dagen voor het onderzoek gestaakt. Het aantal vitale anaerobe bacteriën varieerde bij 9 proefpersonen van  $3 \times 10^2$  tot  $8 \times 10^5$  bacteriën per ml darmvocht. Bij 1 proefpersoon werden  $2 \times 10^6$  bact/ml gekweekt. Op grond van deze gegevens werd als voorlopige bovengrens van normaal aangehouden:  $10^6$  anaerobe bacteriën per ml jejunumvocht. Bij concentraties van meer dan  $10^6$  anaerobe bacteriën per ml werd van bacteriele overgroei gesproken (voorlopig criterium).

### 3.8 Ontwikkeling en toepassing van een nieuw apparaat om de H<sub>2</sub>-ademtest uit te voeren

Er bestond ons inziens behoefte aan een eenvoudiger en doelmatiger methode om de  $H_2$ -excretie in uitademingslucht te meten, zodat de  $H_2$ -ademtest meer algemeen zou kunnen worden toegepast in de praktijk. De betekenis van deze test is immers aanzienlijk, zoals in de volgende hoofdstukken zal worden toegelicht. In vergelijking met andere proeven om stoornissen in de koolhydraatvertering en absorptie te meten is de belasting voor de patient zeer gering.

De beschreven single breath methode (zie 3.2.2) voldoet aan het criterium van eenvoud en voldoende betrouwbaarheid wat betreft het verkrijgen van monsters van de uitademingslucht. Echter een gaschromatograaf voor de analyse van de ademmonsters is een vrij kostbaar instrument en niet algemeen beschikbaar. Daarom werd door Ir. J.P. van Oeveren van de Instrumentele Dienst van het St. Radboud Ziekenhuis te Nijmegen in nauw overleg met ons een geheel nieuw apparaat ontwikkeld waarmee op eenvoudige wijze ademmonsters verkregen worden en waarbij de analyse in hetzelfde apparaat aansluitend binnen 2 minuten plaatsvindt. Dit nieuwe apparaat duiden wij verder aan als het  $H_2$ -ademtest apparaat. Met dit apparaat werden ademmonsters verkregen volgens een single breath methode door de patient direct in het apparaat te laten uitblazen, waarna met een voor  $H_2$  gevoelige detector de  $H_2$ -concentratie in de eind-expiratoire lucht wordt gemeten. Deze concentratie wordt in de vorm van een piek door een schrijver geregistreerd. Het principe van het nieuwe apparaat is weergegeven in figuur 12. Door een luchtpomp wordt voortdurend kamerlucht, na de droogtoren met silicagelkorrels gepasseerd te zijn, door de kraan en de sampleloop heen geblazen en vandaar door kanaal A langs de detector gevoerd. Het ademmonster van de patient wordt verkregen doordat de patient bij opening B een slangetje in het apparaat steekt. Dit is alleen mogelijk als de patient eerst met een handle die met de kraan is verbonden, de kraan in een andere stand draait, omdat pas dan opening B vrijkomt. Door dit omdraaien van de kraan wordt de uitgeblazen lucht van de patient door de sample loop geleid om vervolgens bij opening C deze weer te verlaten. Inmiddels blijft de stroom van kamerlucht langs de detector gehandhaafd via een apart kanaaltje in de kraan. Als aan



## H<sub>2</sub>-ademtest-apparaat

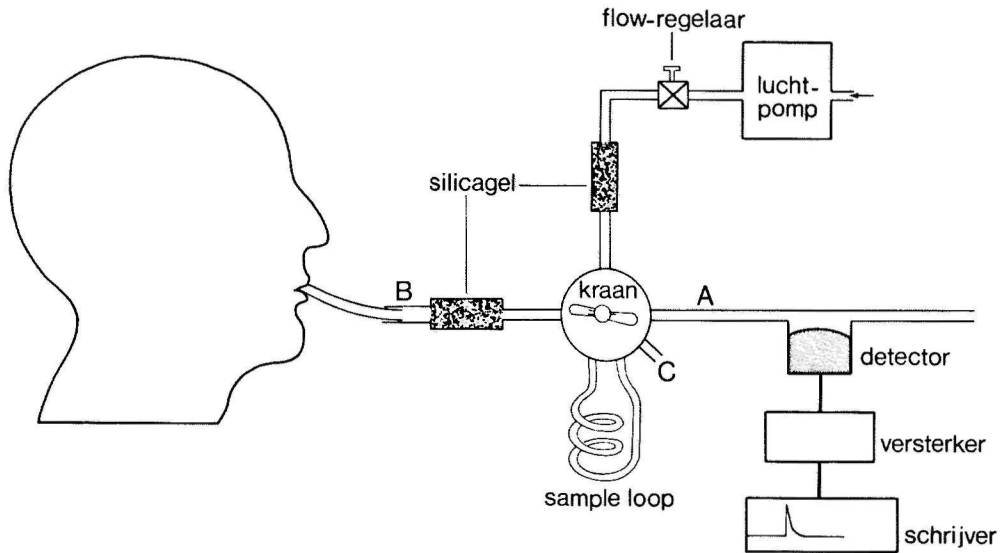


Fig 12 PRINCIPE VAN HET H<sub>2</sub>-ADEMTEST APPARAAT. DE LUCHTPOMP ZORGT VOOR EEN CONSTATE LUCHTSTROOM VIA KANAAL A LANGS DE DETECTOR. DE PATIENT BLAAST VIA EEN SLANGETJE, DAT IN OPENING B VAN HET APPARAAT WORDT GESTOKEN DIRECT IN HET APPARAAT. DOOR HET INSTEKEN VAN DE SLANG IN OPENING B WORDT DE KRAAN IN DE STAND GEZET WAARBIJ DE UITGEBLAZEN LUCHT DOOR DE SAMPLE LOOP STROOMT EN BIJ C DEZE WEER VERLAAT. AAN HET EIND VAN DE EXPIRATIE GAAT DE KRAAN AUTOMATISCH IN DE UITGANGSSTAND TERUG WANNEER DE PATIENT HET SLANGETJE UIT HET APPARAAT HEEFT GETROKKEN. HET LAATSTE DEEL VAN DE UITADEMINGSLUCHT, DAT ZICH IN DE SAMPLE LOOP BEVINDT, WORDT DAN MET DE LUCHTSTROOM UIT DE LUCHTPOMP VIA BUIS A LANGS DE DETECTOR GEVOERD. DEZE MEET DE H<sub>2</sub>-CONCENTRATIE EN GEEFT DEZE OP DE SCHRIJVER WEER IN DE VORM VAN EEN PIEK.

het eind van de expiratie de patient het slangetje weer uit opening B terugtrekt, draait de kraan automatisch terug in de oorspronkelijke stand, waardoor de stroom van de kamerlucht weer door de sample loop gaat, zodat de eindexpiratoire lucht die door de patient daarin geblazen is, wordt meegevoerd langs de detector. Deze meet de  $H_2$ -concentratie in het ademmonster en geeft een elektrisch signaal na versterking door aan een schrijver. Zo wordt binnen 2 minuten na het inblazen een piek door de schrijver geregistreerd, waarvan de hoogte een maat is voor de  $H_2$ -concentratie in de eindexpiratoire lucht van de patient. Aangezien de ademmonsters niet bewaard en getransporteerd hoeven te worden, kan hierdoor geen verlies van  $H_2$  uit het ademmonster plaatsvinden. Na ijking van het apparaat met gasmengsels van een bekende  $H_2$ -concentratie, kan op de ijkcurve uit de piekhoogte de  $H_2$ -concentratie worden afgelezen.

Een foto van het prototype van het  $H_2$ -ademtest apparaat toont figuur 13. De patient hoeft alleen maar de handle om te draaien, de slang in de opening te steken, die vrijkomt door het omdraaien van de handle, één lange expiratie in het apparaat te blazen en daarna het slangetje weer uit het apparaat te trekken. Voor kinderen vanaf de leeftijd van 6 jaar is het directe inblazen zonder problemen mogelijk. Voor kleinere kinderen en babies kan gemengde uitademingslucht (Douwes en Fernandes, 1978) of eindexpiratoire lucht (Maffei e.a., 1976) met behulp van een aangepaste techniek apart verkregen worden, waarna het ademmonster door de inblaasopening in het  $H_2$ -ademtest apparaat kan worden geblazen.

De detector is een commercieel verkrijgbare halfgeleider welke specifiek gevoelig is voor reducerende gassen, in het bijzonder  $H_2$  (Kirmaier en Reis, 1977). Deze gassen veranderen de weerstand van het halfgeleidermateriaal. Hierdoor ontstaat een elektrisch signaal dat na versterking wordt overgebracht op een schrijver. De basislijn van de schrijver vertoont vrijwel geen ruis ( 1 mm). Wordt een gasmengsel dat  $H_2$  bevat op de beschreven wijze in het apparaat geblazen, dan ontstaat op de basislijn binnen 2 minuten een piek, waarvan de hoogte een maat is voor de  $H_2$ -concentratie in het gasmengsel. Door ijking met gasmengsels

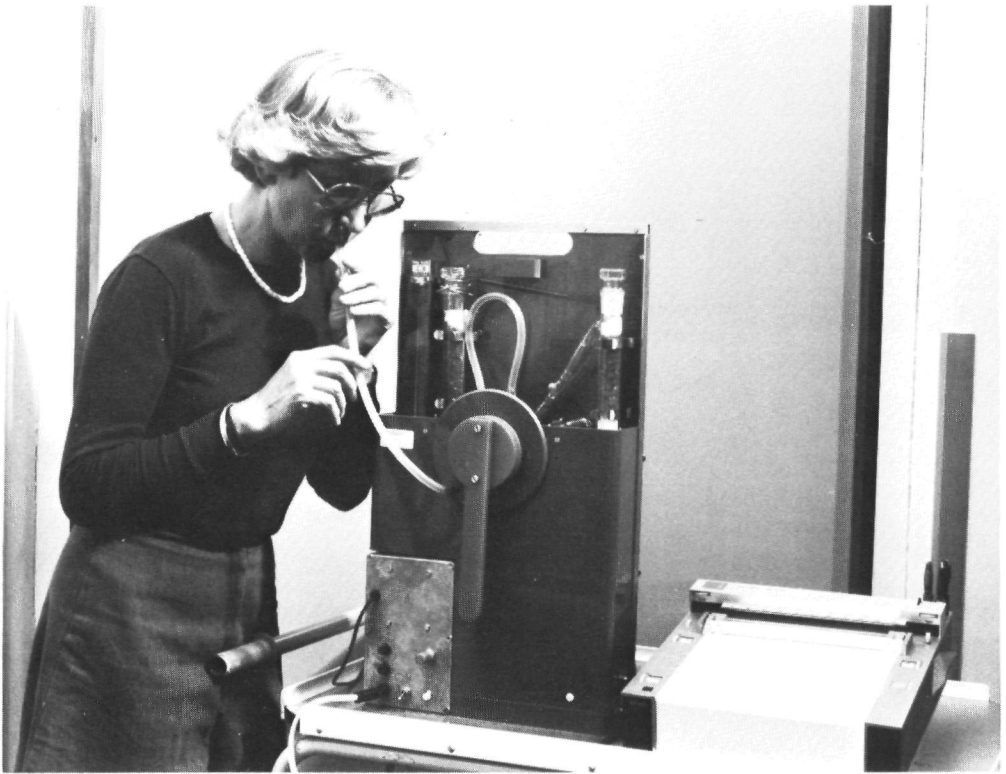


Fig 13 HET PROTOTYPE VAN HET H<sub>2</sub>-ADEMTEST APPARAAT. DE PATIENTE BLAAST VIA EEN SLANGETJE IN HET APPARAAT NADAT ZIJ EERST DE HANDLE, WAARMEE DE KRAAN BEWOGEN WORDT, IN DE JUISTE STAND HEEFT GEZET. DOOR HET OMDRAAIEN VAN DE HANDLE KOMT OOK DE OPENING VRIJ, WAARIN DE SLANG WORDT GESTOKEN. AAN HET EIND VAN DE EXPIRATIE TREKT DE PATIENTE HET SLANGETJE UIT HET APPARAAT, WAARDOOR DE HANDLE -EN DAARMEE DE KRAAN-VANZELF IN DE UITGANGSSTAND TERUGKOMT. BINNEN 2 MINUTEN VERSCHIJNT EEN PIEK, DIE DE H<sub>2</sub>-CONCENTRATIE AANGEeft, OP DE RECHTS VAN HET APPARAAT ZICHTBARE SCHRIJVER.

van bekende H<sub>2</sub>-concentratie werd een ijkcurve gemaakt, waarin de piekhoogte is uitgezet tegen de H<sub>2</sub>-concentratie (figuur 14). Inmiddels is ook een handelsuitvoering van het H<sub>2</sub>-ademtest apparaat beschikbaar (Hoogstraat Medische Techniek N.V. - Kampen).

Het beschreven detectiesysteem werd onderzocht op zijn bruikbaarheid om H<sub>2</sub> in uitademingslucht te bepalen. Het bleek H<sub>2</sub> zeer gevoelig en selectief aan te tonen in uitademingslucht. De laagste concentratie H<sub>2</sub> die aangetoond kon worden was 3 ppm. De reproduceerbaarheid van de bepaling werd nagegaan door enkele gasmengsels 10 maal na elkaar te analyseren. De resultaten hiervan toont tabel 11.

Tabel 11 REPRODUCEERBAARHEID VAN DE ANALYSE VAN 2 GASMENGSELS. BEIDE WERDEN 10 MAAL GEANALYSEERD. UIT HET GEMIDDELDE EN DE SD WERD DE VARIATIECOEFFICIENT BEREKEND.

H <sub>2</sub> -concentratie (ppm)	variatiecoefficient (%)
225	2
98	1

Verschillende gasmengsels werden onderzocht om vast te stellen hoe het detectiesysteem hierop zou reageren. Kamerlucht alléén of kamerlucht met 6% CO<sub>2</sub> of 100 ppm CH<sub>4</sub> gaven geen verandering van de basislijn. Met 1000 ppm CH<sub>4</sub> ontstond wel een piek. In uitademingslucht is de CH<sub>4</sub>-concentratie echter steeds lager dan 100 ppm (Bond e.a., 1971). Tabaksrook gaf evenals een gasmengsel met 0,1% CO wel een piek. Als een proefpersoon rookte, werd de piek van de H<sub>2</sub>-excretie hoger dan vóór het roken, maar 15 minuten na het roken was geen effect meer aantoonbaar. Om deze reden werd aan patienten vanaf 1 uur vóór tot na de H<sub>2</sub>-ademtest het roken verboden.

Om de ijking tijdens elke ademtest te controleren en eventueel bij te stellen, werd een voorziening aangebouwd waarin H<sub>2</sub> wordt gegenereerd door electrolyse van water volgens de reactie:



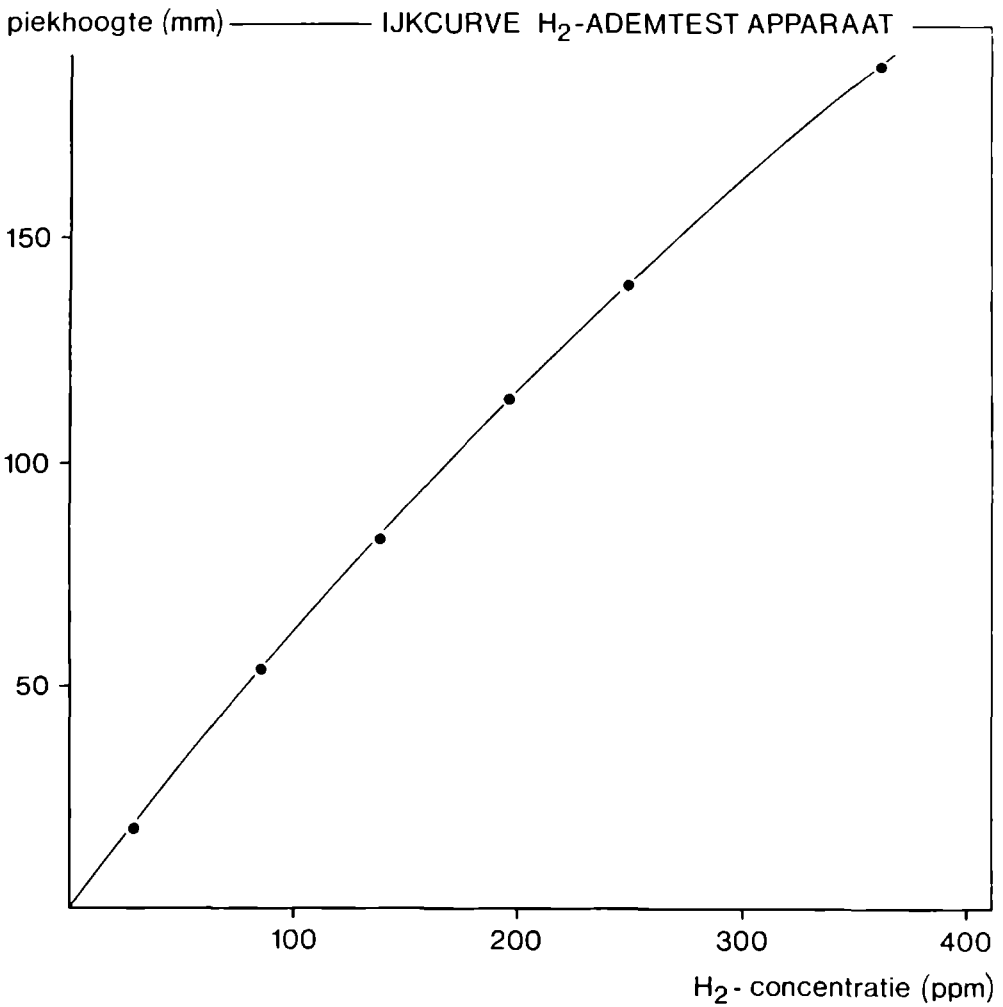


Fig 14 IJKCURVE VAN HET H<sub>2</sub>-ADEMTEST APPARAAT, VERKREGEN MET BEHULP VAN GASMENGSELS MET EEN BEKENDE H<sub>2</sub>-CONCENTRATIE. DE CURVE IS NIET GEHEEL LINEAIR.

Een schema van dit electrolyse-apparaat is afgebeeld in figuur 15.

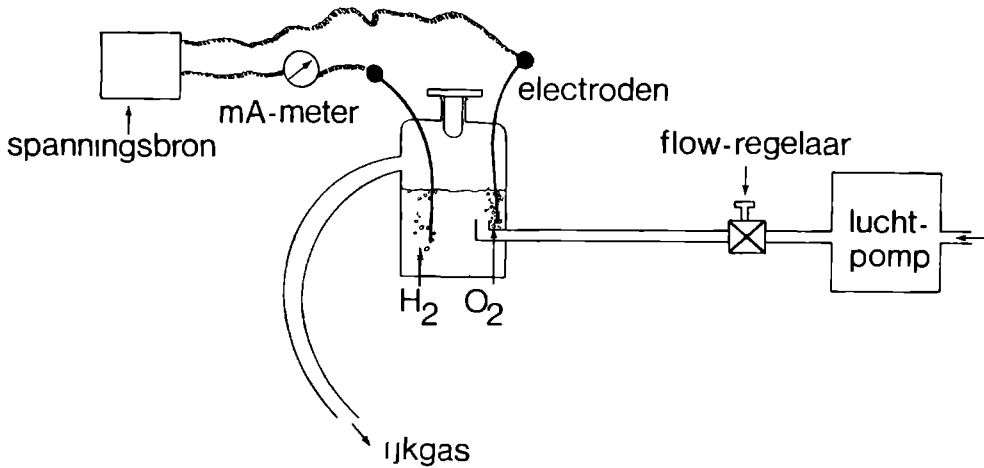


Fig 15 SCHEMA VAN HET ELECTROLYSE-APPARAAT. DOOR ELECTROLYSE VAN WATER WORDT H<sub>2</sub> GEGENEREERD, DAT DOOR EEN CONSTANTE LUCHTSTROOM DIE DOOR HET FLESJE BORRELT WORDT MEEGEVOERD. ALDUS ONTSTAAT EEN IJKGAS, WAARVAN DE H<sub>2</sub>-CONCENTRATIE KAN GEVARIËERD WORDEN DOOR DE SPANNING OP DE ELECTRODEN TE VERANDEREN.

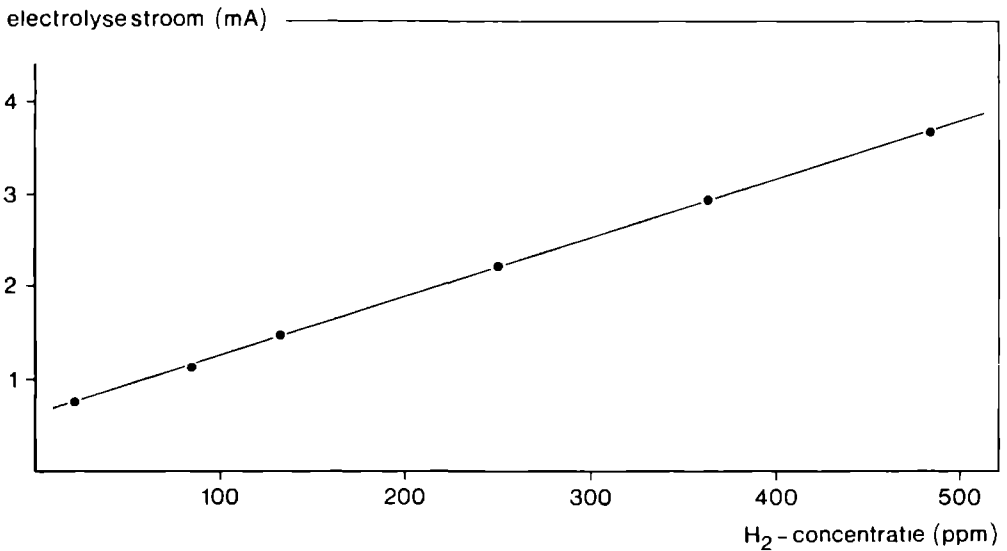


Fig 16 HET VERBAND TUSSEN DE H<sub>2</sub>-CONCENTRATIE IN HET IJKGAS VAN HET ELECTROLYSE-APPARAAT EN DE ELECTROLYSESTROOM DIE OP DE mA-METER VAN HET APPARAAT AFGELEZEN KAN WORDEN. HET VERBAND IS LINEAIR. DE AANGEGEVEN H<sub>2</sub>-CONCENTRATIES WERDEN GASCHROMATOGRAPHISCH GEMETEN.

De  $H_2$  die ontstaat op de electrode, wordt met een constante luchtstroom die door het flesje wordt geleid meegevoerd. Omdat het electrolyse-apparaat is aangebouwd aan het  $H_2$ -ademtest apparaat, kan met één luchtpomp volstaan worden. Door de spanning op de elektroden te variëren, verandert de electrolysestroom en tevens de  $H_2$ -ontwikkeling. De electrolysestroom kan worden afgelezen op een mA-meter. Er bestaat een vast fysisch verband tussen de uitslag op de mA-meter (die de electrolysestroom meet) en de hoeveelheid  $H_2$  die gegenereerd wordt. De  $H_2$ -concentratie in het gasmengsel dat uit het electrolyseflesje stroomt volgt uit:

$$H_2\text{-concentratie} = k \times i$$

Hierin is  $i$  de electrolysestroom welke wordt afgelezen op de mA-meter en  $k$  een constante die bij het apparaat hoort en alleen afhangt van de luchtstroom door het flesje. Het verband tussen de  $H_2$ -concentratie in ppm en de electrolysestroom in mA is lineair, zoals weergegeven in figuur 16.

De combinatie van  $H_2$ -ademtest apparaat met electrolyse-apparaat heeft nog als voordeel dat zonodig een nieuwe ijklijn, zoals die in figuur 14, op eenvoudige wijze gemaakt kan worden. Met het electrolyse-apparaat kan nl. elke gewenste  $H_2$ -concentratie tussen 0 en 500 ppm geleverd worden. Als nu het meetbereik, van het  $H_2$ -ademtest apparaat veranderd moet worden, kan de nieuwe ijking die dan nodig is gebeuren met de gasmengsels uit het electrolyse-apparaat.

Door het nemen van duplo-ademmonsters met het  $H_2$ -ademtest apparaat tijdens 6  $H_2$ -ademtesten, werd de reproduceerbaarheid van het verkrijgen van ademmonsters en het meten van de  $H_2$ -concentratie hiervan, nagegaan. Omdat na de  $H_2$ -piek van een monster 6 minuten moest worden gewacht voordat de schrijver weer op zijn basislijn terug is, werd telkens de eerste waarneming vergeleken met door lineaire interpolatie gevonden punten op de grafiek van de tweede waarneming van de duplo's. Analoog aan tabel 3 en 5 werd in tabel 12 de gemiddelde duplo-SD en de gemiddelde variatiecoëfficiënt van elk van de 6 ademtesten berekend.

Met het nieuwe apparaat bleek de gemiddelde duplo-SD groter

te zijn dan met de single breath methode, terwijl de variatie-coëfficiënten vergelijkbaar waren. Vergeleken met de rebreathing methode (tabel 3) was de reproduceerbaarheid van de duplo's duidelijk minder. Dit hangt samen met het feit dat ook bij gebruik van het H<sub>2</sub>-ademtest apparaat een single breath methode wordt toegepast om uitademingslucht te verkrijgen.

Tabel 12 REPRODUCEERBAARHEID VAN HET NEMEN VAN ADEMMONSTERS EN METEN VAN DE H<sub>2</sub>-CONCENTRATIE MET HET H<sub>2</sub>-ADEMTEST APPARAAT. TIJDENS 6 H<sub>2</sub>-ADEMTESTEN WERDEN TELKENS DUPLO-ADEMMONSTERS GENOMEN.

H <sub>2</sub> -ademtest	H <sub>2</sub> -concentratie min. en max. (ppm)	gem. duplo-SD (ppm)	gem. variatie- coëfficiënt (%)
1	0 - 320	11,7	14,6
2	7 - 260	43,8	22,1
3	7 - 227	54,1	26,3
4	38 - 146	14,9	10,8
5	3 - 136	9,4	17,6
6	0 - 48	4,7	13,1
gemiddeld	0 - 320	23,1 ± 20,5 SD	17,4 ± 5,8 SD

Wij hebben het H<sub>2</sub>-ademtest apparaat op zijn bruikbaarheid onderzocht door het te vergelijken met beide eerder beschreven methoden (3.2.1 en 3.2.2). Figuur 17 toont een voorbeeld van een H<sub>2</sub>-ademtest welke simultaan met de 2 andere methoden werd uitgevoerd. Bij alle drie is een duidelijke H<sub>2</sub>-excretie te zien en de curves hebben een vergelijkbare vorm.

