

TECHNISCHE UNIVERSITÄT MÜNCHEN

II. Medizinische Klinik und Poliklinik

Klinikum rechts der Isar

(Direktor: Prof. Dr. Roland M. Schmid)

Neue diagnostische Ansätze zur spontan bakteriellen Peritonitis

Benjamin Johannes Matthias Winter

Vollständiger Abdruck der von der Fakultät für Medizin der Technischen Universität München zur Erlangung des akademischen Grades eines Doktors der Medizin genehmigten Dissertation.

Vorsitzender: Prof. Dr. Ernst J. Rummeny

Prüfer der Dissertation: 1. apl. Prof. Dr. Wolfgang L. E. Huber

2. Prof. Dr. Helmut Friess

Die Dissertation wurde am 26. 08. 2015 an der Technischen Universität München eingereicht und durch die Fakultät für Medizin am 19. 10. 2016 angenommen.

INHALTSVERZEICHNIS

Abkürzungsverzeichnis	1
I. Einleitung	3
1 <i>Leberzirrhose</i>	3
1.1 Definition	3
1.2 Epidemiologie.....	4
1.3 Ätiologie	6
1.4 Symptomatik	9
1.5 Diagnostik	9
1.5.1 Klinisch	10
1.5.2 Labor, Bildgebung und Histologie.....	11
1.5.3 Einteilung.....	12
1.6 Komplikationen.....	13
1.6.1 Aszites und Ödeme	13
1.6.2 Gerinnungsstörungen.....	14
1.6.3 Ikterus und hepatische Enzephalopathie.....	15
1.6.4 Varizen und portaler Hypertonus.....	15
1.6.5 Spontan bakterielle Peritonitis	16
1.6.5.1 Definition der SBP	16
1.6.5.2 Diagnostik der SBP	17
1.6.5.3 Therapie der SBP	18
1.7 Therapie der Leberzirrhose.....	20
2 <i>Fragestellung und Motivation</i>	21
II. Patienten und Methoden.....	24
1 <i>Medizinethik</i>	24
2 <i>Ein- und Ausschlusskriterien</i>	24
3 <i>Aszitesparazentese</i>	25
3.1 Punktion	26
3.2 Vorbereitung.....	27
3.3 Durchführung	27
3.4 Nachbehandlung.....	28
4 <i>Blutabnahme</i>	28

5	<i>Erfasste Parameter</i>	28
5.1	Laborwerte	29
5.1.1	Lipase	29
5.1.2	Laktatdehydrogenase	29
5.1.3	Gesamteiweiß	30
5.1.4	Glukose	31
5.1.5	Kreatinin	31
5.1.6	Albumin	31
5.1.7	Laktat	32
5.1.8	C-Reaktives Protein	32
5.1.9	Bilirubin	33
5.1.10	Blutgasanalyse	33
5.2	Zellzahl	33
5.3	Zelldifferenzierung	34
5.4	NGAL	34
5.5	Calprotectin	36
5.6	Klinische Parameter	37
5.7	Mikrobiologie	37
5.8	Leukozyten auf Urin-Reagenzstreifen	37
5.9	Scores	38
5.9.1	Child-Pugh	38
5.9.2	Model for End-Stage Liver Disease (MELD)	39
5.9.3	Acute Physiology And Chronic Health Evaluation II	40
6	<i>Statistische Auswertung</i>	41
6.1	Spearman Rangkorrelationskoeffizient	41
6.2	Mann-Whitney U-Test	41
6.3	Receiver Operating Characteristics (ROC) Kurven	42
6.4	Binäre logistische Regressionsanalyse	43
III. Ergebnisse	45
1	<i>Patienten</i>	45
1.1	Ätiologie und Funktionen	45
1.2	Alters- und Geschlechterverteilung	46
1.3	Biometrische Daten	48
1.3.1	Erkrankungsfortschritt	50
1.3.2	Child-Pugh-Score	50

1.3.3	MELD-Score	51
1.3.4	APACHE II-Score	52
1.4	Mikrobiologische Untersuchung und Antibiose	52
1.5	Analyse der Standarddiagnostik	53
1.5.1	Gesamtzellzahl	54
1.5.2	Neutrophile Granulozyten – der diagnostische Goldstandard	55
2	<i>Spezielle Statistische Auswertung</i>	56
2.1	Rangkorrelationen	56
2.2	Unterschiede in der zentralen Tendenz	59
2.2.1	Biometrische Daten	60
2.2.2	Krankheitsscores	61
2.2.3	Symptomatik und Ausprägung der Lebererkrankung	61
2.2.4	Unterschiede bei Seruminfektionsmarkern	62
2.2.5	Glukose und Serum Aszites Albumingradient	62
2.2.6	Unterschiede bei CRP, Laktat, Gesamteiweiß und Leukozyten	63
2.2.7	Zellzahl und Anzahl der Neutrophilen	66
2.2.8	LDH, NGAL und Calprotectin im Aszites	67
2.3	ROC-Kurven	69
2.3.1	Zellzahl und Neutrophilenzahl	69
2.3.2	Laktat, CRP, Gesamteiweiß und Leukozyten im Aszites	71
2.3.3	Laktatdehydrogenase im Aszites	73
2.3.4	NGAL im Aszites	75
2.3.5	Calprotectin im Aszites	76
2.4	Binäre logistische Regressionsanalyse	77
2.4.1	Regression mit erweiterten Infektionsparametern	78
2.4.2	Regression mit bereits etablierten Parametern	80
2.4.3	Regression aus zwei Dritteln des Datensatzes	82
IV. Diskussion		84
1	<i>Einführung</i>	84
2	<i>Hauptergebnisse</i>	85
2.1	Evaluation der einzelnen Infektionsparameter	85
2.1.1	Der Nutzen von Calprotectin in der SBP-Diagnostik	86
2.1.2	NGAL im Aszites als Infektionsparameter für die SBP?	87
2.1.3	Die LDH im Aszites als SBP-Marker	88
2.2	Kombination mehrerer Parameter	89
2.2.1	Diagnosepanel aus allen verfügbaren Infektionsmarkern	90

2.2.2 Vereinfachtes Diagnosepanel.....	91
2.3 Performanz der Diagnoseparameter im gesamten Datensatz	92
2.4 Schlussfolgerungen und Ausblick	94
2.5 Einschränkungen der Studie	96
3 Patientencharakteristika.....	96
3.1 Ätiologie, Biometrie, Alter und Geschlecht.....	96
3.2 Erkrankungsfortschritt	98
3.3 Mikrobiologische Untersuchung und Antibiose	99
4 Weitere Infektionsparameter.....	99
4.1 Gesamtzellzahl.....	99
4.2 Gesamteiweiß	101
4.3 CRP.....	102
4.4 Glukose	102
4.5 Leukozyten auf Urin-Teststreifen	103
4.6 Laktat	103
V. Zusammenfassung	105
Abbildungsverzeichnis	107
Literaturverzeichnis	110
Tabellenverzeichnis	128

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

SBP	spontan bakterielle Peritonitis
NASH	Nichtalkoholische Steatohepatitis
ASH	Alkoholische Steatohepatitis
STIKO	Ständige Impfkommission
PBC	primär biliäre Zirrhose
PSC	primär sklerosierende Cholangitis
HCC	Hepatozelluläres Karzinom
GABA	Gamma Amino Buttersäure
ZNS	Zentrales Nervensystem
i. S.	im Serum
i. A.	im Aszites
CHE	Cholinesterase
γ -GT	Gamma Glutamyl Transferase
AP	Alkalische Phosphatase
GLDH	Glutamatdehydrogenase
LAP	Leucinaminopeptidase

INR	International Normalized Ratio
LDH	Laktatdehydrogenase
NGAL	Neutrophilen gelatinase-assoziiertes Lipocalin
CRP	C-Reaktives Protein
ELISA	Enzyme-linked Immunosorbent Assay
CED	Chronisch entzündliche Darmerkrankung
APACHE II	Acute Physiology And Chronic Health Evaluation II
GCS	Glasgow Coma Scale
BMI	Body-Mass-Index
ROC	Receiver Operating Characteristics
FFP	Fresh Frozen Plasma
AUC	Area under the Curve – Fläche unter der Kurve
PoC	Point-of-Care
FDA	amerikanische Food and Drug Administration

I. EINLEITUNG

1 LEBERZIRRHOSE

1.1 Definition

Bei der Leberzirrhose handelt es sich um eine Erkrankung mit langer Entstehungszeit, die zumeist einen chronischen Verlauf nimmt. Als gemeinsames Endstadium vielfältiger schwerer Leberschädigungen kann sie durch verschiedene Noxen wie beispielsweise Alkohol, Viren, Medikamente und Toxine verursacht werden (Heidelbaugh and Bruderly 2006).

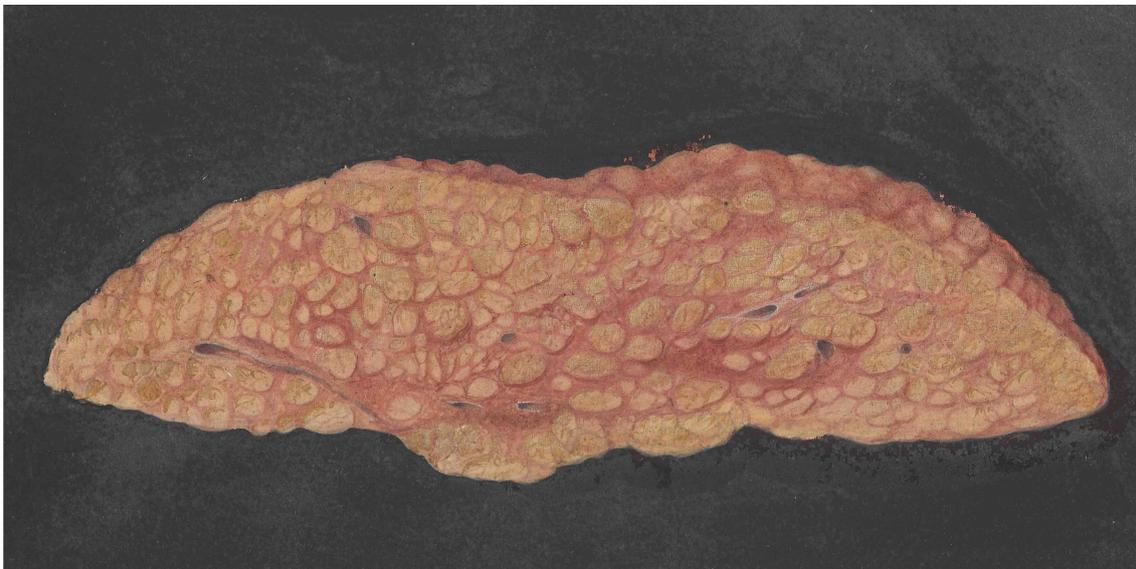


Abbildung 1: Makroskopisches Bild einer Leberzirrhose (Ghodart 2014)

Morphologisch definiert ist die Leberzirrhose durch ausgeprägte Fibrosierung sowie eine diffuse Zerstörung der Läppchen- und Gefäßstruktur. Hierbei kommt es durch Ausbildung bindegewebiger Septen und einer darauffolgenden nodulären Regeneration der Leber zu sogenannten Regeneratknoten (Abbildung 1) (Schuppan and Afdhal 2008).

Als histologisch makronodulären Typ bezeichnet man eine Leberzirrhose, bei der die Knoten mit einem Durchmesser von mehr als 3mm größer ausgeprägt sind (Anthony, Ishak et al. 1978). Bei Knoten kleiner als 3mm spricht man vom mikronodulären Typ und findet diesen üblicherweise bei Patienten mit ethyltoxischen Leberzirrhosen vor (Schuppan and Afdhal 2008, Berg 2009). Eine der Hauptproblematiken und Grundlage vieler weiterer Komplikationen der Leberzirrhose besteht in der mechanischen Einschränkung der Pfortaderperfusion. Der splanchnische Blutstrom wird aufgestaut, und kann wiederum zu weiteren schwerwiegenden Komplikationen führen (Schuppan and Afdhal 2008).

Durch den Rückstau bzw. den daraus resultierenden portalen Hypertonus treten aufgrund veränderter Druckverhältnisse Ödeme (peripher, Bauchwasser) und Umgehungskreisläufe auf (Tsochatzis, Bosch et al. 2014). Die hepatische Minderperfusion führt hingegen zu einer Mangelversorgung der Hepatozyten mit Sauerstoff und anderen essentiellen Substraten. Dadurch kommt es sowohl zu einer verminderten Leberfunktion (Biosynthese, Entgiftung) als auch zu einem weiteren Zelluntergang.

1.2 Epidemiologie

Eine Vielfalt an Risikofaktoren kann zu einer Leberzirrhose führen, die epidemiologisch ein folgenschweres Krankheitsbild darstellt.

Ursächlich sind im Wesentlichen die weltweit bedeutendste Suchterkrankung, der chronische Alkoholabusus, sowie virale Infektionen der Leber (Hepatitis B, C, D). Eine ältere Arbeit von 1991 und ein Großteil medizinischer Lehrbücher gehen von einer Inzidenz aus, die bei 250 Neuerkrankungen pro 100.000 Einwohner liegt. (Almdal and Sorensen 1991) Aus aktuelleren Studien in Großbritannien und Schweden lassen sich Zahlen zwischen 15,3 und 132,6 Neuerkrankungen pro 100.000 Einwohner entnehmen (Tsochatzis, Bosch et al. 2014).

Eine präzise Angabe der Prävalenz wird bei der Leberzirrhose dadurch erschwert, dass die Krankheit oft Jahre bis Jahrzehnte klinisch asymptomatisch bleibt. Deshalb kann sie nicht in allen Fällen medizinisch erfasst werden. In älteren Autopsiestudien aus Dänemark und Italien wurde die Häufigkeit postmortal diagnostizierter zirrhotischer Lebern zwischen 5% und knapp 10% angegeben, von denen ein Großteil nicht zu Lebzeiten diagnostiziert worden war (Graudal, Leth et al. 1991, Savolainen, Penttila et al. 1992).

Laut einer aktuellen italienischen Studie nehmen sowohl Inzidenz als auch Prävalenz weltweit deutlich zu (Grattagliano, Ubaldi et al. 2011). Das verdeutlicht, von welcher aktueller und zukünftiger Relevanz primäre und sekundäre Prävention sind (Williams, Aspinall et al. 2014). Gleichermäßen wichtig sind auch möglichst schnelle und verlässliche Diagnosetechniken sowie verbesserte Therapiemöglichkeiten der Zirrhose selbst und ihrer Komplikationen.

Sowohl Morbidität als auch Mortalität sind bei Männern etwa doppelt so hoch wie bei Frauen. Im Jahr 2012 starben laut statistischem Bundesamt 9.384 männliche und 4.317 weibliche Patienten an Alkoholischer Steatohepatitis, chronischen Hepatitiden sowie deren gemeinsamen Endstadien – Leberfibrosen und -zirrhosen.

Als Todesursache wird die Leberzirrhose mit offiziell 1,6% (entsprechend 13.901 Personen) der gesamten Todesfälle in Deutschland eher unterschätzt. Man geht von einer erheblich höheren Dunkelziffer aus; so starben viele Patienten an Komplikationen, obwohl die Lebererkrankung die eigentlich entscheidende Ursache des Ablebens darstellte (Statistisches Bundesamt 2012).

1.3 Ätiologie

Zur Einschätzung der Prognose spielen die Ätiologie und entsprechende Screening-Maßnahmen eine bedeutsame Rolle, da "in vielen Fällen durch eine Therapie der Grunderkrankung eine weitere Progression verhindert und sogar eine Rückbildung der Zirrhose erreicht werden" kann (Wiegand and Berg 2013). Eine Bestimmung der Ätiologie gelingt in ca. 85-90% (Charlton, Kondo et al. 1997).

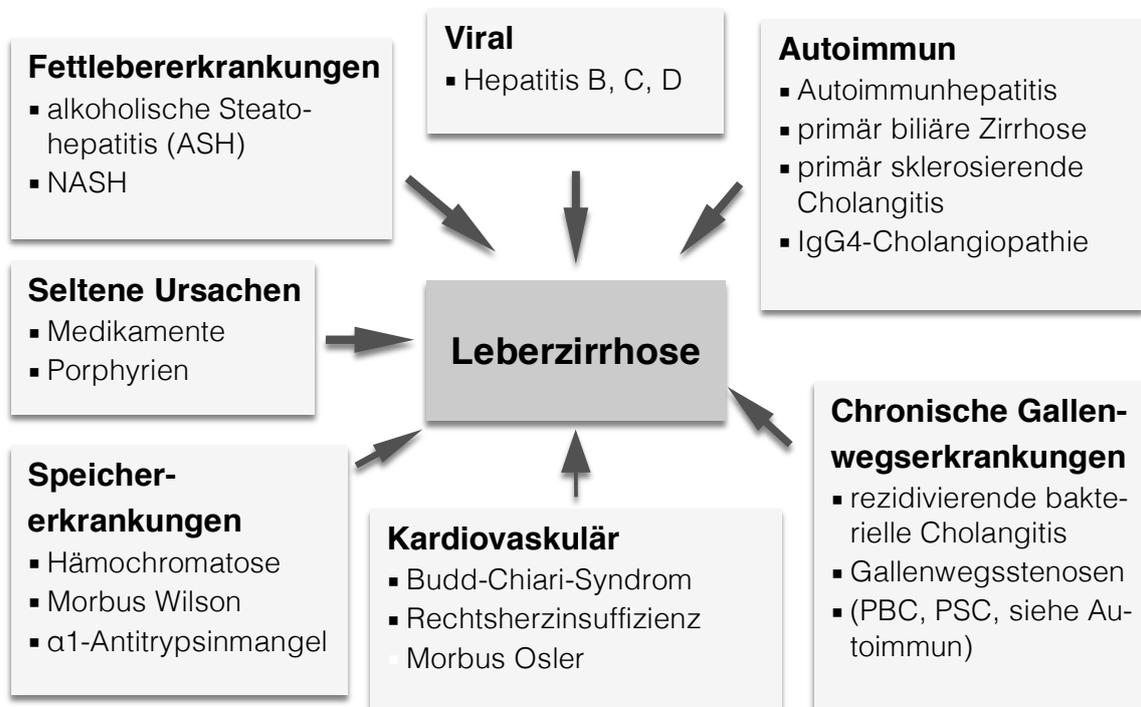


Abbildung 2: Ätiologie der Leberzirrhose (Wiegand and Berg 2013)

Grundsätzlich kann eine Zirrhose “auf dem Boden eines exogen-toxischen, infektiösen, toxisch-allergischen, immunpathologischen beziehungsweise autoimmunen, vaskulären oder endogenmetabolischen (hereditären) Prozesses entstehen” (Wiegand and Berg 2013).

In den westlichen Industrienationen steht nach wie vor der chronische Alkoholabusus an erster Stelle der schädigenden Noxen (Heidelbaugh and Bruderly 2006). So zeigte sich in einer Studie unter niedergelassenen Gastroenterologen in den USA, dass 44% der neu diagnostizierten Lebererkrankungen alkoholischer Genese und bei weiteren 20% eine Kogenese von Alkohol und Hepatitis-C festzustellen war (Bell, Manos et al. 2008). In Lehrbüchern der Inneren Medizin wird von ca. 50% alkoholischer Genese ausgegangen. Abhängig von Geschlecht und Konstitution kann eine tägliche reine Ethanolmenge von 12–25g ausreichen, um langfristig zur Entstehung einer Zirrhose beizutragen (European Association for the Study of the Liver 2012).