De H<sub>2</sub>-excretie werd 49 maal simultaan met het H<sub>2</sub>-ademtest apparaat en met de rebreathing methode met gaschromatografische analyse bepaald. Op basis van de uitkomsten van de rebreathing methode werden de 49 testen ingedeeld in positieve en negatieve. Hierna werden de positieve en de negatieve groep beoordeeld met de criteria van het H<sub>2</sub>-ademtest apparaat. De criteria zijn



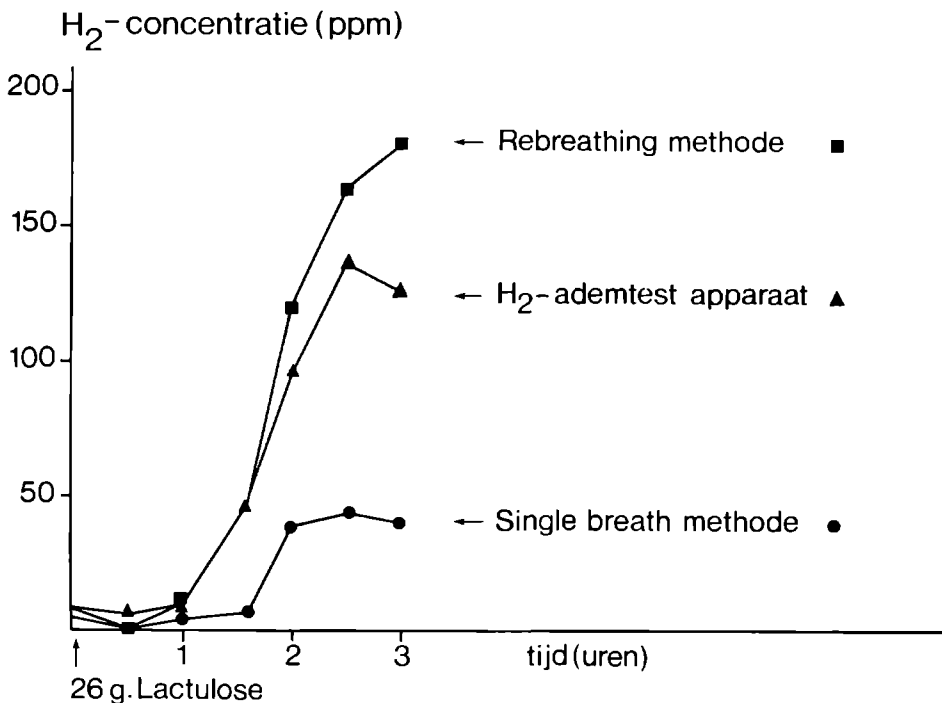


Fig 17 BIJ EEN PROEFPERSOON WERD EEN H<sub>2</sub>-ADEMTEST SIMULTAAN MET DE 3 AANGEGEVEN METHODEN UITGEVOERD. DE H<sub>2</sub>-CONCENTRATIE STIJGT BIJ ELK VAN DE 3 METHODEN IN VERSCHILLENDE MATE, MAAR DE VORM VAN DE CURVE IS BIJ ALLE 3 VERGELIJKBAAR.

vermeld in 4.3 en 5.3.1. Tabel 13 toont dat de beoordeling in alle gevallen gelijk was.

De vorm van de H<sub>2</sub>-curve bij beide methoden werd onderling vergeleken in de groep van 25 positieve testen. Om de relatie tussen paren van H<sub>2</sub>-excretie op eenzelfde tijdstip bepaald met elk van beide methoden te karakteriseren, werd de correlatie-coëfficiënt volgens Pearson uitgerekend en de overschrijdingskans p berekend. De resultaten zijn samengevat in tabel 14.

Tabel 13 VERGELIJKING VAN DE KWALITATIEVE BEOORDELING VAN 49 H<sub>2</sub>-ADEMTESTEN WELKE SIMULTAAN WERDEN UITGEVOERD MET DE RE-BREATHING METHODE EN MET HET H<sub>2</sub>-ADEMTEST APPARAAT. DE BEOORDELING WAS IN ALLE GEVALLEN GELIJKLUIDEND.

rebreathing	H <sub>2</sub> -ademtest apparaat
25 pos.	25 pos.
24 neg.	24 neg.

Tabel 14 VERGELIJKING VAN DE H<sub>2</sub>-CURVES VAN 25 POSITIEVE H<sub>2</sub>-ADEMTESTEN, WELKE SIMULTAAN WERDEN UITGEVOERD MET DE REBREATHING METHODE EN MET HET H<sub>2</sub>-ADEMTEST APPARAAT.

aantal testen	correlatiecoëfficiënt volgens Pearson	p
25	0,78 - 0,99	<0,05 - <0,001

Bij 6 proefpersonen van de 7 die in tabel 8 zijn weergegeven werd de H<sub>2</sub>-excretie na 26 g lactulose, behalve met de re-breathing methode en de single breath methode, bovendien nog simultaan met het H<sub>2</sub>-ademtest apparaat uitgevoerd. De maximale stijging van de H<sub>2</sub>-excretie ten opzichte van de nuchtere waarde bij de rebreathing methode en met het H<sub>2</sub>-ademtest apparaat is weergegeven in tabel 15. Tevens werden gemiddelde, SD en variatiecoëfficiënt van alle 6 proefpersonen berekend.

Uit tabel 8 en 15 blijkt dat de maximale H<sub>2</sub>-excretie bepaald met de rebreathing methode bij de 6 proefpersonen onderling het minst verschilde, terwijl met de single breath methode de grootste verschillen werden gezien. De uitkomsten verkregen met het H<sub>2</sub>-ademtest apparaat lagen hier tussenin.

Op analoge wijze als in figuur 9, wordt in figuur 18 per ademtest de regressielijn van de H<sub>2</sub>-concentratie, gemeten volgens de rebreathing methode, op de H<sub>2</sub>-concentratie gemeten het H<sub>2</sub>-ademtest apparaat, weergegeven bij 6 proefpersonen. Deze 6 waren

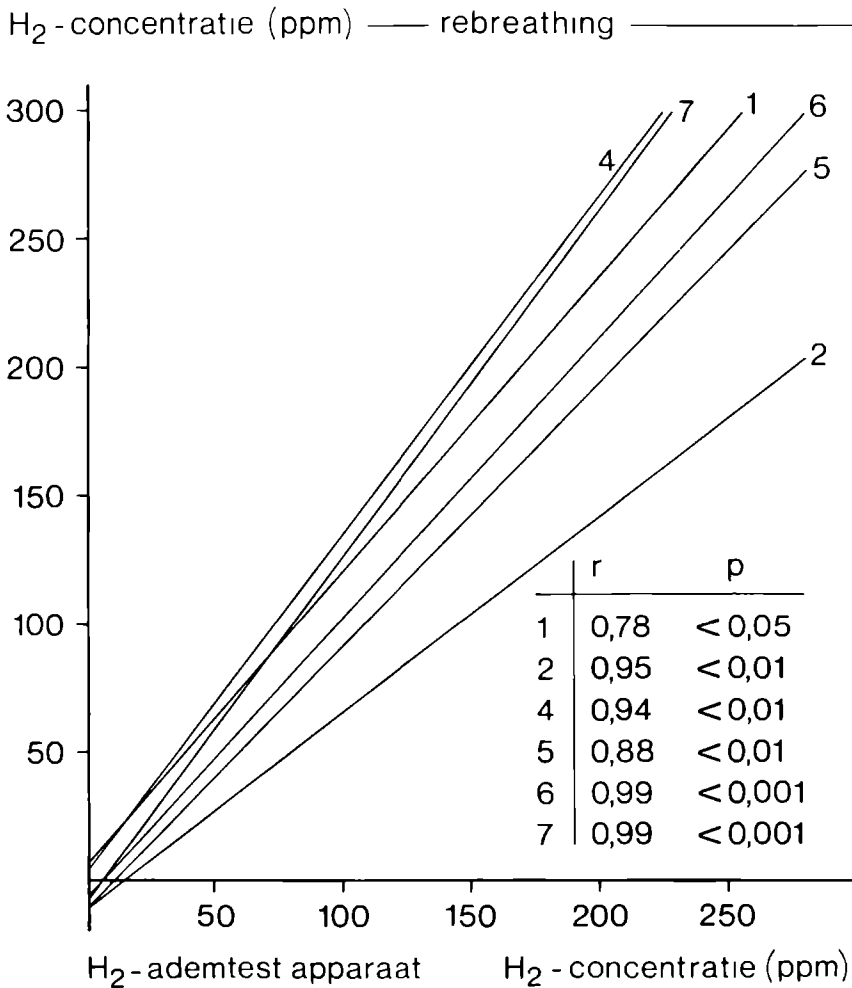


Fig 18 REGRESSIELIJNEN VAN DE H<sub>2</sub>-CONCENTRATIE GEMETEN MET DE REBREATHING METHODE OP DE H<sub>2</sub>-CONCENTRATIE GEMETEN MET HET H<sub>2</sub>-ADEMTEST APPARAAT TIJDENS EEN LACTULOSE-H<sub>2</sub>-ADEMTEST BIJ 6 PROEFPERSONEN. PER H<sub>2</sub>-ADEMTEST IS DE CORRELATIE-COEFFICIENT (r) EN DE OVSCHRIJDINGSKANS (p) AANGEGEVEN.

dezelfde als die in tabel 15 genoemd werden.

Tabel 15 VERGELIJKING TUSSEN DE MAXIMALE H<sub>2</sub>-EXCRETIE GEMETEN MET HET H<sub>2</sub>-ADEMTEST APPARAAT EN DIE GEMETEN MET DE REBREATHING METHODE TIJDENS EEN LACTULOSE H<sub>2</sub>-ADEMTEST BIJ 6 PPOEF-PERSONEN

proefpersoon	max. H <sub>2</sub> -excretie H <sub>2</sub> -ademtest apparaat (ppm)	max. H <sub>2</sub> -excretie rebreathing methode (ppm)
1	126	176
2	68	172
3	148	164
4	153	169
5	159	218
7	350	283
gemiddelde	167	197
SD	95	46
var. coefficient	57%	24%

Behalve de 49 ademtesten die in tabel 13 zijn genoemd, werden nog 31 andere testen met het H<sub>2</sub>-ademtest apparaat uitgevoerd simultaan met de single breath methode. In alle gevallen op 3 na kwam de beoordeling positief of negatief bij beide methoden overeen. In totaal was dus bij 77 ademtesten met het nieuwe apparaat de kwalitatieve beoordeling van de test gelijk aan die met de re-breathing of single breath methode.

### 3.9 Gebruikte statistische methoden

De variatiecoëfficiënt werd berekend volgens:

$$\text{variatiecoëfficiënt} = \frac{\text{SD}}{\text{gemiddelde}} \times 100\%$$

De gemiddelde duplo-SD werd berekend volgens:

$$\text{gemiddelde duplo-SD} = \sqrt{\frac{\sum V_i^2}{2n}}$$

Hierin is  $V_i$  het verschil tussen de duplo's en  $n$  het aantal duplo's.

De relatie tussen paren variabelen werd gekarakteriseerd met de correlatiecoëfficiënt volgens Pearson. Tevens werd vermeld de overschrijdingskans  $p$  behorende bij de toets op de hypothese  $\rho = 0$ .

Voor het vergelijken van twee steekproeven werd een verdelingsvrije toets toegepast nl. de toets van Wilcoxon.

Aan de hand van waarnemingen bij proefpersoenen (gezonde vrijwilligers) werden eenzijdige voorspellingsintervallen voor een toekomstige waarneming opgesteld voor de lactose- en de glucose- $H_2$ -ademtest (onder aanname dat de steekproeven trekkingen waren uit normale verdelingen). De toegepaste methode was de volgende. Bij een aselekte steekproef ter grootte  $n$  uit een normale verdeling met verwachting  $\mu$  en variantie  $\sigma^2$  ( $N(\mu, \sigma^2)$ ), worden steekproefgemiddelde  $\bar{x}$  en steekproefvariantie  $s^2$  bepaald. Dan geldt:

$$\bar{x} \sim N\left(\mu, \frac{\sigma^2}{n}\right)$$

Dit betekent:  $\bar{x}$  is normaal verdeeld met verwachting  $\mu$  en variantie  $\frac{\sigma^2}{n}$ . Als  $y$  een toekomstige waarneming uit  $N(\mu, \sigma^2)$  is, dus als  $y \sim N(\mu, \sigma^2)$ , dan geldt voor het verschil  $y - \bar{x}$ :

$$(y - \bar{x}) \sim N\left(0, \sigma^2\left(1 + \frac{1}{n}\right)\right).$$

$y$  heeft derhalve verwachting 0 en variantie  $\sigma^2\left(1 + \frac{1}{n}\right)$ . Wordt de steekproefstandaarddeviatie  $s$  als schatter voor de (populatie)-spreiding  $\sigma$  gebruikt, dan geldt bovendien dat

$$\frac{y - \bar{x}}{s \sqrt{1 + \frac{1}{n}}}$$

verdeeld is volgens Student's  $t$  met  $(n-1)$  vrijheidsgraden. Het

(eenzijdig) naar boven begrensde 99% - voorspellingsinterval voor  $y$  is dan:

$$y < \bar{x} + t_{n-1}^{0,99} \cdot s \cdot \sqrt{1 + \frac{1}{n}}.$$

Hierbij is  $t_{n-1}^{0,99}$  het (bovenste) 99% - punt van de t-verdeling met  $(n-1)$  vrijheidsgraden. De interpretatie hiervan luidt als volgt. Als het hele experiment alsmaar herhaald wordt (d.w.z. als een steekproef ter grootte  $n$  wordt genomen,  $\bar{x}$  en  $s$  en de "toekomstige" waarneming  $y$  wordt bepaald), dan zal in gemiddeld 99% van de gevallen de waarneming  $y$  inderdaad in het 99% - voorspellingsinterval liggen.

Voor de beoordeling van de zetmeel- $H_2$ -ademtest werd een verdelingsvrij tolerantie-interval\* opgesteld, waarbij werd aangenomen dat de discrete verdeling van de ppm-waarden voldoende kon worden benaderd door een continue verdeling. Een tolerantie-bovengrens is een (stochastische) grens, waaronder met zekere kans  $\gamma$  een bepaalde proportie  $\beta$  van de populatiedichtheid ligt. Bij continue verdelingen zijn deze grenzen orderstatistics. Van belang is in dit geval die grens waaronder minstens een proportie  $\beta$  ligt (met kans  $\gamma$ ). Theoretisch is de afleiding als volgt:

Gegeven: -steekproef  $x_1, x_2, \dots, x_n$  uit de continue cumulatieve verdelingsfunctie  $F$ .

-orderstatistics  $y_1, y_2, \dots, y_n$

Gevraagd: die  $y_i$  waarvoor geldt:

$$P(F(y_i) > \beta) = \gamma$$

Als nu  $z_i = F(y_i)$ , dan geldt:

$$f_{z_i}(z) = \frac{n!}{(i-1)!(n-i)!} z^{i-1} (1-z)^{n-i}$$

\* Mood AM, Graybill FA, Boes DC. Introduction to the theory of statistics, third edition, p 512-518, McGraw-Hill, Kogakusha Ltd, Tokyo, 1974.

Hierbij is  $0 < z < 1$

Tevens geldt dan:

$$P(\underline{z}_i, \leq u) = \sum_{j=i}^n \binom{n}{j} u^j (1-u)^{n-j}$$

Derhalve is van belang die  $\underline{y}_i$  waarvoor geldt:

$$P(F(\underline{y}_i) \geq \beta) = P(\underline{z}_i \geq \beta) = 1 - \sum_{j=i}^n \binom{n}{j} \beta^j (1-\beta)^{n-j} = \gamma \text{ (of } > \gamma)$$

Toegepast op 8 waarnemingen wordt gevonden:

$$P(F(\underline{y}_8) \geq 0,75) = 0,90$$

De interpretatie hiervan luidt als volgt. Bij herhaald uitvoeren van het experiment (het doen van 8 waarnemingen) zal in gemiddeld 9 van de 10 keer hoogstens 25% van de mogelijke normale waarden boven de grootste gevonden waarneming van de 8 liggen.

Aangezien het opstellen van een eenzijdig voorspellings-interval voor de lactase-activiteit door de grote spreiding in de steekproef geen bruikbaar resultaat opleverde, werd hiervoor met behulp van discriminant analyse de waarde berekend waaronder een waarneming minstens 75% kans heeft om te behoren tot de abnormale groep. Zo werd ook de waarde berekend, waarboven een waarneming moet liggen om met een kans van minstens 75% tot de normale groep te behoren. De methode en wijze van berekening was als volgt.

Gegeven zijn twee, theoretisch goed gescheiden populaties: patiënten met lactasedeficientie enerzijds en niet-lijdende aan lactasedeficientie anderzijds. Uit deze 2 populaties worden a-selecte steekproeven getrokken. Bij iedere persoon uit deze steekproeven wordt, op eenduidige manier, het lactasegehalte (van biopten) bepaald. Het doel van discriminantanalyse is om met behulp van de gevonden lactasewaarden tussen deze twee groepen te kunnen discrimineren, d.w.z. een scheidingscriterium voor de groepen te vinden. Aan de hand van dit criterium wordt dan een "onbekend" persoon, bij wie (op dezelfde manier als tevoren)

het lactasegehalte is bepaald, toegewezen aan de ene groep of aan de andere groep (dus al dan niet tot (mogelijke) patient verklaard).

Er zijn verschillende criteria mogelijk, bijvoorbeeld:

a) 50-50 criterium

Iedere "onbekende" wordt aan één van beide groepen toegewezen en wel die groep waarvoor zijn (a posteriori) kans om tot die groep te behoren het grootst is (dus groter dan 50%)

b) 75-25 criterium

Een "onbekende" wordt aan die groep toegewezen, waarvoor zijn (a posteriori) kans minstens 75% is (dus zijn kans om tot de andere groep te behoren is hoogstens 25%).

In dit geval ontstaat (meestal) een derde groep: de twijfelgroep. Deze groep bevat "onbekenden" die niet aan één van beide hoofdgroepen kunnen worden toegewezen omdat hun kansen daartoe te behoren kleiner dan 75% zijn. Over personen die in deze groep komen wordt derhalve geen uitspraak gedaan.

c) 90-10 criterium

Analoog aan b wordt een persoon pas aan een groep toegewezen als zijn kans daarop minstens 90% bedraagt. De twijfelgroep is in het algemeen groter dan bij het 75-25 criterium.

Om na te gaan hoe goed een criterium discrimineert worden ook de waarnemingen uit de oorspronkelijke 2 steekproeven (aan de hand waarvan het criterium is bepaald) geklassificeerd volgens dat criterium. Het aantal misclassificaties (evt. ook het aantal dat in de twijfelgroep terechtkomt) is dan een maat voor het discriminerend vermogen.

Uitvoering: gebruik werd gemaakt van het programmapakket ALLOC, ontwikkeld door de afdeling medische statistiek van de R.U. Leiden\*\*. Daarin werd één wijziging aangebracht: gebruik makend van het gegeven dat lactasewaarden niet negatief kunnen zijn werden de in ALLOC 3 geschatte kansdichtheden bij 0 naar beneden afgekappt.

Resultaten (voor de gegevens die bij de volgende berekening werden gebruikt zie 3.7.2):

\*\* Hermans J, Habbema JDF. Manual for the ALLOC discriminant analysis programs. Afdeling Medische Statistiek, R.U. Leiden, 1975.



Groep 1: niet-patienten (proefpersonen en controlepatienten te-  
samen) (totaal 24)

Groep 2: patienten met lactasedeficientie (totaal 14)

a) 50-50 criterium → wijs toe aan groep 1 als lactase  $\geq 1.0$   
wijs toe aan groep 2 als lactase  $\leq 0.9$

Classificatie van de oorspronkelijke 2 groepen levert:

		werkelijke groep	
		1	2
toegewezen	1	20 (83.3%)	1 ( 8.1%)
groep	2	4 (16.7%)	13 (92.9%)
		24 (100%)	14 (100%)

b) 75-25 criterium → wijs toe aan groep 1 als lactase  $\geq 1.2$   
wijs toe aan groep 2 als lactase  $\leq 0.6$   
twijfelgroep:  $0.7 \leq$  lactase  $\leq 1.1$

Classificatie van de oorspronkelijke 2 groepen levert:

		werkelijke groep	
		1	2
toegewezen	1	18 ( 75 %)	0 ( 0 %)
groep	2	1 ( 4.2%)	11 (78.6%)
twijfelgroep		5 (20.8%)	3 (21.4%)
		24 (100%)	14 (100%)

c) 90-10 criterium → wijs toe aan groep 1 als lactase  $\geq 1.4$   
wijs toe aan groep 2 als lactase  $\leq 0.2$   
twijfelgroep:  $0.3 \leq$  lactase  $\leq 1.3$

Classificatie van de oorspronkelijke 2 groepen:

		werkelijke groep	
		1	2
toegewezen	1	15 (62.5%)	0 ( 0%)
groep	2	0 ( 0%)	6 (42.9%)
twijfelgroep		9 (37.5%)	8 (57.1%)
		24 (100%)	14 (100%)

Besloten werd het 75-25 criterium toe te passen, aangezien hiermee de best bruikbare discriminatie werd verkregen.

DE H<sub>2</sub>-ADEMTEST VOOR HET AANTONEN VAN LACTOSEMALABSORPTIE4.1 Inleiding

Lactose wordt in de dunne darm gesplitst in glucose en galactose, die vervolgens geabsorbeerd worden. Onder normale omstandigheden bereikt slechts 0-8% van de toegediende lactose het colon (Bond en Levitt, 1976), zodat geen of nauwelijks H<sub>2</sub>-excretie zal optreden (figuur 19). Echter bij lactasedeficientie komt een deel van de lactose in het colon terecht, waar het door darmbacteriën wordt afgebroken onder vorming van H<sub>2</sub>. Hierdoor stijgt de H<sub>2</sub>-excretie in de uitademingslucht na lactosetoediening bij patienten met lactasedeficientie (figuur 20).

4.2 Onderzochte personen en toegepaste methoden

De H<sub>2</sub>-excretie in de uitademingslucht werd steeds bepaald met de single breath methode om uitademingslucht te verkrijgen, tenzij met name een andere methode wordt genoemd. De H<sub>2</sub>-concentratie in de ademmonsters werd gaschromatografisch gemeten.

Eerst werden 15 proefpersonen en 14 patienten met een primaire lactasedeficientie onderzocht. Na het nemen van een nuchter ademmonster werd 50 g lactose in 400 ml water toegediend, waarna elk half uur een ademmonster werd genomen gedurende 3 uur. Met de gegevens bij deze 2 groepen werden beoordelingscriteria opgesteld voor de lactose-H<sub>2</sub>-ademtest. Op grond hiervan kon de uitvoering van de test bij de overige patienten vereenvoudigd worden tot het onderzoekprotocol zoals weergegeven in 3.6.

In het kader van een vergelijkend onderzoek naar verschillende methoden om de H<sub>2</sub>-ademtest uit te voeren (3.3 en 3.8), werd bij 6 proefpersonen de lactose-H<sub>2</sub>-ademtest uitgevoerd met de rebreathing methode en bij 13 proefpersonen met het H<sub>2</sub>-ademtest apparaat. Op grond van deze gegevens werden beoordelingscriteria opgesteld voor de lactose-H<sub>2</sub>-ademtest, uitgevoerd met de genoemde methoden.

Behalve de genoemde 15 proefpersonen werden 17 controlepatienten onderzocht met de single breath methode. Zij hadden

## NORMALE LACTOSE ABSORPTIE

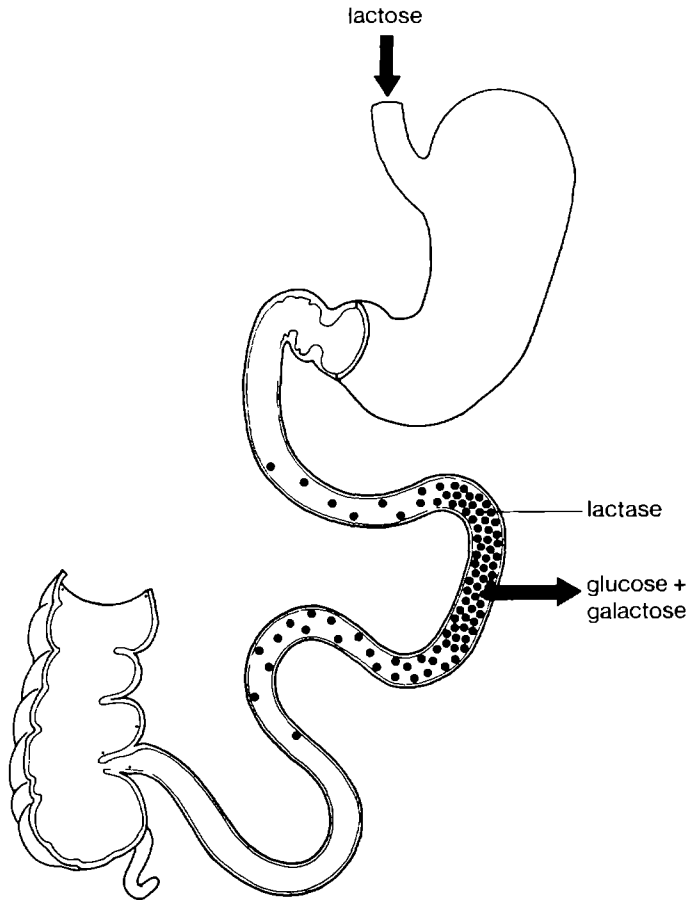


Fig 19 SCHEMATISCHE VOORSTELLING VAN DE VERTERING EN ABSORPTIE VAN LACTOSE. DOOR HET ENZYM LACTASE WORDT LACTOSE IN DE DUNNE DARM GESPLITST IN GLUCOSE EN GALACTOSE. DEZE BEIDE MONOSACHARIDEN WORDEN VERVOLGENS GEABSORBEERD. SCHEMATISCH IS DE NORMALE VERDELING VAN LACTASE OVER DE DUNNE DARM AANGEGEVEN.