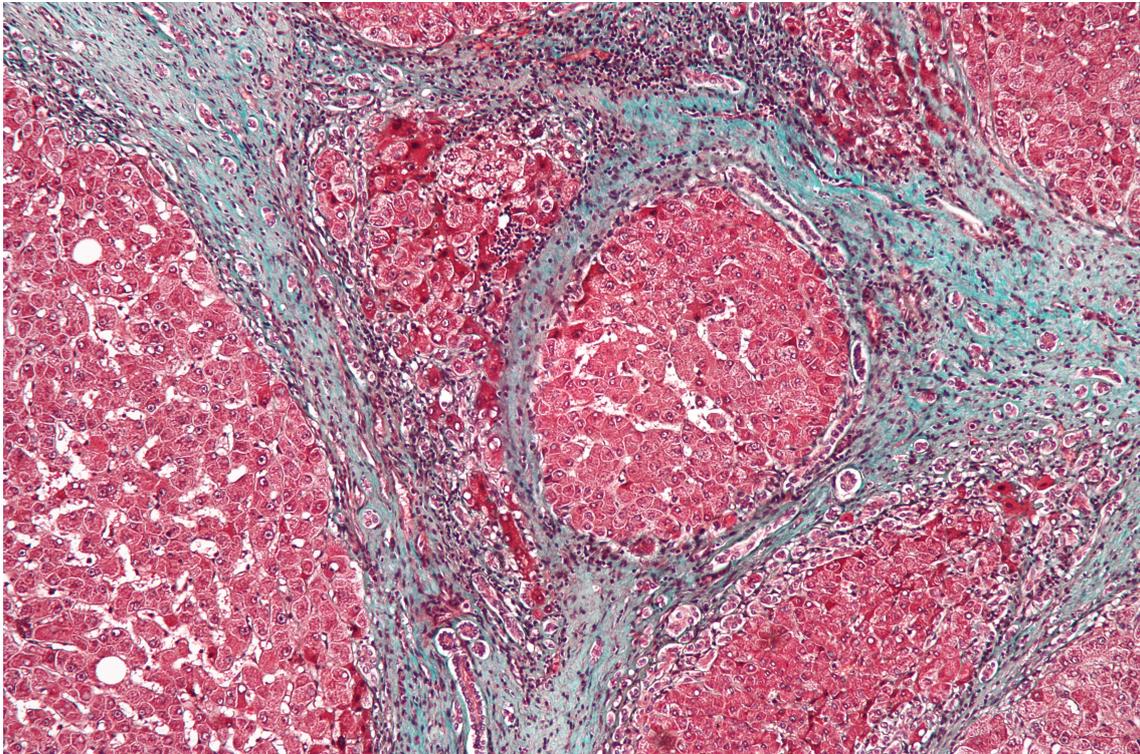


Abbildung 3: Alkoholische Leberzirrhose, Trichromfärbung (Nephron 2009)

Als histologisches Korrelat wird bei der alkoholbedingten Leberzirrhose die diffuse mikronoduläre Umwandlung der Leber mit Regeneratknoten kleiner als 3mm gesehen (Abbildung 3) (Fauci, Braunwald et al. 2008). Auch Mallory-Denk Körperchen und Megamitochondrien deuten auf eine alkoholische Genese hin (European Association for the Study of the Liver 2012).

Den zweithäufigsten Risikofaktor stellt, mit einem Anteil von über 35% in den Industrienationen, die Gruppe der Virushepatitiden dar. Die Hepatitis-C ist, gefolgt von -B und -D, mit Abstand die häufigste (Wiegand and Berg 2013). Ungefähr 80% der mit dem Hepatitis-C-Virus (HCV) in Kontakt geratenen Personen entwickeln eine chronische Hepatitis-C, welche wiederum in 20-30% der Fälle über einen Zeitraum von 20-30 Jahren zu einer Leberzirrhose führt. Da häufig zusätzlich ein langjähriger Alkoholabusus besteht, lässt sich die genaue Inzidenz der ausschließlich durch die Hepatitis-C verursachten Zirrhosen schwer ermitteln. Die Hepatitis-B-Impfung wird heutzutage durch die STIKO als Präventionsmaßnahme für Kinder empfohlen. Dieser Schritt sowie die zusätzlich verbesserten Kontrollen von Blutkonserven führten in Europa zu einem deutlichen Rückgang viraler Hepatitiden (Fauci, Braunwald et al. 2008).

Auch Autoimmunhepatitiden stellen einen Risikofaktor für eine Leberzirrhose dar. Wie häufig bei autoimmunen Prozessen sind bei der Hepatitis autoimmuner Genese insbesondere Frauen betroffen (Fauci, Braunwald et al. 2008).

Ein weiterer pathogenetischer Prozess, der eine Leberzirrhose begünstigen kann, ist die Stenosierung der intra- oder extrahepatischen Gallewege. Der daraus resultierende insuffiziente Gallenabfluss führt zu einer Zerstörung von hepatischem Gewebe und langfristig zu Vernarbungsprozessen.

Epidemiologisch weniger bedeutsame Risikofaktoren für eine Leberzirrhose sind:

Leberstoffwechselerkrankungen (M. Wilson, Hämochromatose, u. a.), und Exposition gegenüber hepatotoxischen Medikamenten oder Substanzen (z. B. Paracetamol, Isoniazid, Phosphor).

Auch kardiovaskuläre Erkrankungen wie das Budd-Chiari Syndrom sowie eine Rechtsherzinsuffizienz und einige tropische Infektionskrankheiten können ursächlich für eine irreversible Zerstörung von Lebergewebe sein (Heidelbaugh and Bruderly 2006).

1.4 Symptomatik

Die Symptome bei Patienten mit einer kompensierten Leberzirrhose sind vielfältig und oft unspezifisch: Müdigkeit, Gewichtsverlust, erhöhte Blutungsneigung, Ödeme an den unteren Extremitäten, Durchfall oder Juckreiz können allesamt auftreten und sollten im Patientengespräch erörtert werden (Heidelbaugh and Bruderly 2006, Runyon 2011). Schwere Muskelkrämpfe können ebenfalls auf eine Leberzirrhose hindeuten (Abrams, Concato et al. 1996, Angeli, Albino et al. 1996, Baskol, Ozbakir et al. 2004).

1.5 Diagnostik

Neben der Anamnese bedarf es verschiedener weiterer diagnostischer Maßnahmen eine Leberzirrhose sicher zu erkennen und schnellstmöglich eine bedarfsgerechte Behandlung einleiten zu können.

1.5.1 Klinisch

Abhängig von Stadium und individueller Ausprägung der Leberzirrhose kann das klinische Bild der Patienten stark variieren. Initial asymptomatische Verläufe und chronisch bestehende unspezifische Krankheitszeichen, wie Müdigkeit und Abgeschlagenheit, können eine Zirrhose lange verschleiern. Deutlichere Hinweise geben die klinisch erfassbaren Leberhautzeichen (Ikterus, Palmar- und Plantarerythem, Caput medusae, Spider Naevi siehe unten, Gynäkomastie, Dupuytren'sche Kontrakturen, etc). Die schwerwiegendsten und häufig auch zum Ableben der Patienten führenden Ausprägungen und Komplikationen sind die spontan bakterielle Peritonitis (Aszites), Ösophagusvarizen (portaler Hypertonus), hepatische Enzephalopathie, etc..



Abbildung 4: Spider naevi bei einem Patienten mit Leberzirrhose (Fred and van Dijk 2008)

Palpatorisch kann sich die Leber sowohl verkleinert als auch vergrößert darstellen und weist oft eine verhärtete sowie höckrige Oberflächenstruktur auf.

Bei ca. 75% der Patienten lässt sich zusätzlich zu den hepatischen Veränderungen eine Splenomegalie ertasten.

Auch der Nachweis des Undulationsphänomens am Abdomen ist ein klinischer Hinweis auf das Vorliegen von Aszites.

Zunächst werden beide Hände flach an die Flanken des Patienten in Rückenlage gelegt. Nach Beklopfen mit der einen Hand soll an der kontralateralen Seite eine durch das Bauchwasser weitergeleitete Wellenbewegung erspürt werden.

1.5.2 Labor, Bildgebung und Histologie

Mittels laborchemischer Parameter kann die verminderte Syntheseleistung und Stoffwechselaktivität der Leber abgeschätzt werden (Cholinesterase↓, Bilirubin↑, Quick↓, Antithrombin↓, Albumin i.S.↓). Aus diesen Parametern können Indices gebildet werden, die Anhalt für eine Fibrose oder Zirrhose geben können (Wai, Greenson et al. 2003, Rosenberg, Voelker et al. 2004, Poynard, Halfon et al. 2007). Auch kann in ca. 80% eine Hypergammaglobulinämie sowie ein erhöhter Ammoniakspiegel festgestellt werden. Letzterer führt häufig zu einer apparenten hepatischen Enzephalopathie, welche oft einen Intensivaufenthalt notwendig macht.

Je nach Ätiologie der Zirrhose kann z. B. auch eine Leberzellschädigung (Transaminasen, GLDH, γ -GT) oder Erkrankungen der Gallwege z. B. eine Cholestase (AP, γ -GT, LAP) labortechnisch festgestellt werden (Wai, Greenson et al. 2003, Rosenberg, Voelker et al. 2004, Poynard, Halfon et al. 2007).

Mittels Sonographie wird die Leber schnell, einfach und kostensparend untersucht. Bei einer Zirrhose stellt sich im Ultraschall häufig die auch klinisch palpable unregelmäßige und wellige Leberoberfläche dar (Castera and Pinzani 2010). Außerdem kommt es oft zu einer auffälligen Rarefizierung der Lebervenen erkennbar.

Bei einer portalen Hypertonie kann dopplersonographisch eine verminderte maximale Flussgeschwindigkeit von unter 12cm/s im Hauptstamm der vena portae festgestellt werden. In maximaler Ausprägung zeigt sich sogar eine Flussumkehr oder Pendelfluss.

Mithilfe des sonographischen Fibroscans (transiente Elastografie) können fortgeschrittene Fibrose- und Zirrhosestadien relativ zuverlässig und nicht-invasiv erkannt werden (Friedrich-Rust, Ong et al. 2008, Roulot, Costes et al. 2011).

Die sonographiegesteuerte Punktion des Lebergewebes, mit anschließender Histologie, stellt vor allem in frühen Erkrankungsstadien die sensitivste Diagnostik dar. Aufgrund der Invasivität und den damit verbundenen möglichen Komplikationen verbietet sich eine leichtfertige Indikationsstellung (Tannapfel, Dienes et al. 2012).

1.5.3 Einteilung

Anhand des Child-Pugh-Scores kann die Leberzirrhose mithilfe labortechnischer und klinischer Parameter in die drei Schweregrade A, B und C eingeteilt werden. Mit jedem Schweregrad geht eine bestimmte Prognose einher (siehe Abbildung 10) (Child and Turcotte 1964).

Als ein guter Verlaufsprädiktor für eine schwerwiegende transplantationspflichtige Lebererkrankung wird stets auch der MELD Score ermittelt (Wiesner, McDiarmid et al. 2001). Er wird von für Organspenden zuständigen Organisationen (z. B. Eurotransplant) zur Beurteilung und Auswahl passender Patienten für eine bevorstehende Lebertransplantation herangezogen (Wiesner, Edwards et al. 2003).

1.6 Komplikationen

Wie bereits eingangs beschrieben sind die Fibrosierung der Leber, die Verlegung der transhepatischen Blutbahn und der damit verbundene Zelluntergang für viele der schwerwiegenden Komplikationen verantwortlich. Es gibt jedoch auch andere Ursachen die eine Leberzirrhose so gefährlich machen (Heidelbaugh and Sherbondy 2006).

Die gesunde Leber produziert einen Großteil der Proteine im Blutserum des Menschen. Diese Eiweiße erfüllen dabei verschiedenste lebensnotwendige Funktionen.

1.6.1 Aszites und Ödeme

Das Albumin macht den größten Anteil der Serumproteine aus. Es dient der Aufrechterhaltung des kolloidosmotischen Druckes im Blut und erfüllt als Trägerprotein hydrophober Moleküle (Bilirubin, Medikamente) weitere wichtige Aufgaben.

Häufig tritt im Verlauf einer Leberzirrhose ein Albuminmangel auf. In dessen Folge kommt es u. a. zu Flüssigkeitseinlagerungen im umliegenden Gewebe (Ödeme) und den großen Körperhöhlen (Pleuraergüsse, Aszites, siehe Abbildung 5) (Wittenburg, Tennert et al. 2011). Die Flüssigkeit innerhalb des Peritoneums kann dabei Mengen von mehreren Litern erreichen. Oft kommt es im Verlauf zu starken Schmerzen und pulmonalen Einschränkungen.



Abbildung 5: Durch Aszites gespanntes Abdomen (Hellman 2011)

1.6.2 Gerinnungsstörungen

Weitere in der Leber produzierte Proteine sind die Gerinnungsfaktoren (II, V, VII, IX, X, XI, XII, XIII, Anithrombin III, Protein C, Protein S) sowie Thrombopoetin. In physiologischen Mengen sind sie für die ordnungsgemäße Blutgerinnung im Organismus zuständig. Nicht nur die Stillung externer Blutungen ist bei Störungen im Gerinnungssystem eingeschränkt. Medizinisch oft schwerwiegender sind kleine intravasale Verletzungen, die meist erst an Folgesymptomen erkannt werden können. Ein Mangel an Gerinnungsfaktoren führt zu einer erhöhten Blutungsneigung und kann sich in schweren, häufig auch letalen hämorrhagischen Ereignissen klinisch äußern.

1.6.3 Ikterus und hepatische Enzephalopathie

Mit dem zunehmenden Untergang von Lebergewebe und Hepatozyten nimmt die Fähigkeit des Organs ab, eine weitere essentielle Funktion zu übernehmen: Die Verstoffwechslung und der Abtransport von schädlichen Substanzen.

Die endogenen Stoffwechselprodukte Bilirubin, Ammoniak, Mercaptane, GABA und Fettsäuren führen zu den häufigsten Symptomen und Komplikationen der Leberzirrhose.

Kommt es zu einer Anhäufung des Hämoglobin-Abbau-Produkts Bilirubin über ca. 2mg/dl im Serum, lagert sich dieses zunächst in den Skleren ab. Im weiteren Verlauf lässt es sich auch in anderen Geweben etwa Haut und Schleimhäuten sowie Urin und Stuhl nachweisen. Diese Farbveränderung wird als Ikterus, im allgemeinen Sprachgebrauch auch treffend als Gelbsucht bezeichnet. Neben der Gelbfärbung in den erwähnten Geweben und eventuell damit verbundener Stigmata kann der Ikterus auch zu unangenehmen Erscheinungen wie Pruritus führen.

Viel schwerwiegender ist allerdings das Krankheitsbild der hepatischen Enzephalopathie. Diese wird durch eine Akkumulation der eingangs aufgeführten neurotoxischen Substanzen, insbesondere des Ammoniaks, hervorgerufen. Dabei kann es von eher milden Symptomen wie Konzentrations- und Aufmerksamkeitsstörungen über relativ spezifische motorische Erscheinungen wie der Asterixis („flapping tremor“) bis hin zum Koma („coma hepaticum“) führen.

1.6.4 Varizen und portaler Hypertonus

Der stark reduzierte transhepatische Blutfluss führt zu einem erhöhten portalen Druck (normal: 3-6mmHg, erhöht: >12mmHg). Durch die ein-

geschränkte Passierbarkeit dieses Hauptflusses werden druckbedingt alternative Gefäßbahnen verstärkt perfundiert. Diese Umgehungskreisläufe tragen zur Entstehung schwerwiegender Komplikationen bei. So stellen z. B. die häufigen Ösophagusvarizen, insbesondere in Verbindung mit einer erhöhten Blutungsneigung, eine große Gefahr für obere gastrointestinale Blutungen dar. Derartige Blutungsergebnisse gehen aufgrund der großen Fulminanz mit einer erheblichen Mortalität einher. Als eine symptomatische Behandlung eines portalen Hypertonus lässt sich in fortgeschrittenen Krankheitsstadien ein Transjugulärer intrahepatischer portosystemischer Stent-Shunt (TIPSS) in Erwägung ziehen. Dabei wird die hepatische Blutpassage mittels Stent-Shunt auf direktem Wege umgangen. Zu beachten ist dabei, dass eine hepatische Enzephalopathie eine Kontraindikation darstellt, da die neurotoxischen Substanzen so auf direktem Weg ins Gehirn gelangen.

1.6.5 Spontan bakterielle Peritonitis

1.6.5.1 *Definition der SBP*

Die spontan bakterielle Peritonitis ist definiert als eine Entzündung des Peritoneums bei Aszites ohne feststellbare intraabdominelle und operativ behebbare Ursache. Dabei gelangen Bakterien durch Translokation aus dem Darmlumen in die Peritonealhöhle und rufen dort eine Infektion hervor (Runyon, Squier et al. 1994, Garcia-Tsao, Lee et al. 1995).

Pathophysiologisch werden verschiedene Mechanismen als unmittelbare Ursache der SBP angenommen.

Einerseits kann eine bakterielle Überwucherung des Darmes mit Gram-negativen Keimen sowie eine Permeabilitätsstörung der Darmmukosa eine direkte Durchwanderung begünstigen. Andererseits kann

auch eine Verminderung der humoralen und komplementvermittelten (C3b) Infektabwehr im Aszites zu einer Infektion führen (Guarner, Runyon et al. 1997).

Meist tritt die SBP in den fortgeschrittenen Stadien einer Leberzirrhose auf, in denen bereits ein refraktärer Aszites besteht. Ungefähr 1,5-3,5% der ambulanten und ca. 10% der stationären Patienten mit Aszites entwickeln eine SBP (European Association for the Study of the Liver 2010).

Aszites selbst ist die häufigste Komplikation einer Leberzirrhose. Patienten mit einer kompensierten Zirrhose entwickeln Aszites in ca. 60% innerhalb eines Krankheitsverlaufs von zehn Jahren. Falls der Organismus die eingeschränkten Leberfunktionen nicht mehr suffizient kompensieren kann und schwerwiegende Komplikationen auftreten, wird die Leberzirrhose als dekompenziert bezeichnet.

1.6.5.2 Diagnostik der SBP

Bei Hospitalisation von Patienten mit Aszites sowie bei jedem Verdacht auf eine SBP sollte unverzüglich eine Aszitespunktion erfolgen. Diese findet möglichst vor Beginn einer antibiotischen Therapie statt (Chinnock, Afarian et al. 2008). Zu den suspekten Symptomen zählen u. a. Fieber, Bauchschmerzen, Vigilanzeintrübung und Blutdruckabfall. Dieses sehr unspezifische Bild macht die Diagnosestellung von einer Labortechnischen Untersuchung abhängig.

Eine aufwändige manuelle oder maschinelle Zählung und Differenzierung der Zellen im Aszites gilt immer noch als Goldstandard zur Diagnosesicherung (Angeloni, Nicolini et al. 2003).

Als SBP-positiv gelten dabei Patienten mit mehr als 250/ μ l neutrophilen Granulozyten oder einer Gesamtzellzahl von mehr als 500/ μ l in der Aszitesflüssigkeit. Zusätzlich darf keine chirurgisch behebbare

Ursache für die Entzündung bestehen (Jones 1977, Albillos, Cuervas-Mons et al. 1990, Rimola, Garcia-Tsao et al. 2000).

Um das Keimspektrum der Infektion zu ermitteln sollten bei Abnahme jeweils ein anaerobes und ein aerobes Blutkulturfläschchen beimpft werden. Wie bei allen Probeentnahmen zur weiteren mikrobiellen Untersuchung ist es dabei essentiell steril zu arbeiten, um eine Kontamination zu vermeiden. Diese Sorgfalt gewährleistet ein unverfälschtes Abbild des in der Probe enthaltenen Keimspektrums. Je nach Indikation kann auch die Bestimmung von Albumin, Gesamteiweiß, Glukose, Laktatdehydrogenase (LDH), Amylase und Bilirubin sinnvoll sein.