## MALABSORPTIE VAN LACTOSE

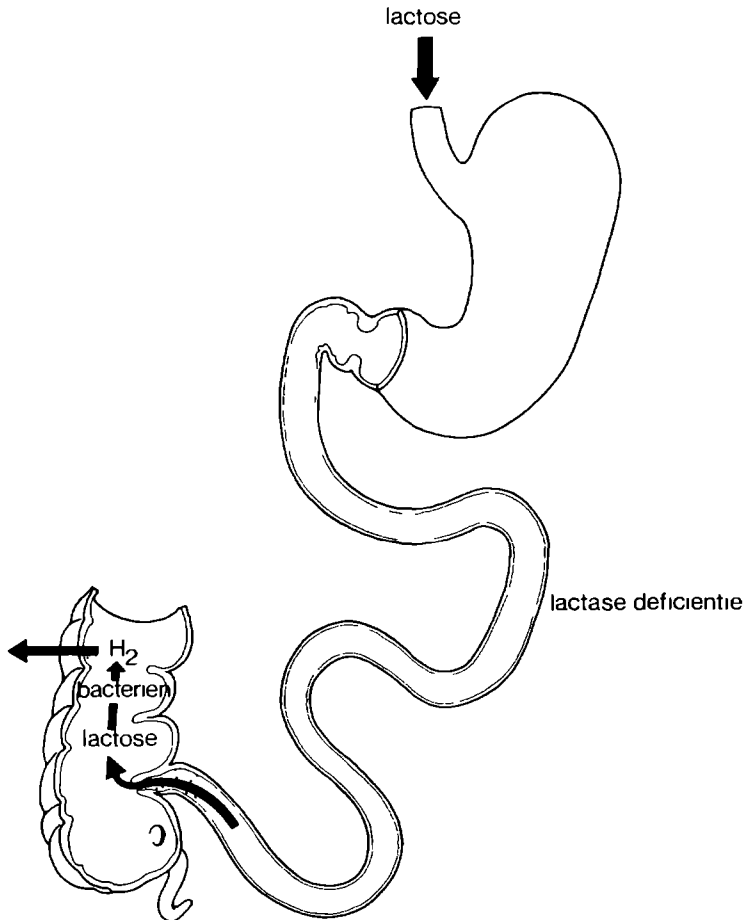


Fig 20 SCHEMATISCHE VOORSTELLING VAN DE BACTERIELE AFBRAAK VAN LACTOSE T.G.V. LACTOSEMALABSORPTIE BIJ EEN PATIENT MET LACTASEDEFICIENTIE. DOOR HET ONTBREKEN VAN LACTASE IN DE DUNNE DARM, KOMT LACTOSE ONVERTEERD IN HET COLON TERECHT. DE COLONBACTERIEN (.) BREKEN LACTOSE AF, WAARBIJ H<sub>2</sub> GEVORMD WORDT. DIT DIFFUNDEERT GEDEELTELIJK NAAR HET BLOED EN VERSCHIJNT IN DE UITADEMINGSLUCHT.

geen röntgenologische afwijkingen aan de dunne darm, geen klachten na gebruik van melkproducten of na belasting met 50 g lactose. Bij allen was de stijging van het bloedsuikergehalte tijdens de LTT meer dan 1,2 mmol/l, behalve bij 2 controlepatienten bij wie de stijging slechts 0,85 resp. 0,65 mmol/l bedroeg.

In totaal werden 34 patienten met diverse afwijkingen onderzocht: 14 patienten met primaire lactasedeficientie (3.7.2), 8 patienten met darmspruw, 4 patienten met bacteriele overgroei en 8 patienten die een maagresectie (6 patienten) of vagotomie (2 patienten) hadden ondergaan.

De diagnose darmspruw werd gesteld op grond van de jejunumbiopsie. Alle 8 patienten hadden een vlakke of bijna vlakke mucosa bij stereomicroscopisch onderzoek, hetgeen werd bevestigd door histologisch onderzoek. Zeven patienten waren onbehandeld en 1 patiente werd onderzocht tijdens gebruik van een glutenvrij dieet, waaraan zij zich echter niet hield. Ten tijde van het onderzoek had zij een vrijwel vlakke mucosa.

Van de 4 patienten met bacteriele overgroei in de dunne darm hadden 3 een intestinale pseudo-obstructie en 1 een sclerodermie met intestinale localisatie. De diagnose bacteriele overgroei berustte op een toegenomen aantal vitale anaerobe bacteriën gekweekt uit het jejunumvocht (3.7.6).

De 8 patienten die een maagresectie of vagotomie hadden ondergaan, hadden allen buikklachten (dumpingklachten of pijn na de maaltijden) en sommigen tevens diarree. Alle 6 maagresectiepatienten hadden een Billroth II operatie ondergaan. Bij 2 patienten was een truncale vagotomie met pylorusplastiek zonder maagresectie verricht.

Bij 9 proefpersonen en 15 controlepatienten werd de lactaseactiviteit in het jejunumslijmvlies bepaald en vergeleken met de lactaseactiviteit bij verschillende groepen patienten.

De resultaten van de lactose-H<sub>2</sub>-ademtest, LTT en lactaseactiviteit werden onderling vergeleken.

#### 4.3 Resultaten

De resultaten van de lactose-H<sub>2</sub>-ademtest bij de 15 proefpersonen en de 14 patienten met primaire lactasedeficientie,

waarbij de  $H_2$ -excretie 3 uur lang werd vervolgd, zijn weergegeven in figuur 21. De  $H_2$ -concentratie in de uitademingslucht na 1, 2 en 3 uur verminderd met de nuchtere waarde, werd aangeduid als  $H_2$ -concentratie 0-1, resp. 0-2, resp. 0-3 uur. Uit de figuur blijkt dat met de  $H_2$ -concentratie na 2 uur een volledige scheiding tussen deze groepen proefpersonen en patienten met lactasedeficientie werd verkregen, terwijl bij de waarden na 1 en 3 uur een overlap bestond. Op grond hiervan werd besloten om alleen de  $H_2$ -concentratie nuchter en 2 uur na de lactosetoediening te bepalen. Dit is in overeenstemming met gegevens van anderen (Newcomer e.a., 1975; Metz e.a., 1975).

De  $H_2$ -concentratie in de uitademingslucht na 2 uur verminderd met de nuchtere waarde varieerde bij de 15 proefpersonen, onderzocht met de single breath methode, van -20 tot +3 ppm. Het gemiddelde was -5,3 ppm ( $\pm$  7,8 SD). Aan de hand hiervan werd een eenzijdig voorspellingsinterval opgesteld voor de lactose- $H_2$ -ademtest. Hieruit bleek dat de 99% betrouwbaarheidsboven grens voor een toekomstige waarneming bij een normale persoon 16,0 ppm bedraagt. Op basis hiervan werd het resultaat van de lactose- $H_2$ -ademtest als positief aangeduid wanneer de  $H_2$ -concentratie na 2 uur verminderd met de nuchtere waarde meer dan 20 ppm steeg en als negatief bij een stijging van 20 ppm of minder.

Bij de 6 proefpersonen die met de rebreathing methode werden onderzocht, varieerde de  $H_2$ -excretie na 2 uur, verminderd met de nuchtere excretie van -0,084 tot +0,022 ml/min. De gemiddelde excretie was -0,0168 ( $\pm$  0,037 SD). Hieruit werd een eenzijdig voorspellingsinterval opgesteld. De 95% betrouwbaarheidsboven grens voor een toekomstige waarneming bij een normaal persoon bleek 0,064 ml/min te bedragen. Op grond hiervan werd het resultaat van de lactose- $H_2$ -ademtest uitgevoerd met de rebreathing methode positief genoemd bij een stijging van meer dan 0,1 ml/min en negatief bij een stijging van 0,1 ml/min of minder.

Bij de 13 proefpersonen, die met het  $H_2$ -ademtest apparaat werden onderzocht, varieerde de  $H_2$ -concentratie na 2 uur, verminderd met de nuchtere waarde van -55 tot +15 ppm. De gemiddelde waarde was -13,8 ( $\pm$  20,7 SD). Hieruit werd wederom een eenzijdig voorspellingsinterval opgesteld. De 95% betrouwbaarheids-

$\Delta H_2$ -concentratie (ppm) ——— LACTOSE- $H_2$ -ADEMTEST

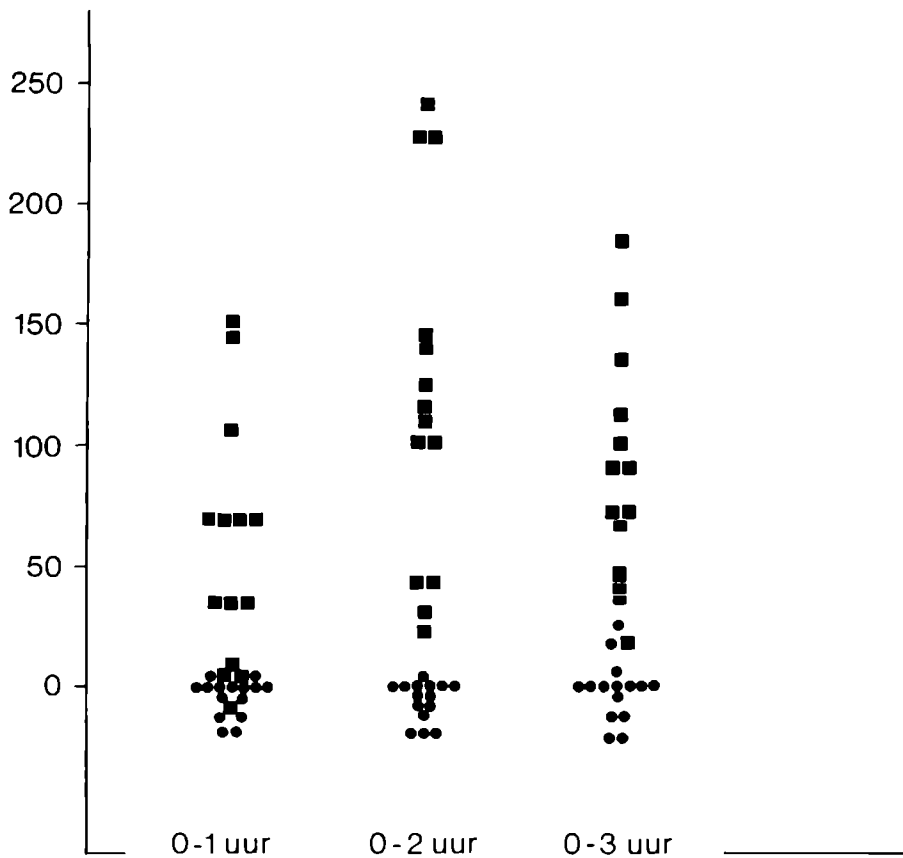


Fig 21 RESULTATEN VAN DE LACTOSE- $H_2$ -ADEMTEST BIJ 15 PROEFPERSONEN EN 14 PATIENTEN MET PRIMAIRE LACTASEDEFICIENTIE. DE  $H_2$ -CONCENTRATIE NA 1, 2 EN 3 UUR, TELKENS VERMINDERD MET DE NUCHTERE WAARDE IS VOOR BEIDE GROEPEN WEERGEGEVEN. HIERUIT BLIJKT DAT DE  $H_2$ -CONCENTRATIE NA 2 UUR EEN VOLLEDIGE SCHEIDING GEEFT TUSSEN DE PROEFPERSONEN EN DE PATIENTEN.

- PROEFPERSONEN
- PATIENTEN MET PRIMAIRE LACTASEDEFICIENTIE



bovengrens voor een toekomstige waarneming bij een normaal persoon bleek 25 ppm te bedragen. Op grond hiervan werd het resultaat van de lactose-H<sub>2</sub>-ademtest uitgevoerd met het H<sub>2</sub>-ademtest apparaat positief genoemd bij een stijging van de twee-uurs waarde ten opzichte van de nuchtere waarde van meer dan 30 ppm en als negatief bij een stijging van 30 ppm of minder.

De resultaten van de 66 personen bij wie de H<sub>2</sub>-excretie na 50 g lactose werd onderzocht met de single breath methode, zijn samengevat in figuur 22.

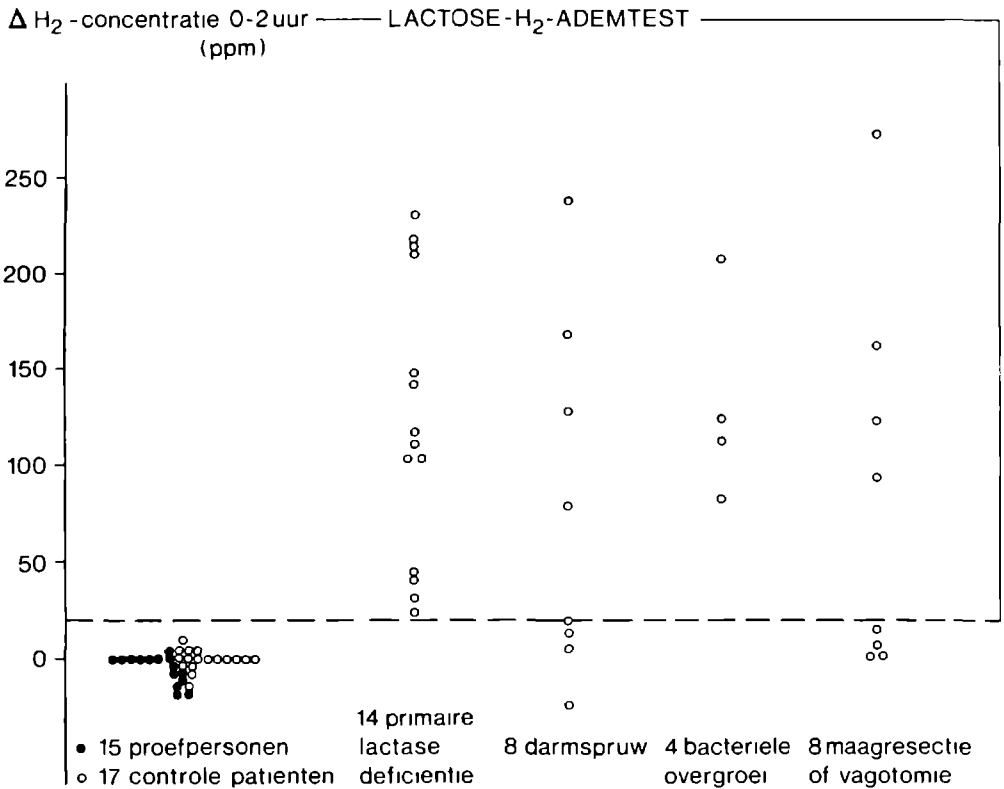


Fig 22 RESULTATEN VAN DE LACTOSE-H<sub>2</sub>-ADEMTEST BIJ PROEFPERSONEN EN CONTROLEPATIENTEN ENERZIJD EN BIJ 4 GROEPEN PATIENTEN ANDERZIJD. DE BOVENGRENS VAN NORMAAL IS INGETEKEND EN BEDRAAGT 20 PPM

Bij de 15 proefpersonen en de 17 controlepatienten was de test negatief en bij alle 14 patienten met primaire lactasedeficientie positief.

Bij 8 patienten met darmspruw was de test in 4 gevallen positief, echter bij de andere 4 negatief, ondanks de aanwezigheid van een vlakke mucosa in het jejunumbiopt en een verlaagde lactase-activiteit. Een mogelijke verklaring hiervoor is, dat bij deze patienten met darmspruw door absorptie van lactose in het relatief gezonde meer distale deel van de dunne darm geen lactose het colon bereikt, zodat er geen malabsorptie van lactose bestaat.

Bij alle 4 patienten met bacteriele overgroei was de test positief. In deze omstandigheden is bacteriele afbraak van lactose in de dunne darm de oorzaak.

Bij de 8 patienten die een maagresectie of vagotomie hadden ondergaan was de test bij 4 patienten positief en bij 4 negatief.

Bij 5 patienten met primaire lactasedeficientie met een positieve lactose-H<sub>2</sub>-ademtest na 50 g lactose, werd de test bovendien uitgevoerd met 25 g lactose, toegediend in 200 ml water. De resultaten zijn weergegeven in tabel 16. Hieruit blijkt dat ook met deze lagere lactosebelasting de H<sub>2</sub>-concentratie in de uitademingslucht pathologisch stijgt. Een duidelijk voordeel van de lagere lactosedosis is dat de patienten minder klachten hebben dan na toediening van 50 g.

Tabel 16 VERGELIJKING VAN DE RESULTATEN VAN DE LACTOSE-H<sub>2</sub>-ADEMTEST UITGEVOERD MET 50 G EN MET 25 G LACTOSE BIJ 5 PATIENTEN MET PRIMAIRE LACTASEDEFICIENTIE

patient	Δ H <sub>2</sub> -concentratie (ppm)	Δ H <sub>2</sub> -concentratie (ppm)
	0-2 uur 50 g lactose	0-2 uur 25 g lactose
1	216	64
2	208	80
3	102	80
4	49	42
5	45	99

De bevindingen van de lactose- $H_2$ -ademtest werden vergeleken met de resultaten van de LTT bij 10 proefpersonen, 17 controlepatiënten, 14 patiënten met primaire lactasedeficientie en 6 patiënten met darmspruw (figuur 23). Bij een volledige overeenstemming in de resultaten van beide onderzoekmethoden, zou geen van de waarnemingen in het rechter boven of het linker ondervak van de figuur mogen liggen. Zoals te zien is was bij 2 controlepatiënten de LTT vals-positief. Om zeker te zijn dat de lactose- $H_2$ -ademtest bij deze twee niet vals-negatief was, werd bij hen een lactulose- $H_2$ -ademtest gedaan. Hierbij trad bij beiden een duidelijke stijging van de  $H_2$ -concentratie in de uitademingslucht op. Opvallend was de goede correlatie tussen LTT en  $H_2$ -ademtest bij de patiënten met darmspruw. De 3 patiënten met een normale  $H_2$ -ademtest hadden alle 3 ook een normale LTT. Dit komt niet overeen met de ervaring van Metz e.a. (1976a).

Ook werd het resultaat van de lactose- $H_2$ -ademtest vergeleken met de bepaling van de lactase-activiteit in het dunne darmslijmvlies.

De lactase-activiteit bij normalen (9 proefpersonen en 15 controlepatiënten) werd vergeleken met die bij 14 patiënten met een primaire lactasedeficientie. Een overzicht hiervan geeft figuur 24. De waarde van de lactase-activiteit bij patiënten met primaire lactasedeficientie was volgens de eenzijdige toets van Wilcoxon (onbetrouwbaarheid 0,05) systematisch lager dan de waarde bij normalen ( $p < 0,001$ ).

In figuur 25 is de  $H_2$ -concentratie uitgezet tegen de lactase-activiteit bij 9 proefpersonen, 15 controlepatiënten, 14 patiënten met primaire lactasedeficientie en 7 patiënten met darmspruw. Bij alle proefpersonen en controlepatiënten was de  $H_2$ -ademtest normaal en bij allen was de lactase-activiteit minstens  $0,6 \mu\text{mol E/g nat gewicht}$  of hoger. Bij alle 14 patiënten met primaire lactasedeficientie was de  $H_2$ -ademtest gestoord. Bij 11 van deze patiënten varieerde de lactase-activiteit van  $0-0,6 \mu\text{mol E/g nat gewicht}$ , terwijl 3 patiënten een waarde tussen  $0,7$  en  $1,0$  hadden. Van de 7 patiënten met darmspruw was de  $H_2$ -ademtest bij 3 normaal en bij 4 gestoord. Bij 2 van de 3 patiënten met een normale  $H_2$ -excretie was de lactase-activiteit 0.

# LACTOSE-H<sub>2</sub>-ADEMTEST VERSUS LTT

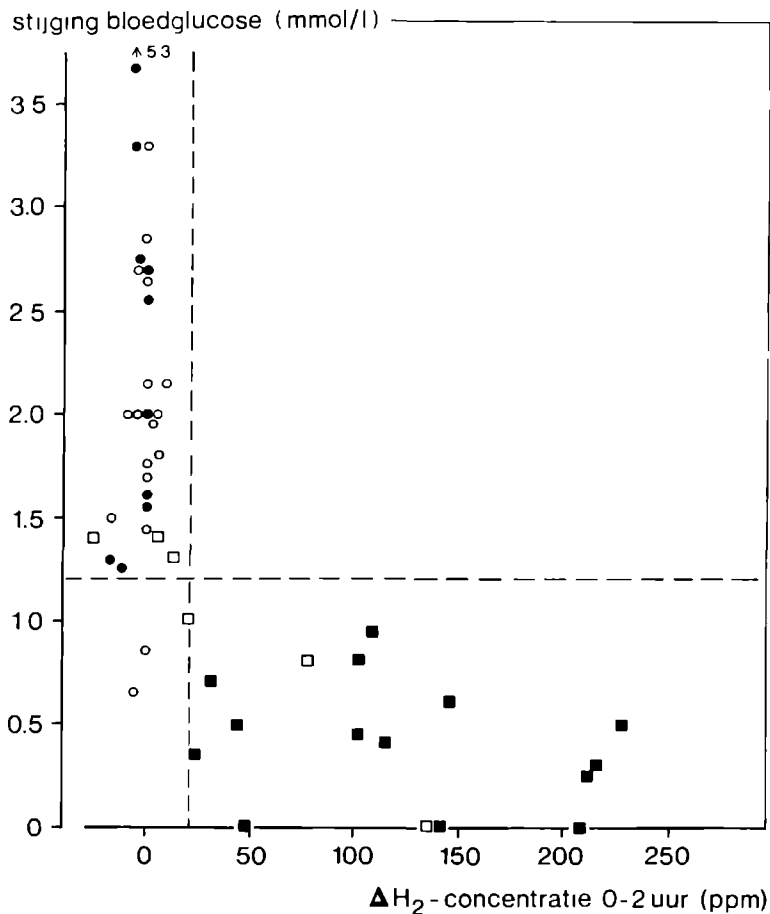


Fig 23 VERGELIJKING VAN DE RESULTATEN VAN DE LACTOSE-H<sub>2</sub>-ADEMTEST MET DE LTT BIJ 10 PROEFPERSONEN (●), 17 CONTROLEPATIENTEN (○), 14 PATIENTEN MET PRIMARE LACTASEDEFICIENTIE (■) EN 6 PATIENTEN MET DARMSPRUW (□). MET EEN VERTICALE ONDERBROKEN LIJN IS DE BOVENGRENZ VAN DE H<sub>2</sub>-ADEMTEST AANGEGEVEN (BIJ 20 ppm) EN MET EEN HORIZONTALE ONDERBROKEN LIJN DE ONDERGRENZ VAN NORMAAL VOOR DE LTT (1,2 MMOL/L STIJGING BLOEDGLUCOSE).

lactase  $\mu\text{mol E/g nat. gewicht}$

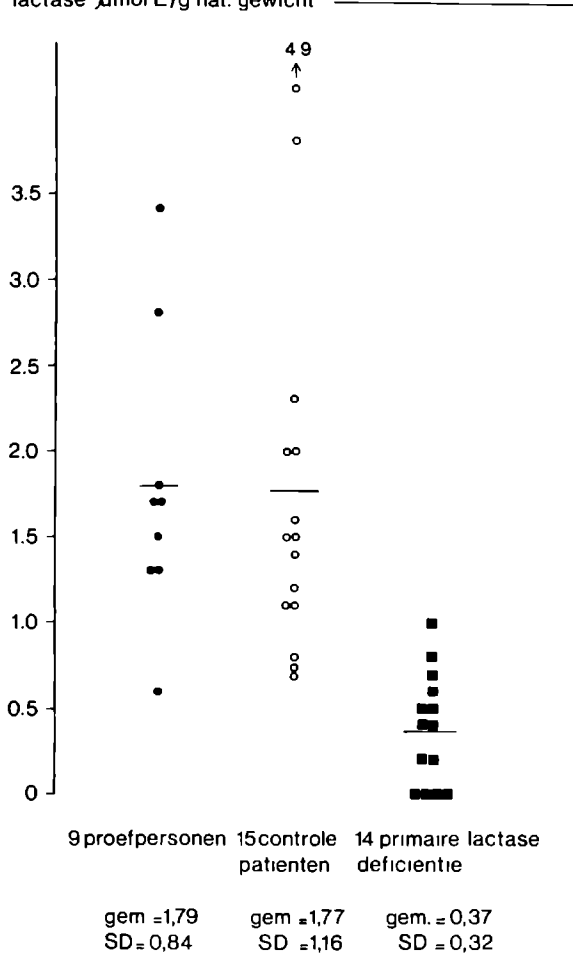


Fig 24 LACTASE-ACTIVITEIT VAN HET JEJUNUSLIJMVLIES BIJ 9 PROEF-PERSONEN, 15 CONTROLEPATIENTEN EN 14 PATIENTEN MET PRIMAIRE LACTASEDEFICIENTIE. DE GEMIDDELTE WAARDEN VAN DE GROEP PROEFPERSONEN EN DE GROEP CONTROLEPATIENTEN WAREN STATISTISCH NIET SIGNIFICANT VERSCHILLENDE; DE LACTASE-ACTIVITEIT BIJ DE GROEP PATIENTEN MET PRIMAIRE LACTASEDEFICIENTIE WAS ECHTER SYSTEMATISCH LAGER DAN DIE BIJ BEIDE ANDERE GROEPEN SAMEN.