Bei einem Großteil der Patienten stellt eine erhöhte INR keine Kontraindikation für eine Punktion dar, da das Risiko einer Blutungskomplikation relativ gering ist (Runyon 1986, Grabau, Crago et al. 2004). Die üblichen Gerinnungs-Labortests können das Blutungsrisiko bei Patienten mit Leberzirrhose nur unzureichend darstellen (Mannucci 2006).

Insbesondere der Faktor Zeit spielt bei der Diagnostik der SBP eine entscheidende Rolle; so geht eine möglichst frühzeitig erfolgte Punktion mit einer deutlich geringeren Sterblichkeit einher. Die grundsätzlich bereits sehr hohe Mortalität (Garcia-Tsao 2001, Umgelter, Reindl et al. 2009) steigt mit jeder Stunde Verzögerung der Therapie um 3,3% (Runyon 2014).

1.6.5.3 Therapie der SBP

Bei Patienten mit dem Verdacht auf SBP sollte unverzüglich eine empirische, antibiotische Therapie in die Wege geleitet werden. Als Anzeichen dafür gelten neben bestehendem Aszites eine erhöhte Temperatur über 37,8°C, Bauchschmerzen und Vigilanzeintrübung. Wenn möglich sollte die Therapie erst nach einer therapeutischen Punktion mit Kulturbeimpfung begonnen werden.

Die eingesetzten Antibiotika sollten je nach zu erwartendem Keimspektrum des Klinikums bzw. der vermuteten Ansteckungsart (nosokomial oder ambulant) intravenös verabreicht werden. In den meisten Fällen handelt es sich bei den Erregern um Gram-negative Aerobier wie *Escherichia coli* sowie Anaerobier (Klebsiellen). Es treten jedoch auch häufig Infektionen mit Staphylokokken und Streptokokken auf. Obwohl eine mikrobiologische Untersuchung zur Standarddiagnostik zählt, ist ein Keimnachweis in vielen Fällen nicht möglich (Gerbes, Gulberg et al. 2011).

Aufgrund einer mit 30-50% immer noch sehr hohen Mortalität der SBP (Garcia-Tsao 2001, Umgelter, Reindl et al. 2009) und einem nur selten positiven Keimnachweis wird in den klinischen Leitlinien initiale eine Breitbandantibiose empfohlen. Zunächst sollte ein intravenös applizierbares Cephalosporin der dritten Generation, wie beispielsweise Cefotaxim, verabreicht werden (European Association for the Study of the Liver 2010, Runyon 2014). Als Alternative gilt eine anfangs intravenös, im weiteren Verlauf oral applizierte Kombination aus Amoxicillin und Clavulansäure. Dabei werden vergleichbare Heilungsraten und Mortalität bei geringeren Kosten erreicht. Diese Ergebnisse beruhen jedoch bisher nur auf einer Studie mit geringen Fallzahlen und sollten durch weitere Untersuchungen bestätigt werden (Ricart, Soriano et al. 2000). Die dritte vergleichbare Alternative Ciprofloxacin aus der Gruppe der Fluorchinolone spielt aufgrund der deutlich höheren Kosten klinisch eine eher untergeordnete Rolle (European Association for the Study of the Liver 2010).

Falls die Zellzahl in den ersten beiden Therapietagen nicht auf unter 25% des Ausgangswertes abfällt, ist eine Resistenz der Erreger gegen das verwendete Antibiotikum oder eine sekundäre Peritonitis in Betracht zu ziehen. In diesem Fall sollte die Medikation möglichst nach einem vorher erstellten Antibiogramm modifiziert werden. In dem

häufigen Fall einer ausbleibenden mikrobiellen Besiedelung muss die antibiotische Therapie eskaliert werden, was häufig mit einer weiter erhöhten Mortalität einhergeht (Umgelter, Reindl et al. 2009). Dabei wird häufig auf Carbapeneme und Vancomycin zurückgegriffen. Bei schweren Krankheitsbildern kann bereits initial mit diesen Antibiotika therapiert werden. Eine zweite Punktion zur Therapiekontrolle binnen 48 Stunden ist demnach empfehlenswert.

Weitere Anhaltspunkte für ein Therapieversagen sind exazerbierende klinische Symptome, die ebenfalls eine Indikation für eine erneute Punktion darstellen.

Von einer Heilung ist auszugehen, wenn die Zahl der neutrophilen Granulozyten in der Zelldifferenzierung wieder unter 250/ μ l liegt und in den Kulturen eine sterile Aszitesflüssigkeit bestätigt werden kann.

1.7 Therapie der Leberzirrhose

Die Therapie der Leberzirrhose lässt sich in fünf Bereiche gliedern:

Allgemeinmaßnahmen wie Alkoholkarenz und Verzicht auf alle potentiell lebertoxischen Substanzen sind essentiell. Ernährungstechnisch ist auf eine ausreichende Kalorien- und Proteinzufuhr (Nicht bei hepatischer Enzephalopathie) zu achten. Bei Bedarf sollte auch eine Vitaminsubstitution erfolgen, z. B. Folsäure und Thiamin bei alkoholkranken Patienten.

Die Behandlung der Grunderkrankung zählt ebenfalls zu den therapeutischen Grundpfeilern. So sollte bei einer toxischen Zirrhose eine unbedingte Karenz der Noxe eingehalten werden. Autoimmunhepatitiden sind mit Immunsuppressiva, virale ggf. mit Virostatika zu behandeln. Bei den Speicherkrankheiten wird eine Senkung des Serum-Eisens bzw. -Kupfers angestrebt.

Beim Auftreten von Komplikationen ist es essentiell diese adäquat zu behandeln um ein weiteres Überleben zu gewährleisten.

Es besteht eine deutlich erhöhte Wahrscheinlichkeit für ein hepatozelluläres Karzinom auf Basis einer Leberzirrhose. Bei Verdacht auf diesen Malignom steht mit dem α -Fetoprotein ein sehr guter, auch als Screeningparameter geeigneter, Tumormarker zur Verfügung. Diesbezüglich sollte halbjährlich eine weiterführende Diagnostik erfolgen.

Als Ultima Ratio und einzig tatsächliche Heilung der Zirrhose kann in schweren Fällen eine Lebertransplantation in Erwägung gezogen werden. Dabei wird der Patient mit seinem individuellen MELD-Score gelistet und bekommt bei Verfügbarkeit und passendem Listenplatz ein Spenderorgan zugeteilt.

2 FRAGESTELLUNG UND MOTIVATION

Bei Erstbeschreibung der spontan bakteriellen Peritonitis 1964 bestand eine ausgesprochen hohe Mortalität von über 90%. Trotz verbesserter therapeutischer Möglichkeiten liegt diese immer noch bei 30-50% (Garcia-Tsao 2001, Thuluvath, Morss et al. 2001, Runyon, Practice Guidelines Committee et al. 2004, Umgelter, Reindl et al. 2009, Ariza, Castellote et al. 2012).

Die klinischen Symptome der SBP sind vielfältig und unspezifisch, weshalb zur Diagnostik eine Punktion der Aszitesflüssigkeit und eine labortechnische Untersuchung des Bauchwassers unerlässlich sind.

Für die Diagnose entscheidend sind die Zellzahlbestimmung sowie eine weitere Differenzierung der Zellen. Beide Verfahren sind zeit- und personal-intensiv. Kleinere Kliniklabors, ambulante Zentren und niedergelassene Gastroenterologen verfügen nicht über die nötigen

personellen Ressourcen und technischen Möglichkeiten (Zähl- und Differenzierungsautomaten). Eine ausreichend schnelle Bestimmung der benötigten Parameter kann somit oft nicht gewährleistet werden.

Gerade die Geschwindigkeit spielt in der Diagnostik der spontan bakteriellen Peritonitis jedoch eine entscheidende Rolle für ein positives Outcome der Patienten (Kim, Tsukamoto et al. 2014). Daher wurden bereits in der Vergangenheit in zahlreichen Studien diverse biochemische Marker als Infektionsparameter untersucht. Ein Problem dieser Studien war, dass der Fokus auf maximal einen neuen Parameter gelegt und dieser teilweise durch herkömmliche Marker ergänzt wurde. Im Hinblick auf Point-of-Care Verfahren ist jedoch gerade die Kombination aus mehreren modernen, hoch sensitiven und spezifischen Parametern interessant.

Das Ziel der Studie war es dementsprechend, eine umfassende Auswahl an in der Fachliteratur genannten Parametern und Kenngrößen sowohl im Serum als auch im Aszites zu bestimmen und am Goldstandard zu messen. Bei den ermittelten Markern wurde die Zahl der neutrophilen Granulozyten als Maßstab angelegt, um unter anderem Sensitivität, Spezifität und Trennschärfe zu vergleichen.

Primärer Endpunkt war dabei die Vorhersage der SBP basierend auf der Diagnose gemäß der Neutrophilenzahl.

Die aussagekräftigsten Parameter könnten als neuartige Marker zur Diagnose der spontan bakteriellen Peritonitis in nachfolgenden Studien umfassender untersucht werden. So wäre langfristig eine Modernisierung des diagnostischen Goldstandards hin zu einer schnelleren, einfacheren und verlässlicheren Methodik möglich.

Für die Zukunft vorstellbar wäre beispielsweise ein Point-of-Care-Test der NGAL, Calprotectin oder andere Marker mit ausreichender Sensitivität und Spezifität am Patientenbett messen kann.

Ein solcher Schnelltest ließe speziell im ambulanten aber auch klinisch-stationären Setting eine schnelle und sichere Diagnostik der SBP zu und könnte somit zu einer deutlichen Senkung der Mortalität der Infektion führen.

Als Patientenkollektiv dienten 36 Frauen und Männer, bei denen insgesamt 100 Aszitespunktionen studienunabhängig auf Intensivstation durchgeführt wurden.

II. PATIENTEN UND METHODEN

Die Datenerhebung zwischen 15.09.2011 und 12.08.2013 erfolgte prospektiv auf der gastroenterologischen Intensivstation 2/11 der II. Medizinischen Klinik des Klinikums rechts der Isar. Die Daten wurden mittels Aszitespunktion, Blutabnahme sowie einer klinischen und monitoring-gestützten Untersuchung gewonnen. Zur Ermittlung aktueller therapeutischer Regimes wurden außerdem die Patientenkurven und -akten als Informationsquelle hinzugezogen.