LACTOSE-H<sub>2</sub>-ADEMTEST VERSUS LACTASE-ACTIVITEIT

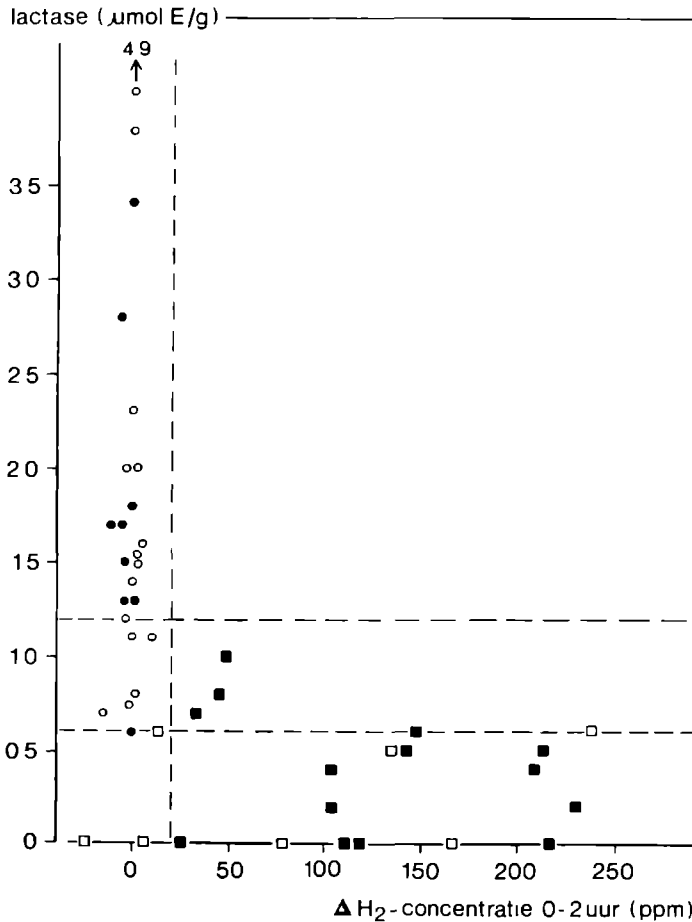


Fig 25 VERGELIJKING VAN DE RESULTATEN VAN DE LACTOSE-H<sub>2</sub>-ADEMTEST MET DE LACTASE-ACTIVITEIT IN HET JEJUNUSLIJMVLIES BIJ 9 PROEFPERSONEN (●), 15 CONTROLEPATIENTEN (○), 14 PATIENTEN MET PRIMAIRE LACTASEDEFICIENTIE (■) EN 7 PATIENTEN MET DARMSPRUW (□). OP GROND VAN DE LACTASE-ACTIVITEIT WAS GEEN SCHERPE SCHEIDING MOGELIJK TUSSEN NORMALEN EN PATIENTEN MET LACTASEDEFICIENTIE. DAAROM WERD DOOR 2 HORIZONTALE ONDERBROKEN LIJNEN EEN ONDERWAARDE (0,6) EN EEN BOVENWAARDE (1,2  $\mu\text{MOL E/G}$ ) AANGEGEVEN, WAARONDER RESP. WAARBOVEN DE LACTASE-ACTIVITEIT MET 75% KANS RESP. VERLAAGD OF NORMAAL IS. IN HET TUSSENLIJGENDE GEBIED WORDT GEEN UITSpraak OP BASIS VAN DE LACTASE-ACTIVITEIT ALLEEN GEDAAN.

Bij de patienten die een maagresectie of vagotomie hadden ondergaan, kan de H<sub>2</sub>-ademtest positief zijn om verschillende redenen. Bij een aantal patienten werd naast de ademtest, de LTT en de bepaling van de lactase-activiteit ook bacteriologisch onderzoek van het jejunumvocht gedaan. De gegevens van deze 8 patienten zijn samengevat in tabel 17.

Tabel 17 RESULTATEN VAN DE LACTOSE-H<sub>2</sub>-ADEMTEST BIJ 8 PATIENTEN DIE EEN MAAGRESECTIE OF VAGOTOMIE HADDEN ONDERGAAN, VERGELEKEN MET LTT, LACTASE-ACTIVITEIT VAN HET JEJUNUM-SLIJMVLIES EN MET BACTERIOLOGISCH ONDERZOEK VAN HET JEJUNUMVOCHT.

patient	diagnose	lactose- H <sub>2</sub> - ademtest	LTT Δglucose (mmol/l)	lactase- activiteit (μmol E/g)	kweek jejunum- vocht
1	BII-resectie	+	0,3	0,4	+
2	idem	+	2,4	1,7	n.v.
3*	idem	+	3,8	2,4	n.v.
4	idem	-	4,7	n.v.	+
5	idem	-	7,4	n.v.	+
6	idem	-	3,7	n.v.	n.v.
7	vagotomie	+	0,8	0,3	-
8	idem	+	0,3	n.v.	n.v.

\* deze patient had tevens een ileocecaalresectie ondergaan  
 + onderzoek positief  
 - onderzoek negatief  
 n.v. niet verricht

Voor de beoordelingscriteria: zie 3.7 en het begin van deze paragraaf

Bij 2 patienten (no 1 en 7) werd een verlaagde lactase-activiteit gevonden. Bacteriele overgroei in de dunne darm (3.7.6) werd vastgesteld bij 3 van de 4 patienten bij wie dit werd onder-

zoekt. Echter bij 2 van deze 3 was de lactose-H<sub>2</sub>-ademtest negatief, terwijl patient 7 met een negatief bacteriologisch onderzoek een positieve ademtest had (waarschijnlijk als gevolg van lactasedeficientie; tabel 17). Een derde factor waardoor de ademtest bij deze groep patienten positief zou kunnen worden, is een snelle passage van het lactose door de dunne darm met als gevolg onvolledige absorptie. Hiervoor vonden wij aanwijzingen op grond van een versnelde passage van een mengsel van glucose en barium bij dit type patienten (5.3.4). Of deze bevindingen ook op de passage van lactose toepasbaar zijn, is niet geheel zeker.

#### 4.4 Discussie

De bepaling van H<sub>2</sub> in de uitademingslucht is volgens onderzoek van anderen een eenvoudige en betrouwbare test om lactasedeficientie op te sporen, zowel bij volwassenen (Metz e.a., 1975a+b; Newcomer e.a., 1975) als bij kinderen (Maffei e.a., 1976; Fernandes e.a., 1977). De methode leent zich goed voor bevolkingsonderzoek (Caskey e.a., 1977; Newcomer e.a., 1977).

Toch is de correlatie tussen de lactose-H<sub>2</sub>-ademtest en de lactase-activiteit bepaald in biopten van het jejunumslijmvlies niet volledig. Ook wij vonden, in overeenstemming met gegevens van Metz e.a. (1976a), dat bijvoorbeeld bij patienten met darm-spruw met een niet aantoonbare lactase-activiteit in het jejunumslijmvlies (figuur 25), de absorptie van lactose toch volledig kan zijn blijkens de lactose-H<sub>2</sub>-ademtest. Het is waarschijnlijk dat door een meer distale absorptie (in het ileum) de verminderde absorptie proximaal (in het jejunum) toch niet tot malabsorptie leidt.

Een aspect kwam tot nu toe naar onze mening in de literatuur onvoldoende naar voren nl. de interpretatie van de lactose-H<sub>2</sub>-ademtest bij de individuele patient. Weliswaar wijst de test patienten met lactasedeficientie met grote nauwkeurigheid aan, maar een positieve test betekent niet steeds dat er een lactasedeficientie bestaat. Wij vonden (figuur 22) een positieve test bij enkele patienten met bacteriele overgroei in de dunne darm (waarschijnlijk door de bacteriele afbraak van lactose in de dunne darm) en bij patienten die een maagresectie of vagotomie hadden



ondergaan (mogelijk door een snelle dunne darmassage), óók als de lactase-activiteit in het jejunumslijmvlies normaal was (tabel 17). Als er twijfel bestaat of een positieve lactose- $H_2$ -ademtest berust op lactasedeficientie of op bacteriele overgroei, kan een glucose- $H_2$ -ademtest gedaan worden. Bij primaire lactasedeficientie zal deze negatief zijn.

Een positieve lactose- $H_2$ -ademtest mag dan ook niet gelijk gesteld worden aan lactasedeficientie, maar wijst wel op een abnormale afbraak van lactose in het darmkanaal. In hoeverre dit consequenties moet hebben voor de patient, hangt mede af van zijn klachten en andere symptomen.

#### 4.5 Conclusies

Een positieve lactose- $H_2$ -ademtest berust op abnormale afbraak van lactose in het darmkanaal. Dit werd gevonden bij patienten met lactasedeficientie, bij bacteriele overgroei en bij patienten die een maagresectie of vagotomie hadden ondergaan.

De correlatie van de lactose- $H_2$ -ademtest met de LTT was goed; die met de lactase-activiteit iets minder goed. Er werd een overlap gevonden tussen de lactase-activiteit bij normalen en bij patienten met primaire lactasedeficientie, ofschoon de waarden bij de laatste groep systematisch lager waren dan die bij normalen. Bij darmspruw bleek bepaling van de lactase-activiteit geen betrouwbare maat te zijn voor lactosemalabsorptie. Deze bevindingen steunen de visie van Metz e.a. (1975a) dat lactasedeficientie, vastgesteld door onderzoek van het jejunumslijmvlies, geen bewijs is voor lactosemalabsorptie, aangezien slechts van malabsorptie kan worden gesproken als lactose het colon bereikt. Als dit het geval is, blijkt dit uit een toegenomen  $H_2$ -excretie met de uitademingslucht. Vandaar de lactose- $H_2$ -ademtest momenteel de meest betrouwbare test lijkt om lactosemalabsorptie vast te stellen.

DE H<sub>2</sub>-ADEMTEST VOOR HET AANTONEN VAN GLUCOSEMALABSORPTIE EN VOOR HET ONDERZOEK NAAR BACTERIELE OVERGROEI IN DE DUNNE DARM

5.1 Inleiding

Glucose wordt onder normale omstandigheden volledig geabsorbeerd in het proximale deel van de dunne darm (fig.26). Echter bij bacteriele overgroei in de dunne darm (fig.27) wordt een deel van de glucose, vóórdat deze geabsorbeerd is, door de bacteriën afgebroken, waarbij H<sub>2</sub> gevormd wordt, dat in de uitademingslucht aantoonbaar is. Een andere vorm van bacteriele afbraak van glucose komt voor, wanneer ten gevolge van snelle passage door de dunne darm glucose onvolledig wordt geabsorbeerd en gedeeltelijk in het colon terechtkomt. Ook dan verschijnt H<sub>2</sub> in de uitademingslucht, in dit geval door bacteriele afbraak van glucose in het colon (fig.28).

5.2 Toegepaste methoden en onderzochte personen

De H<sub>2</sub>-excretie in de uitademingslucht na toediening van 100 g glucose werd steeds bepaald door met de single breath methode ademmonsters te nemen en hierin gaschromatografisch de H<sub>2</sub>-concentratie te meten. Als een andere methode werd gebruikt, wordt deze met name genoemd. Voor het onderzoeksprotocol van de glucose-H<sub>2</sub>-ademtest zie 3.6.

Uit de resultaten van de glucose-H<sub>2</sub>-ademtest bij 15 gezonde proefpersonen (vrijwilligers) werden beoordelingscriteria opgesteld voor een positieve resp. negatieve test met de single breath methode.

In het kader van een vergelijkend onderzoek naar verschillende methoden om de H<sub>2</sub>-ademtest uit te voeren (3.3 en 3.8) werd bij 6 proefpersonen de glucose-H<sub>2</sub>-ademtest uitgevoerd met de rebreathing methode en bij 11 proefpersonen met het H<sub>2</sub>-ademtest apparaat. Met deze gegevens werden beoordelingscriteria opgesteld voor de glucose-H<sub>2</sub>-ademtest uitgevoerd met deze beide methoden.

Bij 14 patiënten bij wie geen aanwijzingen bestonden voor glucosemalabsorptie werd eveneens de test uitgevoerd met de single

NORMALE GLUCOSE ABSORPTIE

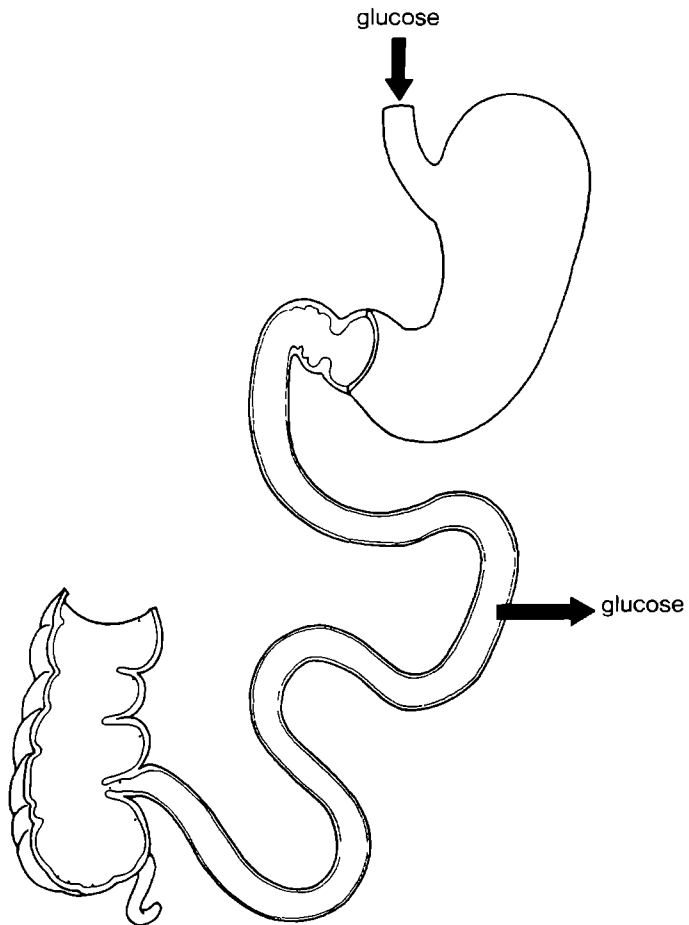


Fig 26 SCHEMATISCHE VOORSTELLING VAN DE GLUCOSE-ABSORPTIE. DEZE VINDT IN DE DUNNE DARM PLAATS EN IS ONDER NORMALE OMSTANDIGHEDEN VOLLEDIG.

BACTERIELE OVERGROEI IN DE DUNNE DARM

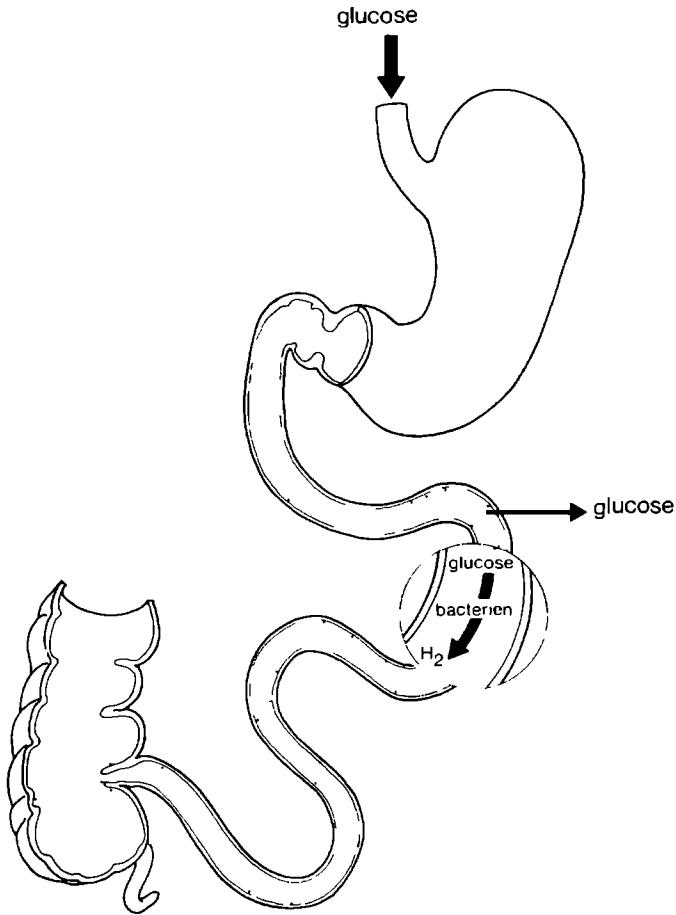


Fig 27 SCHEMATISCHE VOORSTELLING VAN DE BACTERIELE AFBRAAK VAN GLUCOSE IN DE DUNNE DARM TEN GEVOLGE VAN BACTERIELE OVERGROEI (AANGEGEVEN DOOR DE PUNTJES). VOORDAT GLUCOSE VOLLEDIG IS GEABSORBEERD, WORDT DIT GEDEELTELIJK DOOR DE BACTERIEN AFGEBROKEN WAARBIJ H<sub>2</sub> WORDT GEVORMD.

SNELLE PASSAGE DOOR DE DUNNE DARM

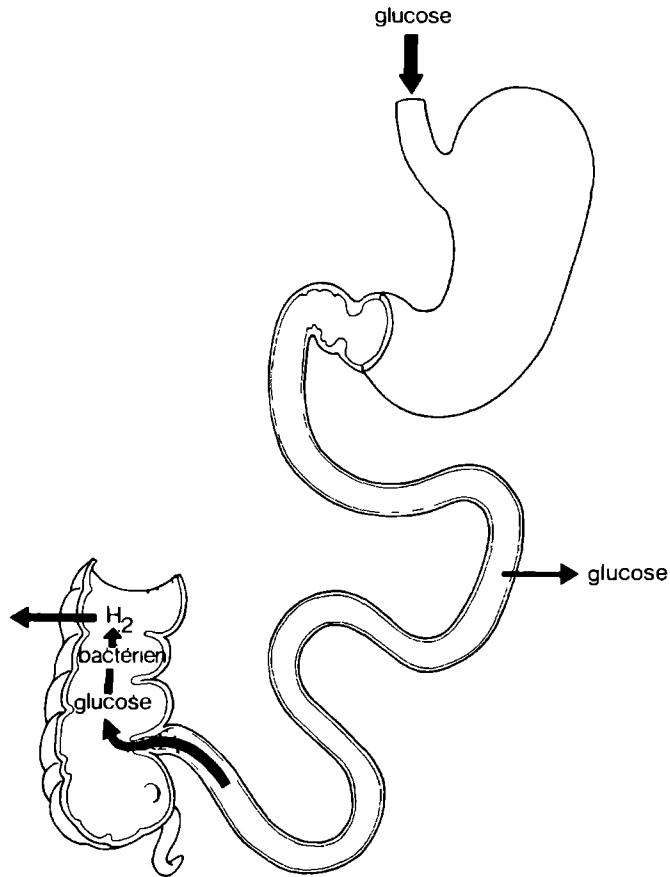


Fig 28 SCHEMATISCHE VOORSTELLING VAN DE BACTERIELE AFBRAAK VAN GLUCOSE IN DE DIKKE DARM BIJ GLUCOSEMALABSORPTIE. VOORDAT DE ABSORPTIE VAN GLUCOSE VOLLEDIG IN DE DUNNE DARM HEEFT PLAATSGEVONDEN IS EEN DEEL - BIJV. DOOR EEN VERSNELDE PASSAGE DOOR DE DUNNE DARM - IN HET COLON TERECHT GEKOMEN EN WORDT DAAR DOOR DE BACTERIEFLORA AFGEBROKEN ONDER VORMING VAN H<sub>2</sub>.

breath methode. Deze patienten bestonden uit 5 patienten met buikklachten en 4 patienten met wisselende defecatieklachten, waarvoor bij uitgebreid onderzoek geen verklaring werd gevonden en bovendien uit 5 patienten met een primaire lactasedeficientie, zoals gedefinieerd in 3.7.2. Deze groep van 14 patienten wordt verder aangeduid als controlepatienten.

Vervolgens werd de glucose- $H_2$ -ademtest (weer met de single breath methode) toegepast bij in totaal 46 patienten met verschillende afwijkingen. Zo werden 9 patienten met bacteriele overgroei onderzocht, vastgesteld door bacteriologisch onderzoek van het jejunumvocht, 7 patienten met onbehandelde darmspruw en een geheel vlak jejunumslijmvlies, 15 patienten met ileitis terminalis of ileocolitis zonder resectie van de dunne darm, 9 patienten die een maagresectie (7) of vagotomie (2) hadden ondergaan en buikklachten of diarree hadden, 3 patienten met een uitgebreide resectie van de dunne darm en tenslotte 3 patienten met de ziekte van Crohn, bij wie een ileocoecaalresectie was verricht.

Bacteriologisch onderzoek van het jejunumvocht (3.7.6) werd verricht bij 10 proefpersonen (gezonde vrijwilligers) en bij 24 patienten bij wie in dezelfde periode ook de glucose- $H_2$ -ademtest was verricht.

De resultaten van het bacteriologisch onderzoek van het jejunumvocht werden vergeleken met de resultaten van de glucose- $H_2$ -ademtest en met 3 andere indirecte onderzoeksmethoden om bacteriele overgroei in de dunne darm op het spoor te komen, nl. de  $^{14}C$ -glycinecholzuur ademtest, de indicanexcretie in de urine en de Schillingtest (3.7).

Teneinde een positieve glucose- $H_2$ -ademtest op basis van versnelde dunne darmpassage te kunnen onderscheiden van een positieve test door bacteriele overgroei, werd bij 10 patienten en 4 proefpersonen röntgenologisch de passagetijd door de dunne darm bepaald en simultaan de  $H_2$ -excretie in de uitademingslucht gemeten na toediening van een mengsel van glucose en bariumpap. De 4 proefpersonen waren volwassen gezonde vrijwilligers (medewerkers van de afdeling gastroenterologie). Het onderzoekprotocol werd beschreven in 3.6. Bij 7 van deze 10 patienten werd

tevens bacteriologisch onderzoek van het jejunumvocht verricht.

### 5.3 Resultaten

#### 5.3.1 Resultaten van de glucose-H<sub>2</sub>-ademtest bij gezonde personen en bij verschillende groepen patienten

De maximale H<sub>2</sub>-concentratie van 0-3 uur na toediening van 100 g glucose verminderd met de nuchtere waarde, onderzocht met de single breath methode, varieerde bij 14 van de 15 proefpersonen van -8 tot +3 ppm. Eén proefpersoon had een maximale H<sub>2</sub>-concentratie van 77 ppm en bij herhaling van het onderzoek van 52 ppm. Helaas kon zij niet nader worden onderzocht. De uitkomst van deze H<sub>2</sub>-excretie was statistisch gezien een uitschieter en werd verder niet meegerekend. Het gemiddelde van de 14 proefpersonen was 0,07 ppm ( $\pm$  3,7 SD). Aan de hand hiervan werd een eenzijdig voorspellingsinterval opgesteld voor de glucose-H<sub>2</sub>-ademtest. Hiermee kwam vast te staan dat de 99% betrouwbaarheidsbovengrens voor een toekomstige waarneming bij een normaal persoon 10 ppm is. Op basis hiervan werd het resultaat van de glucose-H<sub>2</sub>-ademtest als positief aangeduid als de maximale H<sub>2</sub>-concentratie gedurende de periode 0-3 uur, verminderd met de nuchtere waarde meer was dan 15 ppm en als negatief bij een waarde van 15 ppm of minder.

Bij de 14 controlepatienten was de test in alle gevallen negatief.

Bij de 6 proefpersonen onderzocht met de rebreathing methode, varieerde de maximale H<sub>2</sub>-excretie verminderd met de nuchtere waarde van 0 tot -0,189 ml/min. De gemiddelde excretie was -0,0553 ml/min ( $\pm$  0,07 SD). Hieruit werd een eenzijdig voorspellingsinterval opgesteld. De 95% betrouwbaarheidsbovengrens voor een toekomstige waarneming bij een normaal persoon bleek 0,10 ml/min. te bedragen. Op grond hiervan werd het resultaat van de glucose-H<sub>2</sub>-ademtest uitgevoerd met de rebreathing methode positief genoemd bij een maximale stijging van de H<sub>2</sub>-excretie ten opzichte van de nuchtere waarde van meer dan 0,12 ml/min., en negatief bij een stijging van 0,12 ml/min of minder.

Bij de 11 proefpersonen onderzocht met het H<sub>2</sub>-ademtest

apparaat, varieerde de maximale H<sub>2</sub>-concentratie verminderd met de nuchtere waarde van -60 tot +1 ppm. Hieruit werd wederom een eenzijdig voorspellingsinterval opgesteld. De 95% betrouwbaarheidsbovengrens voor een toekomstige waarneming bij een normaal persoon bleek 30 ppm te zijn. Op grond hiervan werd het resultaat van de glucose-H<sub>2</sub>-ademtest uitgevoerd met het H<sub>2</sub>-ademtest apparaat als positief aangeduid als de maximale H<sub>2</sub>-concentratie ten opzichte van de nuchtere waarde steeg met meer dan 35 ppm en als negatief als de stijging 35 ppm of minder was.

Het resultaat van de glucose-H<sub>2</sub>-ademtest bij de 46 patiënten onderzocht met de single.breath methode is weergegeven in de figuren 29 en 30.

Bij 7 van de 9 patiënten met bacteriele overgroei was de test positief en bij 2 negatief. Een overzicht van deze groep patiënten geeft tabel 18.

Tabel 18 RESULTAAT VAN DE GLUCOSE-H<sub>2</sub>-ADEMTEST BIJ 9 PATIENTEN MET BACTERIELE OVERGROEI IN DE DUNNE DARM

patient	diagnose	glucose-H <sub>2</sub> -ademtest
1	intestinale pseudo-obstructie	+
2	idem	+
3	idem	+
4	sclerodermie	+
5	BII-maagresectie	+
6	idem	+
7	idem	+
8	multipele divertikels van de dunne darm	-
9	M.Crohn met distale stenose	-

+ positieve test

- negatieve test

Bij de 7 patiënten met darmspruw was de test in 5 gevallen positief en bij 2 patiënten negatief. De verklaring hiervoor is



niet eenvoudig te geven. Bacteriele overgroei in de dunne darm komt voor bij sommige patiënten met darmspruw (Cluysenaer, 1977). Bij 2 van de patiënten die een duidelijk positieve H<sub>2</sub>-ademtest hadden, werd jejunumvocht bacteriologisch onderzocht. Bij deze konden wij geen bacteriele overgroei aantonen. Een versnelde passage door de dunne darm zou een andere verklaring kunnen zijn. Door bepaling van de passagetijd met lactulose vonden Metz e.a. (1976d) echter, dat 5 van de 8 patiënten met darmspruw een verlengde passagetijd hadden. Een derde mogelijkheid kan onvolledige absorptie van glucose zijn ten gevolge van de slijmvliesbeschadiging die bij darmspruw voorkomt.