1 MEDIZINETHIK

Im Vorfeld dieser Studie wurde ein Antrag an die Ethikkommission der Medizinischen Fakultät der Technischen Universität München gestellt. Die Datenerhebung begann erst nach Annahme des Antrages durch die Kommission. Bei den in die Studie eingeschlossenen Patienten bzw. der gesetzlichen Betreuung wurde das Einverständnis eingeholt.

2 EIN- UND AUSSCHLUSSKRITERIEN

In diese prospektiv angelegte Studie wurden alle Patienten mit bestehendem Aszites aufgrund einer dekompensierten Lebererkrankung eingeschlossen, bei denen im Studienzeitraum eine diagnostische und/oder therapeutische Aszitesparazentese durchgeführt wurde. Um eine möglichst hohe Fallzahl zu erreichen wurden keine Ausschlusskriterien definiert.

3 ASZITESPARAZENTESE

Bei Aszitespunktionen wird zwischen den beiden Indikationen diagnostische und therapeutische Punktion unterschieden.

Patienten mit Aszites werden oft von Druckgefühlen und Schmerzen geplagt; die massive intraperitoneale Druckerhöhung geht häufig auch mit pulmonalen oder hämodynamischen Einschränkungen einher. Dadurch kann es leicht zu Hernienbildung kommen. Falls sich in solch schwerwiegenden und für den Patienten belastenden Fällen der Aszites nicht mit Diuretika ausschwemmen lässt (Fogel, Sawhney et al. 1981), bleibt nur eine Punktion des Bauchwassers als therapeutische Option. Dadurch kommt es in vielen Fällen zu einer unmittelbaren Linderung der Symptome (Runyon and Committee 2009).

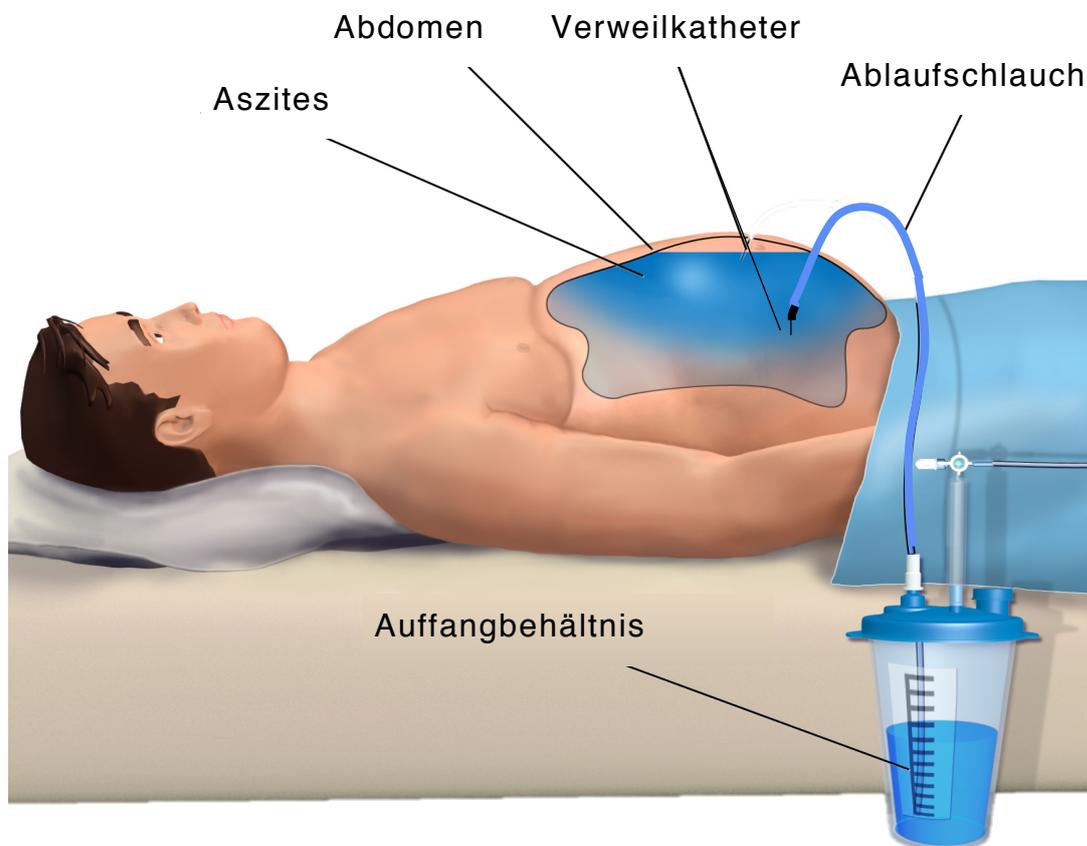


Abbildung 6: Skizzierung einer Aszitespunktion (Blausen staff 2014)

Meist wird bei einer therapeutischen Punktion dennoch die Aszitesprobe untersucht, um eine Infektion oder andere Veränderungen im Bauchwassers feststellen zu können. Der Übergang zu einer sogenannten diagnostischen Punktion, die ausschließlich der Probengewinnung dient, ist also fließend.

Wie bei allen Punktionen muss vor dem Eingriff auf die Gerinnungsparameter geachtet werden. Die Aszitespunktion ist jedoch „auch bei Patienten mit verlängerter PTT (bis 2x oberer Normwert) oder leicht verringerten Thrombozytenzahlen (Minimum 50.000/ μ l) sicher“ (Gerbes, Gulberg et al. 2011). Erst bei einer massiv eingeschränkten Gerinnung sollte zur Optimierung der Situation an eine Substitution mit FFPs oder Thrombozytenkonzentraten gedacht werden.

Absolute Kontraindikationen bestehen keine, jedoch könnte beispielsweise massive Adipositas mit einer stark verdickten Abdominalwand oder eine Verbrauchskoagulopathie relative Kontraindikationen darstellen.

3.1 Punktion

Die Aszitespunktionen wurden ausschließlich unter sterilen Bedingungen und sonographisch gesteuert auf Intensivstation durchgeführt. Der Stich wurde bei wachen Patienten in Lokalanästhesie vorgenommen.

Als Punktionskanüle kamen meist periphere Venenverweilkatheter zum Einsatz, um die Verletzungsgefahr für den Patienten bei dem oft länger andauernden Abfluss der Flüssigkeit zu minimieren. Die Kanülengröße wurde abhängig vom Patienten und der Sicherheit des Punktionfeldes zwischen 16 und 18 Gauge gewählt.

3.2 Vorbereitung

Nach vorangegangener Aufklärung wird der Patient, wenn möglich, in leichter Linksseitenlage punktiert; falls dies aufgrund von Sedierung oder mangelnder Compliance nicht möglich ist, auch in Rückenlage.

Mittels Ultraschallgerät und Konvexschallkopf wird eine geeignete Punktionsstelle gesucht, bei der möglichst große Mengen Aszitesflüssigkeit zwischen Peritonealwand und Darmschlingen oder den intra-abdominellen Organen liegen. Im besten Fall wird die Region im links-lateralen unteren Quadranten bevorzugt, um eine akzidentelle Leber- und Milzpunktion zu vermeiden; auf den Verlauf der *vasae epigastricae* sollte dabei ebenfalls geachtet werden.

Nach dem Festlegen der geeigneten Stelle wird diese desinfiziert und das Punktionsgebiet mittels Lochtuch abgedeckt.

Punktionskanüle, Lokalanästhetikum, Abnahmegefäß, ausreichend Tupfer und Verbandsmaterial, eventuell Nahtmaterial sowie das Auffangbehältnis mit Schlauch sollten gut erreichbar bereit stehen (siehe Abbildung 6) (Gerbes, Gulberg et al. 2011).

3.3 Durchführung

Nach Applikation des Lokalanästhetikums wird mittels Z-Durchstichtechnik im 45° Winkel punktiert, wodurch einer Fistelbildung vorgebeugt werden kann (Gerbes, Gulberg et al. 2011). Nach erfolgreicher Punktion wird zunächst ein wenig Flüssigkeit in den angehängten Beutel abgelassen und anschließend die Probenröhrchen befüllt. Bei der Abnahme der mikrobiologischen Kulturen sollte auf besondere Sauberkeit und steriles Arbeiten Wert gelegt werden (Runyon, Canawati et al. 1988).

3.4 Nachbehandlung

Nach Fixierung des Venenverweilkatheters sowie des angehängten Schlauchs ist vor allem bei größeren Mengen Aszites über vier bis fünf Litern genau auf Kreislauf und Hämodynamik des Patienten zu achten. Ein solch großer Flüssigkeitsverlust kann schnell zu kritischen Zuständen führen. Um bei großvolumigen Parazentesen für einen adäquaten Ausgleich der Serumproteine zu sorgen, wird eine intravenöse Substitution von sechs bis acht Gramm Albumin je punktiertem Liter Aszites empfohlen (Wong, Holroyd-Leduc et al. 2008).

4 BLUTABNAHME

Waren bei Patienten bereits arterielle Katheter vorhanden, wurden die Blutproben direkt von dort steril entnommen. Andernfalls wurde eine geeignete periphere Vene als Punktionsstelle verwendet.

Wenn möglich wurden die Blutabnahmen mit den Routinelabors der Station zusammen vorgenommen, um so insgesamt geringere Abnahmemengen zu haben und die Patienten damit weniger zu belasten.

5 ERFASSTE PARAMETER

Die Laborparameter wurden im Labor der klinischen Chemie des Klinikums bestimmt; die klinischen Parameter hingegen direkt am Patienten durch körperliche Untersuchung. Auf Überwachungsmonitoren ablesbare Werte sowie Beatmungsparameter wurden im unmittelbaren

zeitlichen Zusammenhang mit der Punktion notiert oder den von Pflegekräften erstellten Patientenkurven entnommen.

5.1 Laborwerte

Alle Laborwerte mit Ausnahme von Leukozyten, Zellzahl und Zelldifferenzierung sowie Calprotectin und NGAL wurden auf Messgeräten vom Typ cobas c der Firma Roche/Hitachi ermittelt.