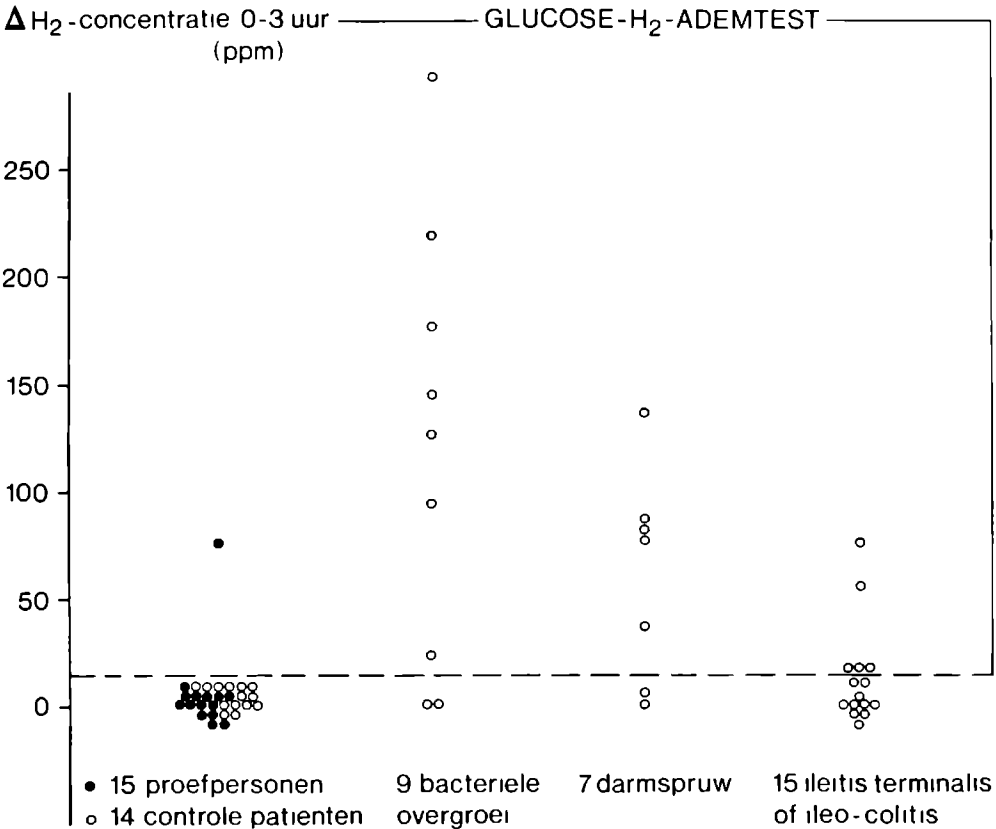


Fig 29 RESULTATEN VAN DE GLUCOSE-H<sub>2</sub>-ADEMTEST BIJ EEN CONTROLE-GROEP (15 PROEFPERSONEN EN 14 CONTROLEPATIENTEN) EN BIJ 3 VERSCHILLENDE GROEPEN PATIENTEN. DE BOVENGRENS VAN NORMAAL (HORIZONTALE STIPPELLIJK) LIGT BIJ 15 PPM.

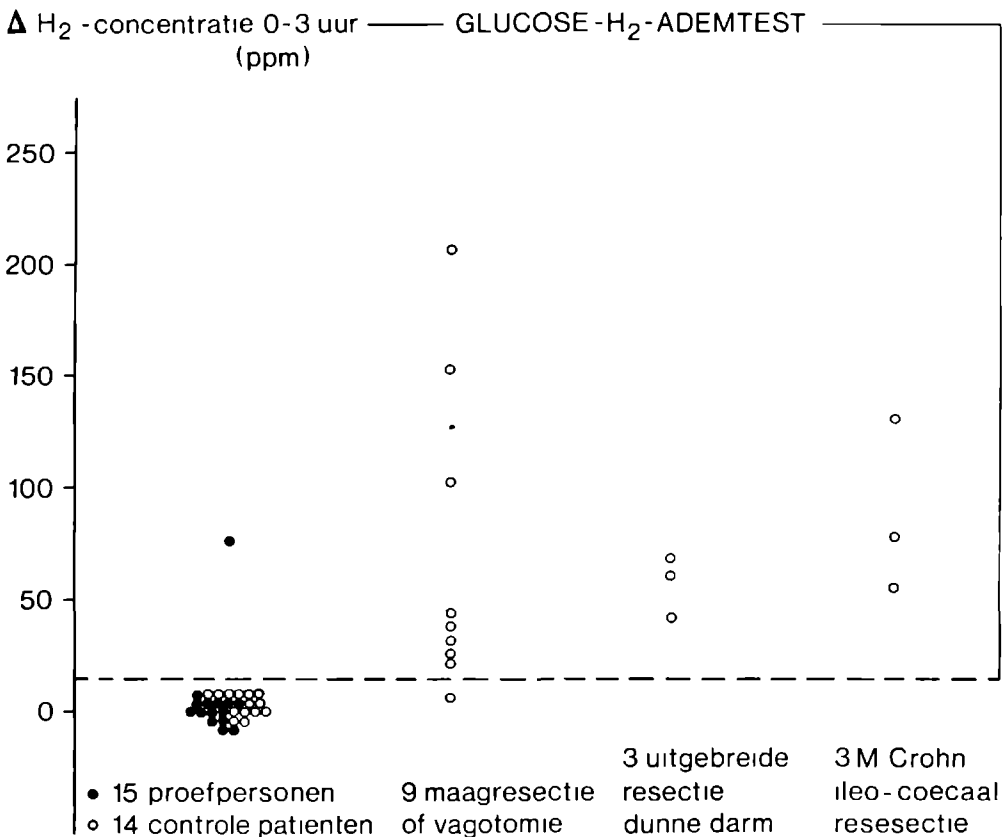


Fig 30 RESULTATEN VAN DE GLUCOSE-H<sub>2</sub>-ADEMTEST BIJ DEZELFDE CONTROLE-GROEP ALS IN FIG 29 EN BIJ 3 ANDERE GROEPEN PATIENTEN. DE BOVENGRENS VAN NORMAAL (HORIZONTALE STIPPELLIJK) LIGT BIJ 15 PPM.

Bij 15 patienten met een ileitis terminalis of ileocolitis, die geen darmresectie hadden ondergaan, was de glucose-H<sub>2</sub>-ademtest in de meeste gevallen negatief. In tabel 19 is een overzicht van deze patienten gegeven, waarbij tevens is aangeduid of er een röntgenologisch aangetoonde stenose distaal in de dunne darm bestond.

Bij de patienten 19 en 20 was de H<sub>2</sub>-excretie flink toegenomen (54 en 74 ppm), echter bij de andere 3 patienten met een positieve H<sub>2</sub>-ademtest was deze slechts gering (16-19 ppm) verhoogd. Waarschijnlijk speelt hierbij een rol dat het grootste gedeelte van de toegediende dosis glucose proximaal geabsorbeerd wordt, terwijl de bacteriele overgroei beperkt kan zijn tot het darmgedeelte juist proximaal van de stenose, die bij onze patienten in het distale ileum gelocaliseerd was.

Tabel 19 RESULTATEN VAN DE GLUCOSE-H<sub>2</sub>-ADEMTEST BIJ 15 PATIENTEN MET EEN ILEITIS OF ILEOCOLITIS, SOMMIGE MET EN ANDERE ZONDER EEN STENOSE IN HET DISTALE ILEUM. BIJ DE MEESTE PATIENTEN IS DE TEST NEGATIEF.

patient	diagnose	stenose distaal in de dunne darm	glucose-H <sub>2</sub> -ademtest
10	ileitis terminalis	-	+
11	idem	-	+
13	idem	-	-
14	idem	-	-
15	idem	-	-
16	ileo-colitis	-	-
17	idem	-	-
18	idem	-	-
19	ileitis terminalis	+	+
20	idem	+	+
21	idem	+	-
9	idem	+	-
22	ileo-colitis	+	+
23	idem	+	-
24	idem	+	-

Bij de 9 patienten die een maagresectie of vagotomie hadden ondergaan, was de test in de meeste gevallen positief. Een overzicht van deze groep geeft tabel 20.

De test kan bij deze patienten positief worden door verschillende oorzaken, zoals bacteriele overgroei en versnelde passage door de dunne darm. Bij een aantal van deze patienten werd de passagetijd door de dunne darm gemeten alsook bacteriologisch onderzoek verricht (5.3.4 en 5.3.2).

Tabel 20 RESULTATEN VAN DE GLUCOSE-H<sub>2</sub>-ADEMTEST BIJ 9 PATIENTEN DIE EEN MAAGRESECTIE OF VAGOTOMIE HADDEN ONDERGAAN. VOOR COMMENTAAR ZIE DE TEKST.

patient	operatie	glucose-H <sub>2</sub> -ademtest
25*	BII-maagresectie	+
26	BI-maagresectie	+
27	BII-maagresectie	+
28	BII-maagresectie + HSV	+
29	BI-maagresectie	+
30	totale maagresectie	+
31	BII-maagresectie + selectieve VT	-
32	truncale VT + pylorusplastiek	+
33	truncale VT + pylorusplastiek	+

\* deze patient had tevens een ileocoecaalresectie ondergaan  
 HSV "highly selective" vagotomie"  
 VT vagotomie

Bij 3 patienten met uitgebreide resecties van de dunne darm werd de glucose-H<sub>2</sub>-ademtest uitgevoerd met een lagere dosis glucose. Gezien de geringe lengte dunne darm die bij deze patienten nog resteerde, was te verwachten dat een dosis van 100 g glucose de absorptiecapaciteit zeker zou overschrijden. De gegevens van deze 3 patienten zijn samengevat in tabel 21.

Bij 3 patienten met de ziekte van Crohn bij wie een ileo-coecaalresectie was verricht, was de test in alle 3 gevallen positief. Bij 1 van deze 3 kon worden aangetoond dat versnelde passage door de dunne darm de oorzaak was van de toegenomen H<sub>2</sub>-excretie (5.3.4).

Tabel 21 RESULTATEN VAN DE GLUCOSE-H<sub>2</sub>-ADEMTEST BIJ 3 PATIENTEN MET EEN UITGEBREIDE RESECTIE VAN DE DUNNE DARM. BIJ DEZE PATIENTEN WERD EEN LAGERE DOSIS (50 OF 25 G) TOEGEDIEND.

patient	diagnose	restant jejunum en ileum	dosis glucose	glucose-H <sub>2</sub> -ademtest
46	resectie dunne darm na strangulatie	70 cm	50 g	+
47	resectie dunne darm na thrombose a. mes. sup.	40 cm	50 g	+
48	resectie dunne darm na thrombose a. mes. sup.	0 cm	25 g	+

### 5.3.2 De resultaten van de glucose-H<sub>2</sub>-ademtest in vergelijking tot de uitkomsten van bacteriologisch onderzoek van dunne darmvocht.

Van 10 proefpersonen zijn de resultaten van het bacteriologisch onderzoek weergegeven in tabel 22. In 9 gevallen werden minder dan 10<sup>6</sup> bacteriën per ml darmvocht gevonden in de vitale anaerobe telling. Bij de tiende proefpersoon was de concentratie anaeroben 2 x 10<sup>6</sup> bact/ml en de concentratie aeroben 3 x 10<sup>6</sup> bact/ml. Op grond van deze gegevens werd als voorlopig criterium voor bacteriele overgroei gebruikt: een toename van de bacterieconcentratie in de vitale anaerobe telling boven 10<sup>6</sup> bact/ml darmvocht.

Bij 24 patienten werd op dezelfde wijze jejunumvocht verkregen en bacteriologisch onderzocht. Bij 9 patienten werd bacteriele overgroei aangetoond en bij 15 patienten was dit niet het geval. De resultaten van de genoemde 9 patienten zijn weergegeven in tabel 23.

Uit tabel 23 blijkt dat bij 7 van de 9 patienten met bacteriele overgroei de glucose-H<sub>2</sub>-ademtest positief was en bij 2 patienten negatief.

De 15 patienten, bij wie geen bacteriele overgroei werd aangetoond, zijn vermeld in tabel 24.

Tabel 22 RESULTATEN VAN HET BACTERIOLOGISCH ONDERZOEK VAN JEJUNUMVOUCHT BIJ 10 PROEFPERSONEN. DE VITALE ANAEROBE TELLING GAF BIJ 9 VAN DE 10 EEN BACTERIECONCENTRATIE  $<10^6$ /ML JEJUNUMVOUCHT

proefpersonen	vitale anaerobe telling (bact/ml)	vitale aerobe telling (bact/ml)	glucose-H <sub>2</sub> -ademtest
A	$8 \times 10^2$	0	-
B	0	$10^3$	-
C	$4 \times 10^3$	$7 \times 10^2$	-
D	$8 \times 10^3$	$6 \times 10^3$	-
E	$4 \times 10^4$	$3 \times 10^4$	-
F	$8 \times 10^4$	$2 \times 10^4$	-
G	$10^5$	$5 \times 10^3$	-
H	$3 \times 10^5$	$10^5$	-
I	$8 \times 10^5$	$10^6$	-
J	$2 \times 10^6$	$3 \times 10^6$	-

De glucose-H<sub>2</sub>-ademtest was bij vele patiënten bij wie geen bacteriele overgroei kon worden aangetoond positief, zoals in tabel 24 te zien is. Op mogelijke oorzaken hiervan bij patiënten met darmspruw (patiënten 38 en 39 van tabel 24) gingen wij reeds in (5.3.1).

Bij patiënten die een ileocoecalresectie, een maagresectie of een vagotomie ondergingen (no. 36, 35, 26 en 32 van tabel 24) kan snelle passage door de dunne darm het positief worden van de ademtest verklaren. Dit kon in een aantal gevallen worden aangetoond (5.3.4).

Bij de 2 patiënten met een stenose distaal in de dunne darm (no. 19 en 20 van tabel 24) kan de discrepantie tussen het bacteriologisch onderzoek en de glucose-H<sub>2</sub>-ademtest berusten op het feit dat bacteriele overgroei beperkt bleef tot het meer distale gebied van de dunne darm boven de stenose. Gorbach en Tabaqchali (1969) wezen er bijvoorbeeld reeds op dat darmvocht uit het gebied, waar de stase van darminhoud zich bevindt, moet onderzocht worden. Dit vergt een moeilijker intubatie die voor de patient nogal belastend kan zijn.

Tabel 23 RESULTATEN VAN HET BACTERIOLOGISCH ONDERZOEK BIJ 9 PATIENTEN MET BACTERIELE OVERGROEI, VERGELEKEN MET DE RESULTATEN VAN DE GLUCOSE-H<sub>2</sub>-ADEMTEST

patient	diagnose	vitale anaerobe telling (bact/ml)	vitale aerobe telling (bact/ml)	glucose-H <sub>2</sub> - ademtest
1	intestinale pseudo- obstructie	4 x 10 <sup>6</sup>	5 x 10 <sup>6</sup>	+
2	idem	4 x 10 <sup>8</sup>	4 x 10 <sup>8</sup>	+
3	idem	4 x 10 <sup>8</sup>	4 x 10 <sup>8</sup>	+
4	sclerodermie	verhoogd	*	+
5	BII-maagresectie	2 x 10 <sup>8</sup>	10 <sup>7</sup>	+
6	idem	3 x 10 <sup>6</sup>	3 x 10 <sup>7</sup>	+
7	idem	2 x 10 <sup>6</sup>	3 x 10 <sup>6</sup>	+
8	multiple divertikels van de dunne darm	2 x 10 <sup>6</sup>	2 x 10 <sup>6</sup>	-
9	M. Crohn met distale stenose	3 x 10 <sup>6</sup>	7 x 10 <sup>6</sup>	-

\* deze patient werd elders onderzocht

### 5.3.3 De resultaten van de glucose-H<sub>2</sub>-ademtest vergeleken met andere indirecte proeven om bacteriele overgroei in de dunne darm aan te tonen

De enige directe methode om bacteriele overgroei in de dunne darm aan te tonen is bacteriologisch onderzoek van darmvocht. Dit is echter belastend voor de patient en technisch moeilijk. Indirecte onderzoekmethoden zouden waardevol kunnen zijn mits deze een gelijkwaardige informatie geven. Als zodanig komen in aanmerking de <sup>14</sup>C-glycinecholzuur ademtest, de indicanexcretie in de urine, de Schillingtest en de glucose-H<sub>2</sub>-ademtest.

Vandaar dat wij de resultaten van deze 4 indirecte methoden hebben vergeleken bij patienten met aangetoonde bacteriele overgroei en bij patienten bij wie het bacteriologisch onderzoek niet in deze richting wees.

Tabel 24 RESULTATEN VAN HET BACTERIOLOGISCH ONDERZOEK VAN 15 PATIENTEN BIJ WIE VOLGENS EEN VOORLOPIG CRITERIUM (3.7.6) GEEN BACTERIELE OVERGROEI KON WORDEN AANGETOOND. OPVALLEND IS HET GROTE AANTAL POSITIEVE GLUCOSE-H<sub>2</sub>-ADEMTESTEN.

patient	diagnose	vitale anaerobe telling (bact/ml)	vitale aerobe telling (bact/ml)	glucose-H <sub>2</sub> - ademtest
36	M. Crohn + ileocoe- caal resectie	5 x 10 <sup>5</sup>	5 x 10 <sup>2</sup>	+
35	idem	10 <sup>2</sup>	20	+
20	M. Crohn + distale stenose	3 x 10 <sup>3</sup>	2 x 10 <sup>2</sup>	+
19	idem	0	50	+
37	M. Crohn prox. dunne darm	0	3 x 10 <sup>2</sup>	-
38	darmspruw	2 x 10 <sup>5</sup>	4 x 10 <sup>5</sup>	+
39	idem	2 x 10 <sup>4</sup>	7 x 10 <sup>4</sup>	+
26	BI-maagresectie	9 x 10 <sup>5</sup>	5 x 10 <sup>6</sup>	+
32	truncale VT + pylorusplastiek	3 x 10 <sup>4</sup>	5 x 10 <sup>4</sup>	+
40	blinde lis in distale ileum na side-to-side anastomose	5 x 10 <sup>5</sup>	2 x 10 <sup>5</sup>	-
41	tropische spruw	0	0	-
42	pernicieuze anemie	3 x 10 <sup>5</sup>	4 x 10 <sup>6</sup>	-
43	steatorree e.c.i.	5 x 10 <sup>2</sup>	10 <sup>3</sup>	+
44	hypo-γ-globulinemie	4 x 10 <sup>4</sup>	3 x 10 <sup>5</sup>	-
45	buikklachten e.c.i.	2 x 10 <sup>4</sup>	2 x 10 <sup>4</sup>	-

VT vagotomie



De gegevens van 9 patienten met bacteriele overgroei zijn samengevat in tabel 25.

Tabel 25 VERGELIJKING VAN DE RESULTATEN VAN 4 INDIRECTE TESTEN OP BACTERIELE OVERGROEI IN DE DUNNE DARM BIJ 9 PATIENTEN MET BACTERIELE OVERGROEI

patient	diagnose	H <sub>2</sub> -adem- test	<sup>14</sup> C-adem- test	indican- urie	Schilling- test
1	intestinale pseudo-obstruc- tie	+	+	+	+
2	idem	+	+	+	+
3	idem	+	+	+	+
4	sclerodermie	+	+	+	-
5	BII-maagresectie	+	+	-	-
6	idem	+	+	-	-
7	idem	+	n.v.	+	n.v.
8	multipele diver- tikels dunne darm	-	-	+	-
9	M. Crohn + distale stenose	-	+	+	+
totaal positief		7/9	7/8	7/9	4/8

+ positief (gestoord)

- negatief

n.v. niet verricht

Er bleek een vrij goede overeenstemming te bestaan tussen de resultaten van de H<sub>2</sub>-ademtest en de <sup>14</sup>C-glycinecholzuur ademtest. De H<sub>2</sub>-ademtest, die niet het gebruik van radio-actieve isotopen vergt en in dat opzicht dus ook geen belasting voor de patient met zich meebrengt, zou voor het onderzoek van bacteriele overgroei de <sup>14</sup>C-glycinecholzuur ademtest dus kunnen vervangen. Ook het herhalen van het onderzoek, bijvoorbeeld als controle

op een ingestelde therapie, is met de H<sub>2</sub>-bepaling onbeperkt mogelijk.

In tabel 26 zijn de uitkomsten van de 4 indirecte onderzoeksmethoden weergegeven bij de 15 patienten bij wie geen bacteriele overgroei werd aangetoond.

Tabel 26 VERGELIJKING VAN 4 INDIRECTE TESTEN OP BACTERIELE OVERGROEI BIJ PATIENTEN BIJ WIE DOOR BACTERIOLOGISCH ONDERZOEK VAN JEJUNUMVOCHT GEEN BACTERIELE OVERGROEI KON WORDEN AANGETOOND.

pat.	diagnose	H <sub>2</sub> -adem- test	<sup>14</sup> C-adem- test	indican- urie	Schilling- test
37	M. Crohn prox. dunne darm	-	-	-	-
45	buikklasten e.c.i.	-	-	-	-
41	tropische spruw	-	-	+	+
44	hypo-γ-globulinemie	-	n.v.	n.v.	n.v.
42	pernicieuze anemie	-	+	n.v.	+
40	blinde darmlis in ileum	-	+	+	+
39	darmspruw	+	-	-	-
32	truncale vagotomie met pylorusplastiek	+	-	+	-
43	steatorree e.c.i.	+	+	-	n.v.
35	M. Crohn + ileo- coecaalresectie	+	+	+	+
36	idem	+	+	-	n.v.
26	BI-maagresectie	+	n.v.	+	n.v.
20	M. Crohn + distale stenose	+	+	+	+
19	idem	+	+	+	-
40	darmspruw	+	-	-	+
totaal negatief		6/15	6/13	6/13	5/11
n.v. niet verricht		+ positief(gestoord)		- negatief	

De overeenstemming tussen het bacteriologisch onderzoek en elk van de 4 indirecte onderzoeksmethoden was zeer wisselend. Elk van de 4 methoden gaf soms positieve resultaten zonder dat bacteriele overgroei hoog in het jejunum kon worden aangetoond. Ook de 4 indirecte methoden onderling kwamen niet goed overeen. Bij 8 van de 13 patiënten bij wie zowel de H<sub>2</sub>-ademtest als de <sup>14</sup>C-glycinecholzuur ademtest werd gedaan, was het resultaat gelijk-luidend.

#### 5.3.4 De resultaten van de glucose-H<sub>2</sub>-ademtest in relatie tot de passagetijd door de dunne darm

Bij patiënten zonder aangetoonde bacteriele overgroei bleek de glucose-H<sub>2</sub>-ademtest in veel gevallen positief te zijn. Wij vroegen ons af of een versnelde passage door de dunne darm de oorzaak van de glucosemalabsorptie zou kunnen zijn.

Om dit nader te onderzoeken bepaalden wij bij 4 proefpersonen en bij 10 patiënten de H<sub>2</sub>-excretie simultaan met de passagetijd door de dunne darm na toediening van een mengsel van glucose en bariumpap (voor het onderzoekprotocol zie 3.6). De H<sub>2</sub>-excretie werd beoordeeld net als bij de glucose-H<sub>2</sub>-ademtest (5.3). Door de H<sub>2</sub>-excretie grafisch uit te zetten tegen de tijd kon deze gerelateerd worden aan de röntgenologisch bepaalde passagetijd van mond naar coecum. Als de H<sub>2</sub>-excretie pathologisch stijgt vóórdat de contraststof het coecum heeft bereikt, dan wijst dit op bacteriele overgroei in de dunne darm. Treedt een pathologische H<sub>2</sub>-excretie pas op nadat het coecum al bereikt was, dan wijst dit op een versnelde darmpassage. Bij 7 van de 10 patiënten werd bacteriologisch onderzoek van darmvocht verricht. De resultaten zijn in tabel 27 samengevat.

Bij de 4 proefpersonen varieerde de passagetijd van 1 uur tot meer dan 4 uur. Na de toediening van het mengsel van glucose en barium trad bij géén van de 4 een stijging van de H<sub>2</sub>-excretie op gedurende 3 resp. 4 uur.

Bij 2 patiënten met intestinale pseudo-obstructie en aangetoonde bacteriele overgroei (no 1 en 2 van tabel 27) was de passagetijd langer dan 3½ resp. 4 uur. Bij hen trad de H<sub>2</sub>-excretie op terwijl de bariumpap zich nog geheel in de dunne darm bevond.

Tabel 27 RESULTATEN VAN DE BEPALING VAN DE H<sub>2</sub>-EXCRETIE IN DE UITADEMINGSLUCHT EN SIMULTANE RONTGENOLOGISCHE METING VAN DE PASSAGETIJD DOOR DE DUNNE DARM, NA TOEDIENING VAN EEN MENGSEL VAN GLUCOSE EN BARIUMPAP BIJ 10 PATIENTEN EN 4 PROEFPERSONEN. BIJ 7 VAN DE 10 PATIENTEN WERD TEVENS BACTERIOLOGISCH ONDERZOEK VAN JEJUNUMVOCHT VERRICHT.

patient	diagnose	H <sub>2</sub> -ademtest positief na (min)	passage-tijd mond-coecum (min)	kweek jejunumvocht
1	intestinale pseudo-obstructie	120	>240	+
2	idem	15	>210	+
6	BII-maagresectie	30	35	+
5	idem	30	21	+
26	BI-maagresectie	15	4	-
32	truncale vagotomie + pylorusplastiek	20	13	-
36	M. Crohn met ileo-coecaalresectie	20	23	-
27	BII-maagresectie	15	5	n.v.
25	idem + ileocoecaalresectie	15	33	n.v.
33	truncale vagotomie + pylorusplastiek	35	8	n.v.

Proefpersoon

K	neg.	60	n.v.
L	neg.	>240	n.v.
M	neg.	150	n.v.
N	neg.	90	n.v.

n.v. niet verricht

+ bacteriele overgroei aangetoond ) voor de criteria:  
 - geen bacteriele overgroei aangetoond) zie 5.3.2

Bij deze patienten berust de positieve ademtest dus zeer waarschijnlijk op bacteriele overgroei.

Bij de andere 8 patienten begon de  $H_2$ -excretie ongeveer op hetzelfde moment als waarop de bariumpap het colon bereikte of korte tijd daarna. Bij deze 8 patienten berustte de  $H_2$ -excretie dus minstens ten dele op een versnelde passage door de dunne darm.