Der arterielle pH-Wert, das Bikarbonat sowie der Hämatokrit wurden aus arteriellen Blutproben auf RAPIDPoint 500 Blutgasanalysegeräten der Firma Siemens direkt auf Station bestimmt.

Lipase, Laktatdehydrogenase, Glukose, Gesamteiweiß, Albumin, Laktat und das C-reaktive Protein wurden sowohl im Aszites als auch im Serum gemessen.

5.1.1 Lipase

Bei Aszites unbekannter Ätiologie kann im punktierten Bauchwasser die Lipase bestimmt werden, um Hinweise auf ein pankreatogenes Geschehen zu erhalten.

Als Messverfahren wurde sowohl für die Aszites- als auch für die Serum-Lipase ein enzymatischer Farbttest (photometrisch) verwendet.

5.1.2 Laktatdehydrogenase

Die aus lysierten, neutrophilen Granulozyten austretende Laktatdehydrogenase (LDH) wird im Serum aufgrund des Freisetzungsmechanismus meist als Hämolyseparameter genutzt.

Bei infektiösen Prozessen ist sie oft jedoch auch im Aszites erhöht (el-Touny, Osman et al. 1989). Während einer SBP kommt es dabei zu einer eher moderaten Steigerung (Runyon 1988), bei sekundär bakteriellen Peritonitiden hingegen zu stark erhöhten Werten (Akriviadis and Runyon 1990).

Die LDH liefert zusätzlich wichtige diagnostische Hinweise. Dies ist insbesondere in Bezug auf das weitere therapeutische Vorgehen wichtig, da sich dieses in beiden Fällen deutlich voneinander unterscheidet. Auch im Serum wurde die Laktatdehydrogenase bestimmt.

Im Labor wird die LDH in beiden Testflüssigkeiten mittels eines UV-Tests bestimmt.

5.1.3 Gesamteiweiß

Die Bestimmung der Proteine im Aszites dient einerseits der differentialdiagnostischen Einordnung in spontan oder sekundär bakterielle Peritonitis (Ackerman 1996). Andererseits bedeutet ein primär erniedrigtes Gesamteiweiß ein erhöhtes Risiko eine SBP zu entwickeln. Dies liegt nach Meinung Runyons an der verringerten Opsoninkonzentration im Bauchwasser, was wiederum die erhöhte Wahrscheinlichkeit einer bakteriellen Besiedelung bedingt (Runyon 1986).

Von einer während einer spontan bakteriellen Peritonitis verringerten Konzentration des Gesamteiweißes wird jedoch nicht ausgegangen.

Ein Kupferfarbtest dient der Messung der Gesamtproteine in Aszites und Blutserum.

5.1.4 Glukose

Die Glukosekonzentration im Aszites steht ebenfalls in direktem Zusammenhang mit den neutrophilen Granulozyten. Diese benötigen im Entzündungsfall große Mengen davon als Nährstoff. Ist die Glukosekonzentration verringert, ist von einer Infektion auszugehen. Stark erniedrigte Werte weisen eher in Richtung einer sekundär bakteriellen Peritonitis. Bei der SBP verbleibt die Konzentration meist über 50 mg/dl, da hier nur vergleichsweise geringe Mengen an neutrophilen Granulozyten im Aszites auftreten (Runyon and Hoefs 1985, Runyon 1988).

Bei der Glukosebestimmung sowohl aus Blutserum als auch aus dem Aszites wurde auf die Referenzmethode, den enzymatischen UV-Test mit Hexokinase, zurückgegriffen.

5.1.5 Kreatinin

Mithilfe des Kreatinins soll eine eventuelle renale Insuffizienz detektiert werden. Einige klinische Testscores benötigen den Marker auch für deren Berechnung. Die Bestimmung des Kreatinins im Aszites ermöglicht höchstens Rückschlüsse auf eine eventuelle Blasenruptur und kam deshalb nicht in Frage.

Die Bestimmung des Kreatinin erfolgte mittels einer enzymatischen Methode quantitativ.

5.1.6 Albumin

Zur weiterführenden Aszitesdiagnostik zählt die Berechnung des sogenannten Serum-Aszites Albumingradient (SAAG). Dabei wird die

Aszitesalbuminkonzentration von der des Serums subtrahiert und die Differenz als Gradient angegeben.

Bei einem Gradienten größer 1,1g/dl kann mit 97 prozentiger Genauigkeit von einer portalen Hypertension ausgegangen werden. Liegt der Wert darunter, sind sowohl ein erhöhter Pfortaderdruck als auch das Vorliegen einer SBP unwahrscheinlich. Das alleinige Auftreten einer spontan bakteriellen Peritonitis ohne bereits bestehende portale Hypertension ist sehr unwahrscheinlich (Hoefs 1981, Hoefs 1983).

Zur Albuminbestimmung dient sowohl in Aszites als auch im Serum ein in-vitro Farbttest.

5.1.7 Laktat

Die Asziteslaktatkonzentration wurde als Infektionsparameter bereits häufiger auf eine Eignung als Alternative zur Neutrophilenzahl hin überprüft. Dabei konnte ihr ein eher zweifelhafter Nutzen attestiert werden (Runyon and Antillon 1991). Um eine umfassende Aufstellung an verschiedenen Entzündungsmarkern zu erhalten, wurde das Laktat im Aszites in der vorliegenden Studie dennoch bestimmt.

Im Rahmen der Intensivbetreuung wurde das Serumlaktat zur Sepsisdiagnostik und Kontrolle der allgemeinen Stoffwechselsituation der Patienten ermittelt (Clasen and Sieberth 1988).

Laktat wird in Serum und Aszites mittels eines in-vitro Farbttests bestimmt.

5.1.8 C-Reaktives Protein

Das CRP ist ein sehr häufig in der Klinik verwendeter Infektionsparameter, bei dem es sich um ein Akutphase-Protein handelt. Es ist ein

guter Verlaufsmarker, da es sehr empfindlich gegenüber Veränderungen im Entzündungsprozess ist (Clyne and Olshaker 1999).

Auch das CRP wurde in Aszites und Serum gemessen. Als Verfahren kam hierbei ein Partikel-verstärkter immunologischer Trübungstest zum Einsatz.

5.1.9 Bilirubin

Als Farbstoff der roten Blutkörperchen ist ein erhöhtes Bilirubin im Aszites ein Zeichen für Hämorrhagie. Die Blutung kann bereits vor der Punktion bestanden haben, aber auch während der Punktion iatrogen hervorgerufen worden sein.

Das Bilirubin wurde im Aszites und Blutserum der Patienten mittels Farbtest ermittelt.

5.1.10 Blutgasanalyse

Die Blutgase (pO₂, pCO₂), Serum-Elektrolyte, pH-Wert, Bikarbonat und der Hämatokrit wurden direkt am Patientenbett auf Intensivstation mittels einer arteriellen Blutprobe bestimmt.

5.2 Zellzahl

Zellzahlen von über 500/ μ l Aszites gelten als diagnostischer Hinweis auf das Vorliegen einer spontan bakteriellen oder einer sekundären Peritonitis.

Die Gesamtzellzahl wurde optoelektronisch in einem Zellzähler der Firma Sysmex oder manuell von geschultem Personal in der Zähl-

kammer bestimmt. Beide Methoden werden in der Fachliteratur als gleichwertig angesehen (Angeloni, Nicolini et al. 2003, Runyon 2003).

5.3 Zelldifferenzierung

Die Zelldifferenzierung ist entscheidend für die leitliniengerechte Diagnostik der SBP. Dabei werden die Unterarten der Leukozyten gesondert betrachtet und die Zahl der neutrophilen Granulozyten ermittelt. Diese gilt als diagnostischer Goldstandard. Selbst in Universitätskliniken wird dieser Schritt immer noch durch Mikroskopieren oder automatische Zählautomaten vollzogen (Cereto, Genesca et al. 2004). Genau hier spielt die Zeit und Personalstruktur sowie die maschinelle Ausstattung des jeweiligen Labors bzw. Arztes eine bedeutende Rolle, die oft zu einer verzögerten Diagnosestellung führt.

5.4 NGAL

Bei dem Neutrophilen gelatinase-assoziierten Lipocalin handelt es sich um ein verhältnismäßig kleines Protein mit einer Größe von 178 Aminosäuren und einem Gewicht von 25kDa (Abbildung 7).

Das Molekül wird von Immunzellen, Hepatozyten und renalen Tubuluszellen exprimiert (Schmidt-Ott, Mori et al. 2007). Aktuell wird das NGAL zur Diagnostik von akutem Nierenversagen verwendet (Clerico, Galli et al. 2012). Bei renalen Schädigungen kommt es im dicken aufsteigenden Schenkel der Henle-Schleife und im Sammelrohr zu einer stark erhöhten NGAL-Produktion, welche im Urin nachgewiesen werden kann (Makris, Rizos et al. 2012). Diese gilt als Echtzeit-Indikator des akuten Nierenversagens (Mori and Nakao 2007). Außerdem kann der Parameter zur Beurteilung der Nephrotoxizität durch Cisplatin

(Ebrahimi, Pirasteh et al. 2015) und als Aktivitätsmarker der Lupusnephritis genutzt werden (Rubinstein, Pitashny et al. 2008, Susianti, Iriane et al. 2015).