Bij de patienten 5 en 6 die een toegenomen aantal bacteriën in het jejunumvocht hadden, berust de  $H_2$ -excretie waarschijnlijk op een combinatie van bacteriele overgroei en snelle passage door de dunne darm, terwijl bij de patienten 26, 32 en 36 van tabel 27 bij wie geen bacteriele overgroei werd aangetoond, waarschijnlijk uitsluitend snelle passage de oorzaak was.

#### 5.4 Discussie

Bij bacteriele afbraak van glucose in het darmkanaal ontstaat  $H_2$ . Aangezien de glucose-absorptie onder normale omstandigheden volledig is en in de dunne darm plaatsvindt, zal na glucosetoe-diening de  $H_2$ -excretie in de uitademingslucht alléén stijgen als glucose in het colon terecht komt. Door Levitt en Donaldson (1970) en Bond en Levitt (1972 en 1977a) werd aangetoond dat dit kan voorkomen bij patienten die een maagresectie hebben ondergaan en dat dit berust op een versnelde passage door de dunne darm (Bond en Levitt, 1977a).

Wij konden deze ervaringen bevestigen. Bij 8 van de 9 patienten die een maagresectie of vagotomie hadden ondergaan en klachten hadden over diarree en/of buikpijn na de maaltijd vonden wij een positieve glucose- $H_2$ -ademtest (fig. 30). Dit bleek bij een aantal van hen te berusten op een versnelde passage door de dunne darm (tabel 27), soms in combinatie met bacteriele overgroei.

Bacteriele afbraak van koolhydraten kan onder abnormale omstandigheden ook in de dunne darm plaatsvinden. De eersten die dit aantoonde waren Levitt (1969) en Bond en Levitt (1972). Later hebben Metz e.a. (1976b) de  $H_2$ -ademtest, uitgevoerd met 50 g glucose, aanbevolen als een onderzoek om bacteriele overgroei in de dunne darm aan te tonen. Zij vonden naar hun mening

geen vals-positieve resultaten, terwijl 8 van de 12 patienten met bacteriele overgroei een positieve glucose-H<sub>2</sub>-ademtest hadden. Wij zijn het echter met de kritiek van Bond en Levitt (1977b) eens, dat bij de patienten die Metz e.a. (1976b) onderzochten, de mogelijkheid van een versnelde passage door de dunne darm met als gevolg hiervan bacteriele afbraak van glucose in het colon, niet is uitgesloten. Deze mogelijkheid is des te reëler aanwezig, omdat 11 van de 18 patienten die Metz e.a. onderzochten een maag-resectie of vagotomie hadden ondergaan.

Wij menen dan ook dat pas mag geconcludeerd worden dat een positieve glucose-H<sub>2</sub>-ademtest op bacteriele overgroei in de dunne darm berust, als een versnelde passage door de dunne darm met als gevolg hiervan glucosemalabsorptie is uitgesloten. Wij hebben hiervoor een mogelijkheid aangegeven. Door simultaan de H<sub>2</sub>-excretie te bepalen en de passagetijd door de dunne darm röntgenologisch te meten, kan een onderscheid worden gemaakt tussen bacteriele afbraak van glucose in de dunne darm en die in het colon (5.3.4). Soms bestaat een combinatie van beide oorzaken (tabel 27). Een nadeel van de glucose-barium-H<sub>2</sub>-ademtest is de stralenbelasting door het röntgenologisch bepalen van de passagetijd door de dunne darm. Deze stralenbelasting is duidelijk minder dan die van een normaal röntgenonderzoek van de dunne darm. Er wordt in totaal 3-4 min. doorlicht en daarnaast worden 1-3 röntgenopnamen gemaakt.

De overeenstemming tussen de resultaten van 4 indirecte testen voor het aantonen van bacteriele overgroei (<sup>14</sup>C-glycinecholzuur test, indicanurie, Schillingtest en glucose-H<sub>2</sub>-ademtest) was bij patienten met bacteriele overgroei redelijk goed (tabel 25). Wees het bacteriologisch onderzoek echter niet op overgroei dan waren er met elk van de 4 indirecte proeven veel vals-positieve resultaten (tabel 26). Wij menen dat in belangrijke mate deze onderzoeksmethoden vals-positief kunnen worden door een versnelde passage door de dunne darm. Ook een verminderde absorptiecapaciteit na resectie van bijvoorbeeld het ileum kan met name een positieve <sup>14</sup>C-glycinecholzuur test en Schillingtest geven zonder dat er sprake is van bacteriele overgroei in de dunne darm.

Voor de indicanexcretie in de urine geldt dat deze ook bij malabsorptie van tryptofaan zonder bacteriele overgroei gestoord

kan zijn (Greenberger e.a. 1968; Losowsky e.a. 1974).

Een abnormale Schillingtest kan het gevolg zijn van verbruik van vitamine B<sub>12</sub> door bacteriën in de dunne darm in gevallen van bacteriele overgroei. Ook min of meer uitgebreide ileumresecties of ontstekingen van het ileum kunnen malabsorptie van vitamine B<sub>12</sub> veroorzaken.

### 5.5 Conclusies

De H<sub>2</sub>-excretie in de uitademingslucht na toediening van glucose neemt toe bij bacteriele afbraak van glucose in het darmkanaal. Een positieve glucose-H<sub>2</sub>-ademtest kan zowel berusten op bacteriele overgroei in de dunne darm, als op glucosemalabsorptie met als gevolg bacteriele afbraak van glucose in de dikke darm.

Bij de patiënten met bacteriele overgroei was de glucose-H<sub>2</sub>-ademtest in de meeste gevallen positief. De resultaten kwamen goed overeen met die van de <sup>14</sup>C-glycinecholzuur ademtest. Ons inziens kan de glucose-H<sub>2</sub>-ademtest daarom de <sup>14</sup>C-glycinecholzuur ademtest vervangen als het erom gaat bacteriele overgroei proximaal in de dunne darm op te sporen.

Bij patiënten bij wie geen bacteriele overgroei kon worden aangetoond, was de glucose-H<sub>2</sub>-ademtest toch in veel gevallen positief evenals de <sup>14</sup>C-glycinecholzuur ademtest. Dit zou o.a. kunnen berusten op een vals-negatief bacteriologisch onderzoek. Bij een aantal patiënten bleek echter een versnelde passage door de dunne darm het positief zijn van de glucose-H<sub>2</sub>-ademtest te verklaren. Door simultaan de H<sub>2</sub>-excretie en de passagetijd te bepalen, kan worden onderscheiden of een positieve H<sub>2</sub>-ademtest op bacteriele overgroei of op een versnelde passage door de dunne darm berust.

Welke van beide mogelijkheden er ook in het spel moge zijn, een positieve glucose-H<sub>2</sub>-ademtest wijst op een abnormale afbraak van glucose in het darmkanaal. De consequenties die dit voor de patient dient te hebben, moeten in samenhang met zijn klachten en de resultaten van het overige onderzoek bepaald worden.

### DE H<sub>2</sub>-ADEMTEST VOOR HET AANTONEN VAN ZETMEELMALABSORPTIE

#### 6.1 Inleiding

De H<sub>2</sub>-excretie in de uitademingslucht is tot nu toe vrijwel niet gebruikt om malabsorptie van polysachariden aan te tonen. Bond en Levitt (1972) toonden bij één patient, die een maagresectie had ondergaan, malabsorptie van zetmeel aan. Na toediening van een dieet, dat 150 g ongekookt tarwezetmeel bevatte, vonden Calloway en Murphy (1968) vrijwel geen H<sub>2</sub>-excretie.

Het leek daarom zinvol orienterend na te gaan of malabsorptie van zetmeel door bepaling van de H<sub>2</sub>-excretie was aan te tonen.

#### 6.2 Onderzochte personen en toegepaste methoden

De H<sub>2</sub>-excretie na toediening van 100 g zetmeel werd onderzocht met de single breath methode om uitademingslucht te verkrijgen en gedurende 9 uur vervolgd. De H<sub>2</sub>-concentratie in de ademmonsters werd bepaald door gaschromatografische analyse. Het onderzoeksprotocol van de zetmeel-H<sub>2</sub>-ademtest is vermeld in 3.6.

Onderzocht werden 8 proefpersonen en 8 patienten. De groep patienten bestond uit: 3 patienten met pancreasinsufficiëntie, 2 patienten met een uitgebreide resectie van de dunne darm, 1 patient die een maagresectie had ondergaan, 1 patiente met onbehandelde darmspruw en 1 patiente met tropische spruw.

De 3 patienten met pancreasinsufficiëntie waren de volgende. Patient 1 was een man van 74 jaar die op 34-jarige leeftijd een BII-maagresectie onderging wegens een ulcus duodeni. Op 61-jarige leeftijd kreeg hij klachten: vermoeidheid, diarree en vermagering. Bij onderzoek werd een steatorree vastgesteld (vetabsorptie 87,5%). De secretinetest was gestoord. Patient had oedeem ten gevolge van een hypoalbuminemie (albuminegehalte 23 g/l, normaal >45 g/l). De diagnose werd gesteld op pancreasinsufficiëntie e.c.i.. Met pancreasgranulaat (Organon) verbeterden de klachten van patient aanzienlijk, het serum albuminegehalte werd normaal en de vetab-



sorptie steeg tot 98%.

Patient 2 was een man van 68 jaar bij wie op 53-jarige leeftijd een ernstige steatorree werd vastgesteld (vetabsorptie 56%). Er werd een pancreaskopcarcinoom gevonden bij operatie, waarna een pancreaticoduodenectomie volgens Whipple werd verricht. Met pancreasgranulaat steeg postoperatief het lichaamsgewicht en werd de vetabsorptie vrijwel normaal (94%).

Patient 3 was een man van 40 jaar bij wie op 33-jarige leeftijd een adenocarcinoom van de pancreaskop met doorgroei in het duodenum rond de papil van Vater werd gevonden. Er werd een pancreaticoduodenectomie volgens Whipple verricht. Vijf jaar later begon patient te vermageren. Hij klaagde over buikpijn en diarree. De vetabsorptie evenwel was nauwelijks gestoord (93%). Patient had veel last van een opgeblazen gevoel in de buik en flatulentie na de maaltijden. Met pancreasgranulaat in combinatie met natriumbicarbonaat verbeterden de klachten slechts ten dele. Er werd een recidief van het pancreaskopcarcinoom vastgesteld tijdens een splenectomie. Deze laatste ingreep werd verricht wegens stuwung van de vena lienalis door tumorgroei lokaal met als gevolg varices in de maagwand.

De 2 patienten die een uitgebreide resectie van de dunne darm hadden ondergaan, hadden nog slechts 40 resp. 70 cm jejunum. Dit zijn de patienten no. 46 en 47 genoemd in tabel 21 in 5.3.1.

De patient die een BII-maagresectie had ondergaan klaagde over pijn na de maaltijd en had dumpingklachten. Bij hem was de passage door de dunne darm versneld. Hij is dezelfde persoon als patient no. 5 genoemd in tabel 27 in 5.3.4.

### 6.3 Resultaten

Bij de 8 proefpersonen varieerde de maximale H<sub>2</sub>-concentratie van 0-9 uur verminderd met de nuchtere waarde van 0-50 ppm (5 maal 0 ppm, 1 maal 6 ppm, 1 maal 5 ppm en 1 maal 50 ppm). De gemiddelde waarde was 7,6 ppm ( $\pm$  17,3 SD). Met een verdelingsvrije methode werd aan de hand van deze 8 waarnemingen een naar boven begrensd tolerantie-interval opgesteld voor de zetmeel-H<sub>2</sub>-ademtest. Hiermee werd berekend dat er een kans van 90% bestaat dat hoogstens 25% van de normaalwaarden groter dan 50 ppm is.

De zetmeel-H<sub>2</sub>-ademtest lijkt voorlopig positief als de maximale H<sub>2</sub>-concentratie, verminderd met de nuchtere waarde >50 ppm is. De resultaten bij de 8 patienten zijn samengevat in tabel 28.

Tabel 28 OVERZICHT VAN DE RESULTATEN VAN DE ZETMEEL-H<sub>2</sub>-ADEMTEST BIJ 8 PATIENTEN

patient	diagnose	Δ H <sub>2</sub> -concentratie 0-9 uur (ppm)	beoordeling zetmeel-H <sub>2</sub> - ademtest
1	pancreasinsufficiëntie	120	+
2	status na Whipple-operatie	21	-
3	status na Whipple-operatie en recidief pancreastumor	420	+
4	BII-maagresectie	175	+
5	uitgebreide resectie dunne darm	188*	+
6	idem	167	+
7	darmspruw	20	-
8	tropische spruw	0	-

\* deze test werd uitgevoerd met 50 g zetmeel

De resultaten laten door het geringe aantal ervan slechts beperkte conclusies toe. In principe lijkt het mogelijk om mal-absorptie van zetmeel door bepaling van de H<sub>2</sub>-excretie aan te tonen. Bij patienten met resecties van de dunne darm kan op deze wijze de absorptiecapaciteit van het restant dunne darm bepaald worden. Bij patient 4 berust de H<sub>2</sub>-excretie waarschijnlijk op versnelde passage door de dunne darm, zoals bij hem met een mengsel van glucose en bariumpap werd aangetoond (5.3.4).

#### 6.4 Discussie

Welke mogelijkheden de zetmeel-H<sub>2</sub>-ademtest biedt om pancreas-insufficiëntie aan te tonen, valt uit onze gegevens niet met zeker-

heid te zeggen. Volgens onderzoek van Fogel en Gray (1973) is de malabsorptie van zetmeel meestal beperkt bij patiënten met pancreasinsufficiëntie, óók als deze steatorree hebben. De reden hiervoor is dat amylase evenals lipase in het algemeen in overmaat wordt uitgescheiden. Onze beperkte gegevens lijken een meer uitgebreid onderzoek te rechtvaardigen. Bij meer patiënten zal moeten blijken hoe het resultaat van de zetmeel-H<sub>2</sub>-ademtest is, als pancreasinsufficiëntie duidelijk is aangetoond met name door middel van de secretinetest en/of de pancreozyminetest. De waarde van de zetmeel-H<sub>2</sub>-ademtest voor het aantonen van pancreasinsufficiëntie kan duidelijk worden als blijkt dat patiënten met een onvoldoende amylase-excretie een positieve H<sub>2</sub>-ademtest hebben.

#### 6.5 Voorlopige conclusies

De H<sub>2</sub>-excretie na toediening van zetmeel werd slechts oriënterend onderzocht. Uit de resultaten blijkt dat hier mogelijk een toepassingsgebied voor de H<sub>2</sub>-ademtest ligt. Met name lijkt het mogelijk een indruk te krijgen van de absorptiecapaciteit na resecties van de dunne darm. Of de test gevoelig genoeg zal zijn om een bijdrage te leveren voor de diagnostiek van pancreasinsufficiëntie, zal nader onderzocht moeten worden.

DE H<sub>2</sub>-ADEMTEST VOOR BEPALING VAN DE PASSAGETIJD VAN MOND NAAR COECUM

7.1 Inleiding

Na toediening van het niet-absorbeerbare disacharide lactulose, zal dit steeds het colon bereiken, waar het door de bacterieflora wordt afgebroken onder vorming van H<sub>2</sub>. In zeldzame gevallen, waarschijnlijk 1-2% van de bevolking, is de bacterieflora niet in staat lactulose af te breken of de H<sub>2</sub> die gevormd wordt, wordt door andere bacteriën direct weer verbruikt (Bond en Levitt, 1974 en 1975). Afgezien hiervan zal na toediening van lactulose de H<sub>2</sub>-excretie in de uitademingslucht steeds toenemen. Deze toename treedt op 4-5 minuten nadat de eerste hoeveelheid lactulose in het coecum is aangekomen (Bond en Levitt, 1975). De tijd die verloopt tussen de lactulose-toediening en het tijdstip waarop de H<sub>2</sub>-excretie begint te stijgen, is een maat voor de passagetijd door de dunne darm. De gemeten tijd is vanzelfsprekend ook afhankelijk van de maagontleding. Men kan daarom beter spreken van de passagetijd van mond naar coecum.

7.2 Onderzochte personen en toegepaste methoden

Bij 20 proefpersonen werd de H<sub>2</sub>-excretie in de uitademingslucht bepaald na toediening van 26 g lactulose. Bij 12 van de proefpersonen werden de ademmonsters verkregen met de single breath methode en werd de H<sub>2</sub>-concentratie gaschromatografisch bepaald. Bij de overige 8 werd het onderzoek uitgevoerd met het H<sub>2</sub>-ademtest apparaat (3.8). Voor het onderzoeksprotocol van de lactulose-H<sub>2</sub>-ademtest: zie 3.6.

Bij 4 proefpersonen werd het onderzoek herhaald na toediening van 13 g lactulose.

Aangezien in zeldzame gevallen de toename van de H<sub>2</sub>-excretie in de uitademingslucht (ten opzichte van de nuchtere waarde) na toediening van lactulose zeer gering kan zijn, stelden wij ons de vraag bij welke laagste waarde van deze toename nog van een

stijging kon worden gesproken. Daartoe werd de reproduceerbaarheid van de single breath methode en van het H<sub>2</sub>-ademtest apparaat bepaald bij lage H<sub>2</sub>-concentraties. Als maat hiervoor werd de gemiddelde duplo-SD van ademmonsters met H<sub>2</sub>-concentraties van 0-40 ppm bepaald. Op grond hiervan werd de SD van de maximale stijging van de H<sub>2</sub>-concentratie (de maximale H<sub>2</sub>-concentratie verminderd met de nuchtere waarde) geschat door:

$$\sqrt{2 \times (\text{gemiddelde duplo-SD})^2}$$

Hieruit werd een 95% betrouwbaarheidsinterval opgesteld voor de verwachte maximale stijging van de H<sub>2</sub>-concentratie voor elk van beide methoden.

### 7.3 Resultaten

De passagetijd bij 20 proefpersonen, bepaald na toediening van 26 g lactulose, varieerde van 15-90 minuten en bedroeg gemiddeld 46 minuten ( $\pm$  20 SD).

Bij de 4 proefpersonen die met 13 g lactulose werden onderzocht, varieerde de passagetijd van 60-125 minuten (gemiddeld 106 min.  $\pm$  31 SD).

Deze resultaten komen redelijk overeen met die van Bond en Levitt (1975). Zij vonden met een dosis van 20 g lactulose bij 9 proefpersonen een passagetijd van 40 min. ( $\pm$  8 SD). Met 10 g lactulose bij dezelfde 9 proefpersonen was deze tijd 94 min. ( $\pm$  14 SD). Scarpello e.a. (1976) vonden met een dosis van 13 g lactulose bij 8 proefpersonen een passagetijd van 71 minuten.

De klachten tijdens de belasting met lactulose varieerden sterk. Sommigen hadden in het geheel geen klachten, terwijl enkele anderen 1-3 maal dunne ontlasting hadden na 26 g lactulose. De meesten voelden wat rommelingen in de buik en hadden meer last van flatulentie, maar vonden het onderzoek niet belastend.

De gemiddelde duplo-SD van 22 duplo-ademmonsters, verkregen met de single breath methode, met H<sub>2</sub>-concentraties van 0-40 ppm was 2,2 ppm. Het op grond hiervan berekende 95% betrouwbaarheidsinterval was de verwachte maximale stijging van de H<sub>2</sub>-concentratie  $\pm$  6 ppm.

Van 22 duplo-ademmonsters met  $H_2$ -concentraties van 0-40 ppm verkregen met het  $H_2$ -ademtest apparaat, bedroeg de gemiddelde duplo-SD 3,2 ppm. Het hieruit berekende 95% betrouwbaarheidsinterval was de verwachte maximale stijging van de  $H_2$ -concentratie  $\pm 9$  ppm.

Het bovenstaande betekent dat een gevonden maximale stijging van de  $H_2$ -concentratie niet significant van 0 afwijkt (onbetrouwbaarheid 0,05) als deze met de single breath methode  $\leq 6$  ppm en met het  $H_2$ -ademtest apparaat  $\leq 9$  ppm is. Op grond hiervan werd het resultaat van de lactulose- $H_2$ -ademtest positief genoemd als de stijging van de  $H_2$ -concentratie (dit is de maximale waarde verminderd met de nuchtere waarde) bij de single breath methode groter was dan 6 ppm en negatief bij een stijging van 6 ppm of minder. Zo werd bij het  $H_2$ -ademtest apparaat de test positief genoemd bij een stijging van meer dan 9 ppm en negatief als de stijging 9 ppm of minder bedroeg.

Op een totaal van 27 proefpersonen en patiënten vonden wij tweemaal een zeer lage  $H_2$ -excretie na toediening van 26 g lactulose. De maximale stijging van de  $H_2$ -concentratie verminderd met de nuchtere waarde was bij de 2 proefpersonen 5 ppm (single breath methode) resp. 14 ppm ( $H_2$ -ademtest apparaat). Op grond van de hierboven genoemde criteria was de eerste test negatief en de tweede test positief.

#### 7.4 Discussie

De gepresenteerde gegevens bij 20 proefpersonen werden verzameld om het meten van de passagetijd van mond naar coecum met deze methode te leren kennen en om deze te kunnen gebruiken als referentiewaarden bij later te onderzoeken patiënten. Immers het meten van de passagetijd vergroot ons inzicht in bepaalde ziekteprocessen. Zo tocnden Bond en Levitt (1977a) aan dat patiënten die een maagresectie hadden ondergaan en klaagden over diarree een versnelde dunne darm passage hadden hetgeen gepaard ging met glucosemalabsorptie. Scarpello e.a. (1976) vonden een verlengde passagetijd bij patiënten met suikerziekte en neuropathie, terwijl diabetici zonder neuropathie een normale passagetijd hadden. Metz e.a. (1976d) vonden bij sommige patiënten met darmspruw een ver-

lengde passagetijd. Dezelfde onderzoekers bepaalden de passagetijd bij 15 patienten die onderzocht werden wegens diarree. Bij 4 patienten was de passagetijd verkort. Van deze 4 bleken er bij nader onderzoek 2 te lijden aan hyperthyreoidie, terwijl 1 patient een medullaire schildkliertumor had. De vierde patient had een irritable bowel syndroom.

Deze gegevens uit de literatuur tonen aan dat het bepalen van de passagetijd met behulp van  $H_2$ -excretie van nut kan zijn bij het onderzoek van patienten met diarree.

## 7.5 Conclusies

Meting van de passagetijd van mond naar coecum door bepaling van de  $H_2$ -excretie in de uitademingslucht na toediening van lactulose is een zeer eenvoudig onderzoek en nauwelijks belastend voor de patient. De gemeten passagetijd is afhankelijk van de dosis lactulose die wordt toegediend.

DE H<sub>2</sub>-ADEMTEST VOOR HET ONDERZOEK VAN DE DARMFLOORA

8.1 Inleiding

Antibiotica en chemotherapeutica hebben evenals andere maatregelen die de bacterieflora van het maag-darmkanaal veranderen, invloed op de productie en mogelijk ook op het verbruik van H<sub>2</sub> door darmbacteriën. Volgens onderzoek van Murphy en Calloway (1972) nam de H<sub>2</sub>-excretie met de uitademingslucht na toediening van iodochlorhydroxychinoline toe, terwijl met neomycine bij sommigen een toename en bij anderen een afname van de H<sub>2</sub>-excretie werd gevonden. Een elementair dieet reduceert de flatusexcretie aanzienlijk (Davies, 1971).

De H<sub>2</sub>-excretie met de uitademingslucht hangt dus enerzijds af van het substraat dat de darmbacteriën wordt aangeboden en anderzijds van de samenstelling van de bacterieflora. Het effect van antibiotica of chemotherapeutica op de H<sub>2</sub>-excretie wordt bepaald door de invloed van deze middelen enerzijds op de H<sub>2</sub>-producerende en anderzijds op de H<sub>2</sub>-verbruikende flora.

8.2 Onderzochte personen en toegepaste methoden

Bij één patient werd de invloed van een elementair dieet op de H<sub>2</sub>-excretie nagegaan. Deze patient had een sclerodermie en had waterdunne diarree 10-11 maal per dag, alsook buikpijn na de maaltijden, borborygmi en flatulentieklachten. De sclerodermie was uitgebreid intestinaal gelocaliseerd en patient had bacteriële overgroei in de dunne darm. Röntgenologisch was het duodenum en jejunum verwijd en vertoonde weinig peristaltiek. De glucose-H<sub>2</sub>-ademtest en de <sup>14</sup>C-glycinecholzuur ademtest waren beide positief. De indicanexcretie in de urine was sterk verhoogd tot 1158 µmol/24 uur, echter de Schillingtest was normaal.

Met de single breath methode werden ademmonsters verkregen en de H<sub>2</sub>-concentratie werd gaschromatografisch bepaald. De H<sub>2</sub>-excretie werd bepaald na toediening van 26 g lactulose en op een andere dag na 50 g lactose. Beide H<sub>2</sub>-ademtesten werden herhaald nadat de patient gedurende 4 weken uitsluitend gevoed was



met een elementair dieet.

Om een indruk te krijgen over de effectiviteit van de methode waarop soms patiënten worden voorbereid voor operaties aan het colon, werden 7 proefpersonen onderzocht in de leeftijd van 18-22 jaar. Bij hen werd eerst de H<sub>2</sub>-excretie na toediening van 26 g lactulose bepaald (3.6). De uitvoering geschiedde met het H<sub>2</sub>-ademtest apparaat (3.8). Vervolgens ondergingen zij de volgende dag een colonspoeling. Hierbij werd gedurende 4-5 uur een fysiologische zoutoplossing (waaraan was toegevoegd 1 g KCL/l) via een dunne maagslang ingedruppeld met een snelheid van 1 liter per 40 à 50 minuten, totdat via de anus slechts waterheldere vloeistof werd geloosd. Direct hierna werd de lactulose-H<sub>2</sub>-ademtest herhaald. Na het beëindigen van de ademtest werden gedurende de rest van deze dag om de 4 uur 4 tabletten Nebacetine forte <sup>(R)</sup> gegeven. Dit combinatiepreparaat bevat per tablet 165 mg neomycine en 12.500 E bacitracine. Na de darmspoeling gebruikten de proefpersonen op die dag slechts een vloeibaar dieet. De volgende ochtend werd opnieuw een lactulose-H<sub>2</sub>-ademtest gedaan. Op deze wijze kon het effect van colonspoeling alléén en van colonspoeling gevolgd door een behandeling met Nebacetine forte onderzocht worden.

Het onderzoek bij de 7 proefpersonen verliep volgens het volgende schema:

- dag 1 - lactulose-H<sub>2</sub>-ademtest
  - hierna vloeibaar dieet toegestaan tot 24.00 uur
  - ± 14.00 uur 1 eetlepel magnesiumsulfaat
  - ± 18.00 uur 2 tabletten bisacodyl
  - vanaf 24.00 uur nuchter blijven
- dag 2 - colonspoeling
  - meteen hierna lactulose-H<sub>2</sub>-ademtest
  - hierna vloeibaar dieet toegestaan tot 22.00 uur
  - Nebacetine forte 3 doses van 4 tabletten om de 4 uur
  - vanaf 22.00 uur nuchter blijven
- dag 3 - lactulose-H<sub>2</sub>-ademtest

## 8.3 Resultaten

### 8.3.1 Het effect van een elementair dieet op de H<sub>2</sub>-excretie

Bij de patient met sclerodermie is het effect van een periode van elementair dieet op de H<sub>2</sub>-excretie weergegeven in tabel 29. Bepaald werd de maximale H<sub>2</sub>-excretie verminderd met de nuchtere waarde bij de lactose- en de lactulose-H<sub>2</sub>-ademtest, zowel in de periode vóór als na het elementaire dieet.

Tabel 29 EFFECT VAN EEN ELEMENTAIR DIEET OP DE H<sub>2</sub>-EXCRETIE BIJ EEN PATIENT MET SCLERODERMIE O.A. GELOCALISEERD IN DE DUNNE DARM

	Δ H <sub>2</sub> -concentratie vóór elementair dieet (ppm)	Δ H <sub>2</sub> -concentratie na elementair dieet (ppm)
Lactulose-H <sub>2</sub> -ademtest	110	0
Lactose-H <sub>2</sub> -ademtest	218	55

De H<sub>2</sub>-excretie tijdens de lactose-H<sub>2</sub>-ademtest was dus in aansluiting aan het elementaire dieet gereduceerd en die tijdens de lactulose-H<sub>2</sub>-ademtest tot 0 teruggebracht.

### 8.3.2 Het effect van colonspoeling en behandeling met Nebacetine forte op de H<sub>2</sub>-excretie

De resultaten bij de 7 proefpersonen zijn samengevat in tabel 30. De maximale H<sub>2</sub>-excretie verminderd met de nuchtere waarde tijdens de lactulose-H<sub>2</sub>-ademtest is weergegeven in drie perioden: eerst de uitgangswaarde (vóór de colonspoeling), dan de uitkomst direct na de colonspoeling en tenslotte de H<sub>2</sub>-excretie die resteerde na de combinatie van colonspoeling en de genoemde behandeling met Nebacetine forte.

Het effect van de colonspoeling wisselde. Bij 4 van de 7 proefpersonen trad een sterke reductie van de H<sub>2</sub>-excretie op. Echter bij proefpersoon 7 nam de H<sub>2</sub>-excretie toe na de colonspoeling. Bij deze was overigens de colonspoeling niet geheel

volledig geweest, omdat aan het einde nog bruin gekleurde vloeistof werd geloosd.

Tabel 30 EFFECT VAN COLONspoeling EN EEN HIEROPVOLGENDE BEHANDLING MET NEBACETINE FORTE OP DE H<sub>2</sub>-EXCRETIE TIJDENS EEN LACTULOSE-H<sub>2</sub>-ADEMTEST BIJ 7 PROEFPERSONEN

	Δ H <sub>2</sub> -concentratie uitgangswaarde  (ppm)	Δ H <sub>2</sub> -concentratie na colonspoeling  (ppm)	Δ H <sub>2</sub> -concentratie na colonspoeling + Nebacetine forte (ppm)
1	199	11	2
2	214	4	3
3	224	4	5
4	203	9	7
5	176	120	5
6	233	193	21
7	73	252	33

Het effect van de behandeling met colonspoeling + Nebacetine forte was zeer duidelijk. Bij 5 van de 7 proefpersonen daalde de H<sub>2</sub>-concentratie tot waarden die niet significant van 0 verschilden (7.3). Bij de beide andere was de daling zeer sterk. Dit effect berustte op de combinatie van mechanische reiniging (colonspoeling) en behandeling met Nebacetine forte. Het effect van antibiotica alléén dient nog onderzocht te worden.

Een duidelijk effect was ook merkbaar op de klachten tijdens de lactulose-H<sub>2</sub>-ademtest. Terwijl alle proefpersonen tijdens de eerste test klaagden over rommelingen in de buik en flatulentie, hadden allen behalve proefpersoon 7 géén klachten bij het derde onderzoek.

#### 8.4 Discussie

De vermindering van de H<sub>2</sub>-excretie na de periode van elementair dieet bij één patient, berust waarschijnlijk op een

reductie van de bacterieflora. Toch is het niet uitgesloten dat de afname van de H<sub>2</sub>-excretie mede veroorzaakt werd door een verlangzaming van de passagetijd door de dunne darm als gevolg van het elementaire dieet. Dat er van een werkelijk verschil tussen de waarden van de H<sub>2</sub>-excretie sprake is in de twee perioden, lijkt met name aannemelijk omdat wij met de lactulose-H<sub>2</sub>-ademtest bij proefpersonen steeds waarnamen dat het resultaat van de test positief bleef als deze een tweede keer bij dezelfde persoon werd uitgevoerd (3.5).

Het effect van verschillende antibiotica en chemotherapeutica op de H<sub>2</sub>-excretie is niet steeds gelijk. Door sommige neemt de H<sub>2</sub>-excretie af en door andere blijktbaar juist toe (Murphy en Calloway, 1972). Aangezien bepaalde bacterien meer dan andere tot H<sub>2</sub>-productie in staat zijn (o.a. coliforme bacteriën en Clostridia), kan het verdwijnen van de H<sub>2</sub>-excretie na een bepaalde antibiotische behandeling op reductie van deze bacteriestammen berusten. Een andere mogelijkheid is dat de antibiotische behandeling de groei van bacteriestammen die H<sub>2</sub> verbruiken heeft bevorderd (zoals de methaanbacteriën). Om hier meer inzicht in te krijgen is het noodzakelijk bacteriologisch onderzoek van verse feces te doen vóór en na de behandeling.

Voor een beter inzicht in het resultaat van bepaalde maatregelen die in de chirurgie in gebruik zijn om patienten voor te bereiden op chirurgische ingrepen aan het colon, lijkt de H<sub>2</sub>-ademtest een aanwinst.

## 8.5 Conclusies

Bij één patient met een sclerodermie van o.a. de dunne darm werd een duidelijke reductie van de H<sub>2</sub>-excretie na een periode van uitsluitend elementaire voeding vastgesteld. Dit past bij de bevinding van Davies (1971), dat de flatusproductie tijdens elementair dieet vermindert.

Bij 7 proefpersonen was het effect van colonspoeling alléén op de H<sub>2</sub>-excretie wisselend. Toediening van neomycine en bacitracine na voorafgaande colonspoeling elimineerde de H<sub>2</sub>-excretie vrijwel volledig of reduceerde deze in zeer sterke mate bij alle 7 proefpersonen. Deze gegevens tonen aan dat colonspoeling

alléén onvoldoende is als voorbereiding op een operatie aan het colon, in zo verre het gewenst is de bacterieflora in de dikke darm zoveel mogelijk tijdens en vlak na de operatie te elimineren. Nog nagegaan moet worden of een antibiotische behandeling alléén, zonder voorafgaande colonspoeling, ook voldoende effect heeft.

## SAMENVATTING

Het wetenschappelijk onderzoek van darmgassen is de laatste 10 jaar op gang gekomen. De bepaling van  $H_2$  in de uitademingslucht wordt sinds een vijftal jaren hier en daar toegepast voornamelijk om stoornissen in de vertering en absorptie van koolhydraten op te sporen. Een van de meest aantrekkelijke aspecten van deze methode van onderzoek is het niet belastende karakter ervan voor de patient en het feit dat het onderzoek zonder bezwaar vele malen bij één patient kan herhaald worden.

Voor het uitvoeren van de  $H_2$ -ademtest zijn 2 stappen nodig. Eerst moet uitademingslucht van de patient verkregen worden en vervolgens moet hierin de  $H_2$ -concentratie bepaald worden. Door sommige onderzoekers, met name Levitt en medewerkers, werd overwegend gebruik gemaakt van een rebreathing methode om uitademingslucht te verkrijgen. Deze methode is erg betrouwbaar, maar de patient moet gedurende 4-5 minuten aangesloten blijven op een gesloten systeem, zoals een spirometer. Op eenvoudiger manier kan gemengde expiratielucht worden opgevangen. Tenslotte werd door Metz en medewerkers in 1976 de single breath methode ingevoerd. Bij alle drie methoden waarmee monsters expiratielucht worden verkregen, werd de  $H_2$ -concentratie in de ademmonsters gaschromatografisch bepaald.

In dit onderzoek werden eerst enkele methoden om uitademingslucht te verkrijgen met elkaar vergeleken. Daarom werd de single breath methode (3.2.2), die door haar eenvoud erg aantrekkelijk leek, op haar betrouwbaarheid onderzocht door vergelijking met de rebreathing methode. Het bleek (3.3) dat de single breath methode voor een kwalitatieve beoordeling van de  $H_2$ -ademtest evenveel informatie gaf als de meer ingewikkelde rebreathing methode, ondanks het feit dat de reproduceerbaarheid van het verkrijgen van ademmonsters (inclusief de analyse ervan) met de single breath methode minder goed was. Voor een (semi-) kwantitatieve beoordeling van de  $H_2$ -excretie is de single breath methode echter ongeschikt.

De analyse van de uitademingslucht kan gaschromatografisch nauwkeurig geschieden. Wij vonden een zeer lage gemiddelde duplo-

SD van 2 ppm bij duplo-analyses van 75 ademmonsters met een H<sub>2</sub>-concentratie tussen 0 en 310 ppm (3.1; tabel 2).

De betrekkelijke grote variatie die de H<sub>2</sub>-excretie vertoont als eenzelfde test, meerdere malen bij één persoon wordt uitgevoerd, heeft 3 oorzaken: a de variatie die ontstaat bij het nemen van de ademmonsters; b de variatie die ontstaat door factoren die moeilijk te controleren zijn, zoals de flatusexcretie en de psychische toestand van de patient en c de variatie die berust op de gaschromatografische analyse. Deze laatste factor is waarschijnlijk de kleinste. De variatie die ontstaat bij het verkrijgen van de ademmonsters speelt een grotere rol, met name bij de single breath methode. Wij vonden nl. binnen één H<sub>2</sub>-ademtest met de rebreathing methode een variatiecoëfficiënt die 7% was (3.2.1; tabel 3) bij analyse van duplo-ademmonsters en met de single breath methode 17% (3.2.2; tabel 5). De grootste oorzaak van de variatie tussen H<sub>2</sub>-ademtesten bij eenzelfde persoon (fig. 10 en 11), lijkt gelegen te zijn in factoren die moeilijk te controleren zijn, zoals de flatusexcretie. Niettemin was de reproduceerbaarheid van de H<sub>2</sub>-ademtest bij eenzelfde persoon óók met de single breath methode goed in zoverre het om een kwalitatieve beoordeling (pos/neg) ging en mits het onderzoekprotocol goed gevolgd werd (3.5).

De single breath methode was naar onze ervaring zeer eenvoudig en doelmatig. Echter omdat voor de analyse van ademmonsters een betrekkelijk kostbaar instrument als een gaschromatograaf nodig is, werd naar een eenvoudiger onderzoekmethode gezocht. Daarbij werden wij gestimuleerd door Bergman e.a. (1975), die een eenvoudige, draagbare gaschromatograaf ontwikkelden, welke in combinatie met de single breath methode om uitademingslucht te verkrijgen, goed bleek te voldoen (Scarpello e.a., 1976). Door de Instrumentele Dienst van het St. Radboud Ziekenhuis te Nijmegen werd in nauw overleg het H<sub>2</sub>-ademtest apparaat (3.8) ontwikkeld. Hiermee worden de ademmonsters volgens een single breath methode verkregen, waarna de analyse op eenvoudige wijze aansluitend gebeurt, zonder tussenkomst van enig personeel. Het apparaat is klein en handzaam. Het kan in elke onderzoekruimte opgesteld worden, alsook naast het ziekbed van de patient. Het enige dat de patient hoeft te doen is via een slangetje diep in het apparaat uit te blazen. De analyse volgt hierop onmiddellijk,

zonder dat de ademmonsters bewaard of getransporteerd hoeven te worden. Na eenmalige instructie kan de patient de test zelfstandig uitvoeren. Er kan bij 3 patienten tegelijk een H<sub>2</sub>-ademtest gedaan worden. De reproduceerbaarheid van de analyse was even goed als die met de gaschromatograaf (vergelijk tabel 11 met tabellen 1 en 2). De reproduceerbaarheid van het verkrijgen van de ademmonsters (inclusief de analyse) met het H<sub>2</sub>-ademtest apparaat was vergelijkbaar met die van de single breath methode (vergelijk tabellen 12 en 5). Vergelijking van de uitkomsten, verkregen met dit nieuwe apparaat, met de rebreathing methode, toonde aan, dat de kwalitatieve beoordeling van 49 verschillende H<sub>2</sub>-ademtesten in alle gevallen overeenstemde (3.8).

De H<sub>2</sub>-ademtest werd op haar bruikbaarheid en betrouwbaarheid o.a. om koolhydraatmalabsorptie op te sporen onderzocht op verschillende manieren en bij een aantal groepen patienten (hoofdstuk 4 t/m 8).

Met de lactose-H<sub>2</sub>-ademtest (hoofdstuk 4) kan lactosemalabsorptie worden aangetoond. De test bleek niet alleen positief te zijn bij patienten met een primaire lactasedeficientie, maar o.a. ook bij bacteriele overgroei in de dunne darm en bij vormen van lactosemalabsorptie die waarschijnlijk berusten op een versnelde passage door de dunne darm (figuur 22). De correlatie met de LIT was goed (fig. 23) en die met de lactase-activiteit was redelijk goed (fig. 25). Een positieve lactose-H<sub>2</sub>-ademtest mag niet gelijk gesteld worden aan lactasedeficientie. Wel wijst een positieve test steeds op een abnormale afbraak van lactose in het darmkanaal.

Een gestoorde glucose-H<sub>2</sub>-ademtest (hoofdstuk 5) wijst naar onze ervaring op bacteriele afbraak van glucose in het darmkanaal. Dit kan zowel op bacteriele overgroei berusten (met afbraak van glucose in de dunne darm) als op glucosemalabsorptie (met als gevolg glucosevergiftiging in het colon). Een methode werd ontwikkeld om beide mogelijkheden van elkaar te onderscheiden. Door röntgenologische meting van de passagetijd door de dunne darm te combineren met simultane bepaling van de H<sub>2</sub>-excretie in de uitademingslucht (5.3.4), kan worden vastgesteld of



de H<sub>2</sub>-productie in de dunne darm of in het colon plaatsvindt. Om bacteriele overgroei in de dunne darm op te sporen is de glucose-H<sub>2</sub>-ademtest zeker geschikt, met name als de overgroei proximaal in de dunne darm gelocaliseerd is. Bij een positieve test moet echter ook met andere oorzaken rekening worden gehouden (5.3.2), hetgeen uiteraard evenzeer geldt voor alle andere indirecte methoden om bacteriele overgroei in de dunne darm aan te tonen, zoals de <sup>14</sup>C-glycinecholzuur ademtest (5.3.3), de indicanexcretie, de Schillingtest enz.

In hoofdstuk 6 worden de eerste resultaten gepresenteerd van de toepassing van de H<sub>2</sub>-bepaling in uitademingslucht om zetmeelmalabsorptie aan te tonen. Deze oriënterende gegevens wijzen er op, dat bij patienten die een uitgebreide resectie van de dunne darm hebben ondergaan, met de H<sub>2</sub>-bepaling een indruk over de absorptiecapaciteit van het restant dunne darm kan worden verkregen. Of de test ook voldoende gevoelig is om de zetmeelmalabsorptie zoals deze kan voorkomen bij pancreasinsufficiëntie aan te tonen, zal nader onderzoek moeten uitwijzen.

Het meten van de passagetijd van mond naar coecum kan op eenvoudige wijze met de lactulose-H<sub>2</sub>-ademtest gedaan worden (hoofdstuk 7). Dit werd uitgevoerd bij 20 proefpersonen, maar nog niet bij patienten.

Een interessante toepassingsmogelijkheid van de H<sub>2</sub>-ademtest is ook onderzoek naar beïnvloeding van de darmflora. Enkele resultaten werden in hoofdstuk 8 beschreven. Bij 7 proefpersonen werd het effect nagegaan van maatregelen om de darmen te "steriliseren" als voorbereiding op chirurgische ingrepen aan het colon. Hierbij werd lactulose toegediend na voorafgaande reiniging van het colon door een colonspoeling, gevolgd door toediening van een combinatie van neomycine en bacitracine gedurende één dag. Met colonspoeling alleen werd in ruim de helft van de gevallen duidelijk effect gezien, terwijl door de combinatie van colonspoeling met neomycine-bacitracine de H<sub>2</sub>-excretie na lactulose-toediening in alle gevallen sterk werd gereduceerd en bij 5 van de 7 personen vrijwel tot 0 werd teruggebracht (8.3.2; tabel 30).

Naar onze mening is bepaling van de H<sub>2</sub>-excretie in de uit-

ademingslucht een eenvoudige, niet belastende onderzoeksmethode, waarmee de vertering en absorptie van koolhydraten kan worden onderzocht en stoornissen hierin op elegante wijze kunnen worden aangetoond.

## SUMMARY

It is only in the last ten years that scientific investigations into intestinal gases have been carried out. It is also five years ago that a start was made with the occasional application of determining hydrogen ( $H_2$ ) in breath, mainly for the detection of abnormalities in the digestion and absorption of carbohydrates. One of the most attractive sides of this method is that it does not cause the patient any inconvenience and may be repeated several times in one patient.

For a  $H_2$ -breath test to be performed, 2 steps are needed. Firstly, to collect from the patient a breath sample and secondly, to measure the  $H_2$ -concentration in it. Some investigators, especially Levitt and coworkers, mainly used a rebreathing method for the collection of breath samples. This method is very reliable, but the patient needs to be connected for 4-5 min. to a closed system e.g. a spirometer. Others simply collected exhaled air. Recently Metz and coworkers introduced the single breath method. In all three systems for the collection of breath samples, the  $H_2$ -concentration in the samples was measured using gas chromatography.

In the present investigation (chapter 3) a few methods for collecting breath samples were compared. The single breath method (3.2.2), which seemed to be an attractive one because of its simplicity, was compared with the rebreathing method. It was shown (3.3) that the qualitative information obtained from the single breath method was the same as that from the more complicated rebreathing method, despite the fact that the reproducibility of the breath sampling was less good in the single breath method (compare tables 3 and 5). However, for a (semi-) quantitative determination of the  $H_2$ -excretion, the single breath method is not suitable.

The exhaled air can be analysed accurately by gas chromatography. We found a very good reproducibility by duplicate analysis of 75 breath samples with  $H_2$ -concentration from 0 - 310 ppm (3.1; table 2).

The considerable variation in the  $H_2$ -excretion seen when a

test was repeated in the same person, has 3 reasons: a the variation that results from the breath-sampling, b the variation resulting from factors which can hardly be controlled fully, such as the flatus excretion and the psychological condition of the patient, and c the variation due to the gas chromatographic analysis. The last factor probably plays the smallest role in the observed variation. Obtaining the breath samples makes a larger contribution to it, especially when the single breath method is used. We found within one H<sub>2</sub>-breath test with the rebreathing method a coefficient of variation of 7% (3.2.1; table 3) when duplicate breath samples were analysed, whereas with the single breath method the coefficient of variation was 17% (3.2.2; table 5). The major reason for the variation between H<sub>2</sub>-breath tests within one person (fig. 10 and 11) seems to be caused by factors which are difficult to control, like the flatus excretion. Nevertheless, the reproducibility of the H<sub>2</sub>-breath test in the same person was good, even with the single breath method, as long as the result of the test is judged in a qualitative way only and if the test is carried out as prescribed (3.5).

The single breath method in our experience was very simple and easily applicable. For the analysis of the breath samples, however, a gas chromatograph is needed, which is a rather expensive piece of equipment. Therefore we tried to find a simpler way of performing the test. We were stimulated by Bergman et al (1975), who developed a simple and portable gas chromatograph, which was quite suitable when combined with the single breath method (Scarpello et al, 1976). In the Engineering Division of St. Radboud's Hospital, Nijmegen, the H<sub>2</sub>-breath test apparatus was developed in close cooperation with us (3.8). With this instrument breath samples are obtained with a single breath method after which the samples are analysed immediately, without the aid of any technical personnel. The apparatus is compact and easy to operate. It can be placed in any examination-room, as well as next to the patient's bed. The only thing the patient has to do, is to exhale deeply through a tube into a hole in the apparatus. Analysis of the breath sample follows directly, so that storage or transport of the samples is not required. After a single instruc-

tion most patients can perform the test all by themselves. Three patients may do a test at the same time. The reproducibility of the analysis was as good as with the gas chromatograph (compare table 11 with tables 1 and 2). The reproducibility of the breath sampling (analysis included) was in the range of that obtained from the single breath method (compare tables 12 and 5). The qualitative interpretation of the test results, obtained from the new apparatus and simultaneously from the rebreathing method, was the same in 49 different H<sub>2</sub>-breath tests (3.8).

The H<sub>2</sub>-breath test was evaluated and its reliability examined in different ways and in several groups of patients among other things for the detection of carbohydrate malabsorption (chapters 4 to 8).

With the lactose-H<sub>2</sub>-test (chapter 4) lactose malabsorption can be detected. The test was found to be positive, not only in patients with primary lactase-deficiency, but among other things also in cases of bacterial overgrowth in the small intestine and in cases of lactose malabsorption probably resulting from rapid small intestinal transit (fig. 22). The correlation with the lactose tolerance test was good (fig. 23). and with the lactase-activity rather good (fig 25). A positive lactose-H<sub>2</sub>-test does not always mean lactase-deficiency, but should be interpreted as evidence for an abnormality in the digestion of lactose.

An abnormal glucose-H<sub>2</sub>-test (chapter 5) indicates in our view bacterial degradation of glucose in the gut. This may be due to bacterial overgrowth (with degradation of glucose in the small bowel) as well as to glucose malabsorption (with subsequent fermentation of glucose in the colon). We developed a method to differentiate between both possible mechanisms in the case of a positive test. By combining radiological determination of small bowel transit time with the simultaneous measurement of breath H<sub>2</sub>-excretion after the administration of a mixture of glucose and barium to the patient (5.3.4), it can be shown whether the H<sub>2</sub>-production results from fermentation in the small bowel or in the colon. For the detection of bacterial overgrowth in the small intestine, the glucose-H<sub>2</sub>-test is definitely suitable, especially if the overgrowth is located in the proximal part of the small intestine. However, when the test is positive, one should consider other

possible causes as well (5.3.2). This equally holds for all other indirect tests in use for the detection of bacterial overgrowth, like the  $^{14}\text{C}$ -glycocholate breath test (5.3.3), the indican excretion in the urine, the Schillingtest etc.

In chapter 6 the first few results are presented of the application of the  $\text{H}_2$ -breath test for the detection of malabsorption of starch. These preliminary results show that in patients who had extensive small bowel resections, the  $\text{H}_2$ -breath test can be used to determine the absorption capacity of the remaining length of small intestine. Whether or not the test may prove to be sensitive enough to detect the malabsorption of starch, that may occur in pancreatic insufficiency, needs further investigation.

The mouth-to-coecum transit time may be determined in a simple way using the lactulose- $\text{H}_2$ -test (chapter 7). This was carried out in 20 healthy controls, but not yet in patients.

Another interesting application for the  $\text{H}_2$ -breath test is the investigation of the intestinal microflora. Some results are presented in chapter 8. In 7 healthy controls the effectiveness of measures aimed at "sterilising" the bowel, used in the preparation of patients for operations at the colon, was examined. Lactulose was administered after colonic lavage, followed by a combination of neomycine and bacitracine for one day. Colonic lavage alone had a considerable effect in half the cases, while the combination of colonic lavage with neomycine and bacitracine reduced the  $\text{H}_2$ -excretion after lactulose ingestion strongly in all cases and virtually eliminated it in 5 of 7 cases (8.3.2; table 30).

In our view the determination of  $\text{H}_2$  in breath is a simple and attractive method for studying the digestion and absorption of carbohydrates and for detecting abnormalities in it.

## LITERATUUR

- ABT AF, VON SCHUCHING SL: Fat utilisation test in disorders of fat metabolism. Bull John Hopkins Hosp 119: 316-330, 1966
- ASKEVOLD F: Investigations on the influence of diet on the quantity and composition of intestinal gas in humans. Clinical and Lab Invest 8: 87-94, 1956
- BEDELL GN, MARSHALL R, DUBOIS AB: Measurement of the volume of gas in the gastrointestinal tract. J Clin Invest 35: 336-345, 1956
- BEEKEN WL, KANICH RE: Microbial flora of the upper small bowel in Crohn's disease. Gastroenterology 65: 390-397, 1973
- BERGMAN I, COLEMAN JE, EVANS D: A simple gas chromatograph with an electrochemical detector for the measurement of hydrogen and carbon monoxide in the parts per million range, applied to expired air. Chromatographia 8: 581-583, 1975
- BHATIA SK, BELL TK, LOVE AHG, MONTGOMERY DAD: An evaluation of a test using <sup>14</sup>C labelled triglyceride in the diagnosis of steatorrhoea. Irish J Med Sci 2: 545-552, 1969
- BISHOP RF, ALLCOCK EA: Bacterial flora of the small intestine in acute intestinal obstruction. Br Med J 1: 766-770, 1960
- BOND JH, ENGEL RR, LEVITT MD: Factors influencing pulmonary methane excretion in man. J Exp Med 133: 572-588, 1971
- BOND JH, LEVITT MD: Use of pulmonary hydrogen (H<sub>2</sub>) measurements to quantitate carbohydrate absorption. J Clin Invest 51: 1219-1225, 1972
- BOND JH, LEVITT MD: Colonic conservation of carbohydrate. Clin Res 22: 355, 1974
- BOND JH, LEVITT MD: Investigation of small bowel transit time in man utilising pulmonary hydrogen (H<sub>2</sub>) measurements. J Lab Clin Med 85: 546-555, 1975
- BOND JH, LEVITT MD: Quantitative measurement of lactose absorption. Gastroenterology 70: 1058-1062, 1976
- BOND JH, LEVITT MD: Use of breath hydrogen (H<sub>2</sub>) to quantitate small bowel transit time following partial gastrectomy. J Lab Clin Med 90: 30-36, 1977a
- BOND JH, LEVITT MD: Use of breath hydrogen (H<sub>2</sub>) in the study of carbohydrate absorption. Am J Dig Dis 22: 379-382, 1977b
- BOND JH, LEVITT MD: A rational approach to intestinal gas problems. Viewpoints on digestive diseases 9: number 2, 1977c
- BRYANT MP: Interactions among intestinal microorganisms. Am J Clin Nutr 25: 1485-1487, 1972
- CALLOWAY DH: Respiratory hydrogen and methane as affected by consumption of gas-forming foods. Gastroenterology 51: 383-389, 1966
- CALLOWAY DH, MURPHY EL: The use of expired air to measure intestinal gas formation. Ann N Y Acad Sci 150: 82-95, 1968

CALLOWAY DH, MURPHY EL, BAUER D: Determination of lactose intolerance by breath analysis. Am J Dig Dis 14: 811-815, 1969

CASKEY DA, PAYNE-BOSE D, WELSH JD, GEARHART HL, NANCE MK, MORRISON RD: Effects of age on lactose malabsorption in Oklahoma native Americans as determined by breath H<sub>2</sub> analysis. Am J Dig Dis 22: 113-116, 1977

CHEN S, ZIEVE L, MAHADEVAN V: Mercaptans and dimethyl sulfide in the breath of patients with cirrhosis of the liver. J Lab Clin Med 75: 628-635, 1970a

CHEN S, MAHADEVAN V, ZIEVE L: Volatile fatty acids in the breath of patients with cirrhosis of the liver. J Lab Clin Med 75: 622-627, 1970b

CHEN I, AZMUDEH K, CONNELL AM, SAENGER EL: <sup>14</sup>C-tripalmitin breath test as a diagnostic aid for fat malabsorption due to pancreatic insufficiency. J Nucl Med 15: 1125-1129, 1974

CHRISTOPHER NL, BAYLESS TM: Role of the small bowel and colon in lactose-induced diarrhea. Gastroenterology 60: 845-852, 1971

CLUYSENAER OJJ: Malabsorption in coeliac sprue. Dissertatie Nijmegen, 1977

DAHLQUIST A: Assay of intestinal disaccharidases. Enzym biol clin 11: 52-66, 1970

DAHLQUIST A: The basic aspects of the chemical background of lactase deficiency. Postgraduate Med J 53: 57-64, 1977

DAVIES PJ: Influence of diet on flatus volume in human subjects. Gut 12: 713-716, 1971

DEBONGNIE JC, NEWCOMER AD, PHILLIPS SF: Small bowel function in lactase deficiency. Gastroenterology 72: 1046, 1977

DELLIPIANI AW, GIRDWOOD RH: Bacterial changes in the small intestine in malabsorptive states and in pernicious anaemia. Clin Sci 26: 359-374, 1964

DONALDSON RM: Normal bacterial populations of the intestine and their relation to intestinal function. New Eng J Med 270: 938-945, 1964

DOUWES AC, FERNANDES J, RIETVELD W: Hydrogen breath test in infants and children: sampling and storing expired air. Clin Chim Acta, accepted for publication, 1978

DORDONI B, THOMPSON RPH, WILLIAMS R: <sup>14</sup>C-ethanol breath test in alcoholic liver disease. Gut 16: 400, 1975

DRASAR BS, SHINER M: Studies on the intestinal flora. Part II: Bacterial flora of the small intestine in patients with gastrointestinal disorders. Gut 10: 812-819, 1969

DRASAR BS, SHINER M, McLEOD GM: Studies on the intestinal flora. Part I: The bacterial flora of the gastrointestinal tract in healthy and achlorhydric persons. Gastroenterology 56: 71-79, 1969



FERNANDES J, VOS CE, DOUWES AC, SLOTEMA E, DEGENHART HJ: Respiratory hydrogen excretion as a parameter for lactose malabsorption in children. *Am J Clin Nutr*, accepted for publication, 1977

FINEGOLD SM, SHEPHERD WE, SPAULDING EH: Practical anaerobic bacteriology. *Cumitech* 5: 1-14, 1977

FOGEL MR, GRAY GM: Starch hydrolysis in man: an intraluminal process not requiring membrane digestion. *J Appl Physiol* 35: 263-267, 1973

FROMM H, HOFMANN AF: Breath test for altered bile acid metabolism. *Lancet* 11: 621-625, 1971

FROMM H, THOMAS PJ, HOFMANN AF: Sensitivity and specificity in tests of distal ileal function: prospective comparison of bile and vitamin B<sub>12</sub> absorption in ileal resection patients. *Gastroenterology* 64: 1077-1090, 1973

GEARHART HL, BOSE DP, SMITH CA, MORRISON RD: Determination of lactose malabsorption by breath analysis with gas chromatography. *Anal Chem* 48: 393-398, 1976

GORBACH SL, NAHAS L, LERNER PJ, WEINSTEIN L: Studies of intestinal microflora I. Effects of diet, age en periodic sampling on numbers of fecal microorganisms in man. *Gastroenterology*: 53, 845-855, 1967a

GORBACH SL, PLAUT AG, NAHAS L, WEINSTEIN L: Studies of intestinal microflora II. Microorganisms of the small intestine and their relations to oral and fecal flora. *Gastroenterology* 53: 856-867, 1967b

GORBACH SL, TABAQCHALI S: Bacteria, bile and the small bowel. *Gut* 10: 963-972, 1969

GORBACH SL: Intestinal microflora. *Gastroenterology* 60: 1110-1129, 1971

GRAY CT, GEST H: Biological formation of molecular hydrogen. *Science* 148: 186-192, 1965

GRAY JDA, SHINER M: Influence of gastric pH on gastric and jejunal flora. *Gut* 8: 574-581, 1967

GRAY GM: Carbohydrate digestion and absorption. Role of the small intestine. *New Eng J Med* 292: 1225-1230, 1975

GRACEY M, BURKE V, ANDERSON CM: Association of monosaccharide malabsorption with abnormal small intestinal flora. *Lancet* 11, 384-385, 1969

GREENBERGER NJ, SAEGH S, RUPPERT RD: Urine indican excretion in malabsorptive disorders. *Gastroenterology* 55: 204-211, 1968

GREENLEE, HB, VIVIT R, PAEZ J, DIETZ A: Changes in intestinal microflora following peptic ulcer surgery. *Gastroenterology* 58: 955, 1970

GREENWALD AJ, ALLEN TH, BANCROFT RW: Abdominal gas volume at altitude and at ground level. *J Appl Physiol* 26: 177-181, 1969

DE GROOT R, VAN DEN BERG JWO, VAN BLANKENSTEIN M, FRENKEL M, HORNCHER P, WILSON JHP: Early and late deconjugation of bile acids in disorders of the small intestine. *Neth J Med* 19: 267-271, 1976

HAENEL H: Human normal and abnormal gastrointestinal flora. *Am J Clin Nutr* 23: 1433-1439, 1970

HAEX AJC, SEEDER WA, WEBBERS JPP: Ervaringen met een apparaat voor multiële zuigbiopsieën in het maagdarmkanaal. *Ned Tijdsch Geneesk* 107: 783-787, 1963

HAINES A, METZ G, DILAWARI J, BLENDIS L, WIGGINS H: Breath-methane in patients with cancer of the large bowel. *Lancet* 11: 481-483, 1977

HALDANE JS, PRIESTLEY BA: The regulation of the lung-ventilation. *J of Phys (London)* 32: 225-226, 1905

HEPNER GW, HOFMANN AF, THOMAS PJ: Metabolism of steroid and amino acid moieties of conjugated bile acids in man. *J Clin Invest* 51: 1889-1905, 1972

HEPNER GW, VESELL ES: Assessment of aminopyrine metabolism in man by breath analysis after oral administration of <sup>14</sup>C-aminopyrine. *New Eng J Med* 291: 1384-1388, 1974

HEPNER GW, VESELL ES: Quantitative assessment of hepatic function by breath analysis after oral administration of <sup>14</sup>C aminopyrine. *Ann Int Med* 83: 632-638, 1975

HEPNER GW, UHLIN SR, LIPTON A, HARVEY HA, ROHRER GV: Abnormal aminopyrine metabolism in patients with hepatic neoplasm. *JAMA* 236: 1587-1590, 1976

HORNCHER P, VAN BLANKENSTEIN M, BOOT J, FRENKEL M, DE GROOT R, HOYSET T, JACOBS EP, LOOY AJ: Detection of bile acid loss by means of labelled bile acids. *Folia Med Neerl* 15: 186-190, 1972

JAMES OFW, AGNEW JE, BOUCHIER IAD: Assessment of the <sup>14</sup>C-glycocholic acid breath test. *Br Med J* 3: 191-195, 1973

JENKINS DJA, GASSULL MA, LEEDS AR, METZ G, DILAWARI JB, SLAVIN B, BLENDIS LM: Effect of dietary fiber on complications of gastric surgery: prevention of postprandial hypoglycemia by pectin. *Gastroenterology* 73: 215-217, 1977

KAIHARA S, WAGNER HN: Measurement of intestinal fat absorption with carbon-14 labelled tracers. *J Lab Clin Med* 71: 400-411, 1968

KIRK E: The quantity and composition of human colonic flatus. *Gastroenterology* 12: 782-794, 1949

KIRMAIER N, REIS A: Die Messung reduzierender Gase mit Halbleitersensoren. Neue Möglichkeiten im biomedizinischen Bereich. *GIT Fachz Lab* 21: 106-109, 1977

KRETCHMER N: The geography and biology of lactose digestion and malabsorption. *Postgraduate Med J* 53: 65-72, 1977

LEEDS AR, GASSULL MA, METZ G, JENKINS DJA: Food: influence of form on absorption. *Lancet* 11: 1213, 1975

LENZ K: An evaluation of the "breath test" in Crohn's disease. Scand J Gastroenterology 10: 665-671, 1975

LEVITT MD, FRENCH P, DONALDSON RM: Use of hydrogen and methane excretion in the study of the intestinal microflora. J Lab Clin Med 72: 988-989, 1968

LEVITT MD: Production and excretion of hydrogen gas in man. New Eng J Med 281: 122-127, 1969

LEVITT MD, BOND JH: Volume, composition and source of intestinal gas. Gastroenterology 59: 921-929, 1970

LEVITT MD, DONALDSON RM: Use of respiratory hydrogen (H<sub>2</sub>) excretion to detect carbohydrate malabsorption. J Lab Clin Med 75: 937- 945, 1970

LEVITT MD: Volume and composition of human intestinal gas determined by means of an intestinal washout technic. New Eng J Med 1394-1398, 1971

LEVITT MD, DUANE WC: Floating stools - Flatus versus fat. New Eng J Med 286: 973-975, 1972

LEVITT MD, HASTINGS J, BERGGREN T: Hydrogen consumption in the gut (abstract). Clin Res 21: 518, 1973

LEVITT MD, BERGGREN T, HASTINGS J, BOND JH: Hydrogen (H<sub>2</sub>) catabolism in the colon of the rat. J Lab Clin Med 84: 163-167, 1974

LEVITT MD, ENGEL RR: Intestinal gas. Adv Intern Med 20: 151-165, 1975

LEVITT MD, LASSER RB, SCHWARTZ JS, BOND JH: Studies on a flatulent patient. New Eng J Med 295: 260-262, 1976

LEWIS R, GORBACH S: Modification of bile acids by intestinal bacteria. Arch Intern Med 130: 545-549, 1972

LOSOWSKY MS, WALKER BE, KELLEHER J: Malabsorption in clinical practice. Churchill Livingstone, Edinburgh and London, 1974

MAFFEI HVL, METZ GL, JENKINS DJA: Hydrogen breath test: adaptation of a simple technique to infants and children. Lancet I: 1110-1111, 1976

MALDONADO JE, GREGG JA, GREEN PA, BROWN AL: Chronic idiopathic intestinal pseudo-obstruction. The Am J Med 49: 203-212, 1970

MAYHEW SG, VEEGER C: Enzymatische vorming en oxidatie van H<sub>2</sub>. Chemisch Weekblad juli: 377-379, 1976

METZ G, BLENDIS LM, JENKINS DJA: Tests for lactose malabsorption in adults. Br Med J II: 751, 1975a

METZ G, JENKINS DJA, PETERS TJ, NEWMAN A, BLENDIS LM: Breath hydrogen as a diagnostic method for hypolactasia. Lancet I: 1155-1157, 1975b

METZ G, BLENDIS LM, JENKINS DJA: H<sub>2</sub> breath test for lactase deficiency. New Eng J Med 294: 730, 1976a

METZ G, GASSULL MA, DRASAR BS, JENKINS DJA, BLENDIS LM: Breath hydrogen test for small-intestinal bacterial colonisation. Lancet I: 668-669, 1976b

- METZ G, GASSULL MA, LEEDS AR, BLENDIS LM, JENKINS DJA: A simple method of measuring breath hydrogen in carbohydrate malabsorption by end-expiratory sampling. *Clin Sci Mol Med* 50: 237-240, 1976c
- METZ G, JENKINS DJA, BLENDIS LM: Lactulose-hydrogen (H<sub>2</sub>) breath test in health and disease. *Gut* 17: 397-398, 1976d
- METZ G, JENKINS DJA, NEWMAN A, BLENDIS LM: Breath hydrogen in hyposucrasia. *Lancet* I: 119-120, 1976e
- METZ G, JENKINS DJA: Breath hydrogen during sleep. *Lancet* I: 145-146, 1977
- MURPHY EL, CALLOWAY DH: The effect of antibiotic drugs on the volume and composition of intestinal gas from beans. *Dig Dis* 17: 639-642, 1972
- MÜTING VON D, BURGARD HJ: Zur quantitativen Bestimmung von Indican in Urin und Serum. *Z Klin Chem* 3: 46-49, 1965
- NEWCOMER AD, MCGILL DB: Distribution of disaccharide activity in the small bowel of normal and lactase-deficient subjects. *Gastroenterology* 51: 481-488, 1966
- NEWCOMER AD, MCGILL DB, THOMAS PJ, HOFMANN AF: Prospective comparison of indirect methods for detecting lactase deficiency. *New Eng J Med* 293: 1232-1236, 1975
- NEWCOMER AD, THOMAS PJ, MCGILL DB, HOFMANN AF: Lactase deficiency: a common genetic trait of the American Indian. *Gastroenterology* 72: 234-237, 1977
- NEWMAN A, KATSARIS J, BLENDIS LM, CHARLESWORTH M, WALTER LH: Small intestinal injury in women who have had pelvic radiotherapy. *Lancet* II: 1471-1473, 1973
- NEWMAN A: Breath-analysis tests in gastroenterology. *Gut* 15: 308-323, 1974
- NIELSEN JP: Trace constituents in breath as related to flatulence. Presented at Proceedings of 11th annual dry bean research conference. Convened by Western Regional Research Laboratory, United States Department of Agriculture. Denver, Colorado, p 49, 1961
- PAULING L, ROBINSON AB, TERANISHI R, CARY P: Quantitative analysis of urine vapor and breath by gas-liquid partition chromatography. *Proc Nat Acad Sci* 68: 2374-2376, 1971
- PLAUT AG, GORBACH SL, NAHAS L, WEINSTEIN L: Studies of intestinal microflora III. The microbial flora of human small intestinal mucosa and fluids. *Gastroenterology* 53: 868-873, 1967
- RANSOME-KUTI O: Lactose intolerance - a review. *Postgraduate Med J* 53: 73-87, 1977
- RICHARDS EA, STEGGERDA FR, MURATA A: Relationship of bean substrates and certain intestinal bacteria to gas production in the dog. *Gastroenterology* 55: 502-509, 1968
- RUGE E: Beiträge zur Kenntniss der Darmgase. *Chem Zentrabl* 7: 347-351, 1862
- RUTGEERTS L: Human enterokinase. *Dissertatie* Louven, 1973

- SALMON PR, READ AE, MCCARTHY CF: An isotope technique for measuring lactose absorption. *Gut* 10: 685-689, 1969
- SASAKI Y, IIO M, KAMEDA H, UEDA H, AOYAGI T, CHRISTOPHER NL, BAYLESS TM, WAGNER HN: Measurement of <sup>14</sup>C-lactose absorption in the diagnosis of lactase deficiency. *J Lab Clin Med* 76: 824-835, 1970
- SAVAGE DC: Associations of indigenous microorganisms with gastrointestinal mucosal epithelia. *Am J Clin Nutr* 23: 1495-1501, 1970
- SCARPELLO JHB, GREAVES M, SLADEN GE: Small intestinal transit in diabetics. *Br Med J* 2: 1225-1226, 1976
- SCHELINE RR: Metabolism of foreign compounds by gastrointestinal micro-organisms. *Pharmacological Reviews* 25: 451-523, 1973
- SCHILLING RF: Intrinsic factor studies. *J Lab Clin Med* 42: 860-866, 1953
- SCHLEGEL HG: Allgemeine Microbiologie: Hfd: Spezielle Gärungen. P 202-235, G Thieme Verlag, Stuttgart, 1969
- SCHWABE AD, COZZETTO FJ, BENNET LR, MELLINKOFF SM: Estimation of fat absorption by monitoring of expired radioactive carbon dioxide after feeding radioactive fat. *Gastroenterology* 42: 285-291, 1962
- SCIARRETTA G: Diagnosis of blind-loop syndrome by X-ray/breath-hydrogen test. *Lancet* I: 310-311, 1977
- SHERR HP, SASAKI Y, NEWMAN A, BANWELL JG, WAGNER HN, HENDRIX TR: Detection of bacterial deconjugation of bile salts by a convenient breath-analysis technic. *New Eng J Med* 285: 656-661, 1971
- SIMENHOFF ML, BURKE JF, SAUKKONEN JJ, ORDINARIO AT, DOTY RD: Biochemical profile of uremic breath. *New Eng J Med* 297: 132-135, 1977
- SOLOMONS NW, VITERI F: Breath hydrogen during sleep. *Lancet* II: 636, 1976
- SPECK RS, CALLOWAY D, HADLEY WK: Human fecal flora under controlled diet intake. *Am J Clin Nutr* 23: 1488-1494, 1970
- STEGGERDA FR, DIMMICK JF: Effects of bean diets on concentration of carbon dioxide in flatus. *Am J Clin Nutrition* 19: 120-124, 1966
- STEGGERDA FR: Gastrointestinal gas following food consumption. *Ann N Y Acad Sci* 150: 57-66, 1968
- SULLIVAN MA, SNAPE WJ, MATARAZZO SA, PETROKUBI RJ, JEFFRIES G, COHEN S: Gastrointestinal myoelectrical activity in idiopathic intestinal pseudo-obstruction. *New Eng J Med* 297: 233-238, 1977
- TABAQCHALI S: The pathophysiological role of small intestinal bacterial flora. *Scan J Gastroent Suppl* 6: 139-163, 1970
- TADESSE K, EASTWOOD M: Breath hydrogen test and smoking. *Lancet* II: 91, 1977
- TAMMELING GJ: Het residuaal volume en de functionele residuaal capaciteit. Proefschrift Groningen 77-119, 1958
- WEAST RC, SELBY SM: Handbook of chemistry and physics E3 Ed. by the Chemical rubber co., Cleveland, Ohio, 1966

WEBB JP: Influence of diet on quality of faecal fat in patients with and without steatorrhea. Gut 4, 37-41, 1963

WILSON FA, DIETSCHY JM: The intestinal unstirred layer: its surface area and effect on active transport kinetics. Biochimica et Biophysica Acta 363: 112-126, 1974

WITTENBERG J, LEVITT MD: Correlation of measured volume with radiologic appearance of intestinal gas in normal subjects. Investigative Radiology 5: 244-249, 1970

## WOORDEN VAN DANK

Tijdens het onderzoek ben ik getroffen door de grote mate van medewerking, die als vanzelfsprekend door zovelen werd gegeven, en door de vriendelijke manier waarop dit gebeurde. Van de velen noem ik enkelen graag met name.

Biny Ringnalda, hoofdanaliste van het laboratorium voor gasanalyse van de afdeling fysiologie (hoofd: Prof.Dr. F.J.A. Kreuzer) verleende zeer aanzienlijke hulp bij het analyseren van de ademmonsters. Zonder haar inzet was het niet mogelijk geweest zoveel gegevens in zo korte tijd te verzamelen.

Ir. J.P. van Oeveren, hoofd van de afdeling mechanika van de Instrumentele Dienst, is de geestelijke vader van het H<sub>2</sub>-ademtest apparaat. Op hem is ten volle van toepassing: eenvoud is het kenmerk van het ware.

Bijzonder erkentelijk ben ik voor de hulp van de verpleegkundigen van de afdeling gastroenterologie, in het bijzonder Ton van der Belt. Hun voortdurende bereidwilligheid heb ik als een vriendendienst ervaren. De artsen en internisten van de afdeling dank ik van harte voor hun loyale opstelling, waardoor het mij mogelijk was het onderzoek op tijd af te ronden.

Ir. Th. de Boo van de mathematisch-statistische adviesafdeling (hoofd: Drs. Ph. van Elteren) gaf nauwelijks te overschatten hulp bij de statistische bewerking van de gegevens.

Magda Stevens, analiste van de afdeling bacteriologie (hoofd: Dr. G.C.J. van der Ploeg) verrichtte met zorg het bacteriologisch onderzoek van jejunumvocht.

De analisten Ina Cornelissen en Ans Borgonjen van het histochemisch laboratorium (hoofden: Dr. A.G.W. Lansink en later Drs. R.M.W. de Waal) deden de lactasebepalingen in de jejunumbiopsen.

Naast bovengenoemden ben ik zeer erkentelijk voor de medewerking die ik mocht ondervinden van stafleden en medewerkers van de röntgenafdeling, de laboratoria van de afdeling inwendige geneeskunde, de tekenkamer en de afdeling medische fotografie.

Pat Mey, die al het typewerk verzorgde bedank ik niet omdat zij dat niet wilde. Maar ik ben erg blij dat zij het heeft willen doen.

## LEVENSLLOOP

Wij Dolmans werd geboren te Hulsberg op 26 april 1941. Na het gynasium  $\beta$  te Sittard doorlopen te hebben, studeerde hij geneeskunde te Nijmegen. Op 29 september 1967 legde hij het arts-examen af.

Hierna volgde hij een voorbereidingscursus van 2 maanden voor aanstaande tropenartsen aan het Instituut voor de Tropen te Amsterdam en was vervolgens een jaar lang assistent op de afdelingen chirurgie en verloskunde-gynaecologie van het Stadsmaten Ziekenhuis te Enschede. Van 1969 tot 1972 werkte hij in Sumve Hospital, Tanzania.

Enkele maanden na terugkeer begon hij in het St. Joseph Ziekenhuis te Eindhoven zijn opleiding tot internist (Dr. F.E. van Dam, Dr. P.F.L. Deckers, Dr. W.M.M. Driessen en Dr. H.A.M. de Rooy, internisten). Na 2 jaar werd de opleiding voortgezet in het St. Radboud Ziekenhuis te Nijmegen in de kliniek voor inwendige ziekten (hoofd: Prof.Dr. C.L.H. Majoor). Gedurende een half jaar kon hij, dank zij de onderzoekpool voor assistenten van de universiteit te Nijmegen, vrijgesteld worden van klinische werkzaamheden teneinde een groot gedeelte van het onderzoek te doen dat tot dit proefschrift heeft geleid. Op 15 mei 1977 werd hij geregistreerd als internist. Daarna bleef hij nog tot 1 november 1977 verbonden aan de kliniek voor inwendige ziekten.

Vanaf 1 maart 1978 zal hij werkzaam zijn als Senior Lecturer in Medicine aan de universiteit van Dar es Salaam, Tanzania.

Hij is getrouwd met Mechy van Oosterhout en heeft 3 kinderen; Brechje, Bastiaan en Wouter.









## STELLINGEN

- 1 De lactose-H<sub>2</sub>-ademtest geeft een juister inzicht in het al dan niet bestaan van lactosemalabsorptie dan bepaling van de lactase-activiteit in het jejunumbiopt.
- 2 Voor het opsporen van bacteriele overgroei in de dunne darm is de glucose-H<sub>2</sub>-ademtest te verkiezen boven de <sup>14</sup>C-glycinecholzuur ademtest.
- 3 Methaan, verkregen door vergisting van mest en stadsvuil, is een nog onvoldoende onderzochte energiebron, die - zeker in bepaalde delen van de wereld - een bijdrage kan leveren aan de oplossing van het energievraagstuk.
- 4 Armoede bepaalt in grotere mate het ziektepatroon in de tropen dan het warme klimaat.  
King M. Medical Care in Developing Countries, 1966.
- 5 De mutilaties die bij lepra kunnen voorkomen, zijn door gezondheidsvoorlichting en eenvoudige medische hulp vrijwel altijd te voorkomen.
- 6 De ontwikkeling van een vaccin tegen malaria met behulp van gameten, waardoor infertiliteit van de geslachtelijke stadia wordt opgeroepen, heeft epidemiologisch gezien, de voorkeur boven vaccinatie gericht op preventie van een zich bij het individu klinisch manifesterende parasitemie.
- 7 Bij patienten met een ernstige melkzuuracidose moet de mogelijkheid van cardiale beri-beri overwogen worden, met name als het alcoholisten betreft. De prognose van deze melkzuuracidose is uitstekend bij behandeling met thiamine-HCL.  
Majoor C.L.H. Alcoholism as a cause of beri-beri heart disease. J. Roy. Coll. Phycns 12: 143-152, 1978.
- 8 De uitkomsten van geneesmiddelen trials, waarbij geen controle op de inneming van het geneesmiddel plaatsvond, dienen gewantwoord te worden.

- 9 Speculaties over de relatie tussen een tekort aan "fiber" in het voedsel en allerlei kwalen van de westerse leefwijze, dienen pas tot medische adviezen aanleiding te geven als een causale relatie duidelijk is vastgesteld.
- 10 Het aanbieden van een sigaret dient uit het ceremonieel voor verwelkoming van gasten verwijderd te worden.