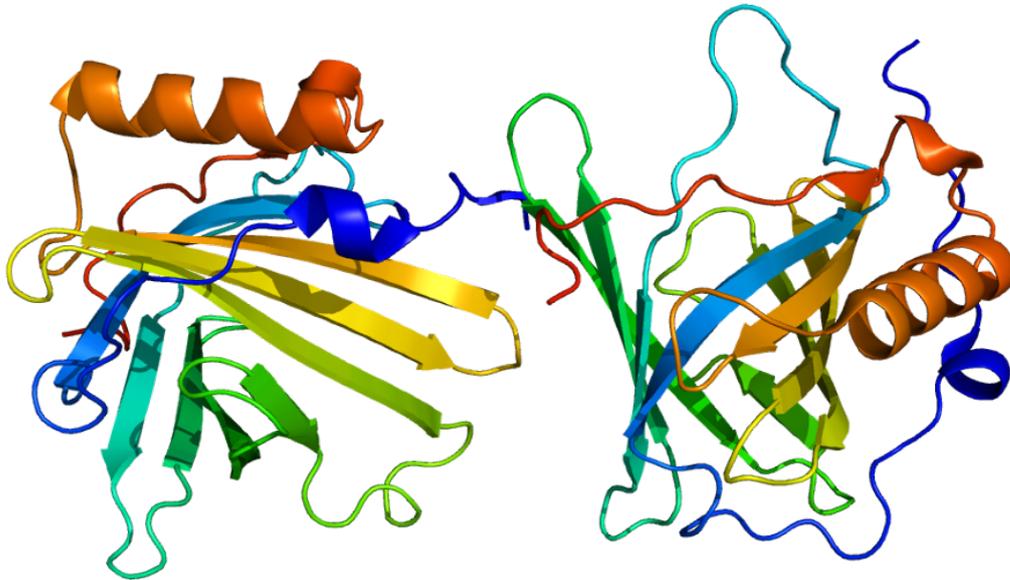


Abbildung 7: Kristallstruktur des Neutrophilen gelatinase-assoziierten Lipocalin (Emw 2009)

Neben dem Vorkommen in verschiedenen Epithelien des Körpers ist entscheidend, dass die spezifischen Granula der neutrophilen Granulozyten ebenfalls NGAL enthalten. Es besteht ein direkter Zusammenhang zwischen dem aktuellen diagnostischen Goldstandard und dem NGAL – gleich in welcher Testsubstanz.

Zur Bestimmung wurde das „The NGAL Test“ Reagenz-Set der Firma BioPorto Diagnostics A/S verwendet. Das Prinzip hinter dem Test ist ein partikelverstärkter turbidimetrischer Immunoassay. Ursprünglich zur quantitativen Bestimmung von NGAL im menschlichen Urin und Plasma gedacht, wurden mit dem gleichen Set und ohne Modifikation die NGAL Werte im Aszites gemessen (Lippi, Aloe et al. 2012, BioPorto Diagnostics 2014).

5.5 Calprotectin

Calprotectin ist ein Calcium- und Zink-bindendes Protein aus der S100-Gruppe (siehe unten). Es kommt überwiegend im Zytoplasma von Monozyten, neutrophilen Granulozyten sowie in Epithelien vor.

Im klinischen Alltag wird es vorwiegend differentialdiagnostisch zur Unterscheidung von chronisch entzündlichen Darmerkrankungen und dem Reizdarmsyndrom eingesetzt. Bei CEDs dient es auch als Früh- und Aktivitätsmarker, da es gut mit der Entzündungsaktivität korreliert (Sherwood 2012). Als Bestandteil des Zytoplasmas von neutrophilen Granulozyten ist eine signifikante Korrelation zwischen der Zahl der neutrophilen und der Höhe des Calprotectins im Aszites erwartbar. Damit besteht ein Anhalt dafür eine SBP auch mithilfe von Calprotectin diagnostizieren zu können (Johne, Fagerhol et al. 1997, Homann, Christensen et al. 2003, Yui, Nakatani et al. 2003).

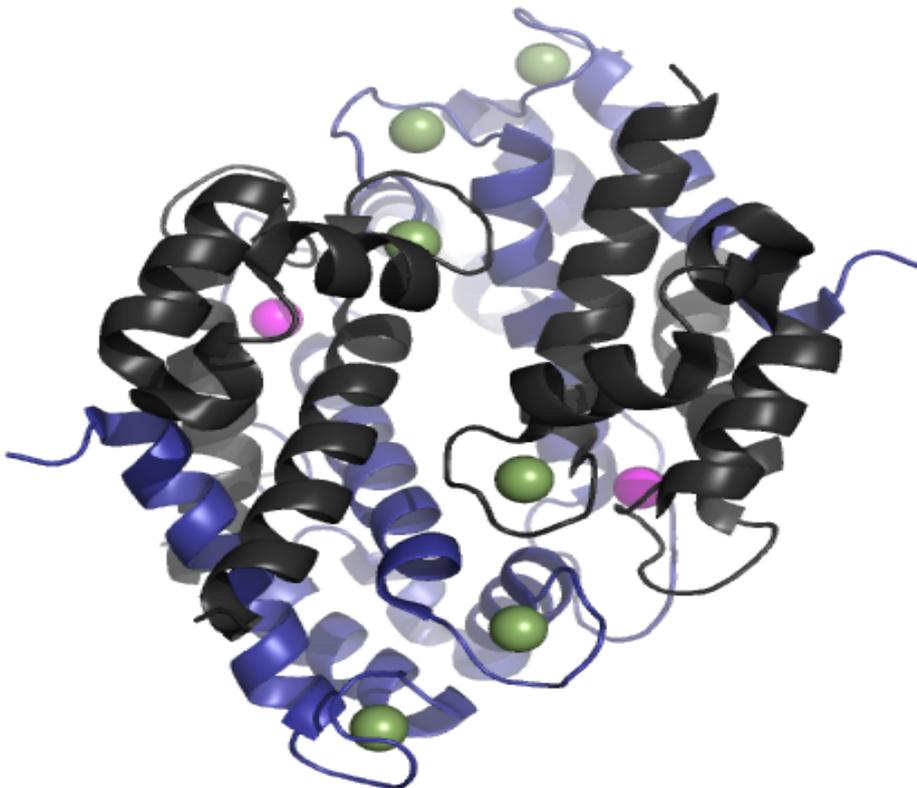


Abbildung 8: Kristallstruktur des Proteins Calprotectin (Czeer 2015)

Zur Bestimmung von Calprotectin wurde ein Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) der Firma Immunodiagnostik AG angefertigt.

5.6 Klinische Parameter

Klinische Parameter wurden entweder aus der Patientenkurve ausgelesen oder durch direkte klinische Untersuchung erhoben. Am Beatmungsgerät (Atemfrequenz) und den bettseitigen Monitoren (art. Blutdruck) konnten die jeweiligen Parameter abgelesen werden.

5.7 Mikrobiologie

Um das Bauchwasser auch mikrobiologisch zu untersuchen, wurden jeweils ein anaerobes und ein aerobes Probengefäß mit Aszitesflüssigkeit beimpft. Im Falle einer bakteriellen Besiedelung konnte mithilfe eines Antibigramms gezielt antibiotisch therapiert werden. Sowohl bei Probenentnahme als auch bei der Beimpfung ist auf sterile und saubere Arbeit zu achten. Wie empfohlen wurden mindestens 10ml Punktat pro Probenflasche verwendet (Runyon 2014).

5.8 Leukozyten auf Urin-Reagenzstreifen

Direkt am Patientenbett wurde das Aszitespunktat mithilfe eines Urin Reagenzstreifens auf Leukozyten getestet. Innerhalb von 120 Sekunden werden Ergebnisse in Form eines Farbumschlags angezeigt. In mehreren Publikationen wurde der Nutzen dieser Tests aufgrund zu geringer Sensitivität zur SBP-Diagnostik angezweifelt. (Nousbaum, Cadranet et al. 2007, Nguyen-Khac, Cadranet et al. 2008).

Ein speziell für die SBP kalibrierter Teststreifen konnte mit einer hohen Sensitivität und niedrigen Spezifität zumindest als ein möglicher Screeningtest validiert werden, weitere Untersuchungen stehen jedoch noch aus (Mendler, Agarwal et al. 2010).

5.9 Scores

5.9.1 Child-Pugh

Der Child-Pugh-Score wird häufig im klinischen Alltag zur Einteilung der Leberzirrhose verwendet. Er setzt sich aus Laborwerten und klinisch erhobenen Parametern zusammen (siehe Abbildung 9).

Child-Pugh-Score	1 Punkt	2 Punkte	3 Punkte
Albumin i. S. (g/dl)	> 3,5	2,8 – 3,5	< 2,8
Bilirubin i. S. (mg/dl)	< 2	2,0 – 3,0	> 3,0
Bilirubin i. S. (mg/dl) bei PBC / PSC	< 4	4 – 10	> 10
Quick (%)	> 70	40 – 70	< 40
Aszites (sonographisch)	keiner	leicht	mittel
hepatische Enzephalopathie	keine	I – II	III – IV

Abbildung 9: Child-Pugh-Score (Child and Turcotte 1964, Pugh, Murray-Lyon et al. 1973)

Einerseits werden Synthese- (Albumin, Quick) und Stauungsparameter (Bilirubin, sowie ggf. zusätzliche biliäre Ursachen) berücksichtigt. Andererseits wird die verbleibende Entgiftungsfunktion (hepatische Enzephalopathie) der Leber und eine eventuell bereits bestehende Dekompensation (Aszites) anhand von klinischen Parametern in den Score integriert. Das Ergebnis ist ein Indiz für die verbleibende Leber-

funktion. Aus der daraus ableitbaren statistischen Überlebensrate (siehe unten) kann eine bessere Einschätzung der Prognose erfolgen.

Überleben	1-Jahr	5-Jahre	10-Jahre
Child A (5 – 6)	84 %	44 %	27 %
Child B (7 – 9)	62 %	20 %	10 %
Child C (10 – 15)	42 %	21 %	0 %

Abbildung 10: Überlebensraten nach dem Child-Pugh-Score

5.9.2 Model for End-Stage Liver Disease (MELD)

Der MELD-Score setzt sich aus einem Stauungsparameter (Bilirubin), einem Lebersynthese- bzw. Gerinnungswert (INR) sowie einem Nierenretentionsmarker (Kreatinin) zusammen. Letzteres ist zusätzlich ein guter Parameter zur Diagnostik eines eventuellen hepatorenalen Syndroms. Bei kurz vor Probenentnahme stattgehabter Hämodialyse wird der Kreatinin-Wert auf 4,0mg/dl gesetzt, da von einem initial erhöhtem Wert ausgegangen werden kann. Auch bei speziellen Grunderkrankungen (z. B. PSC) wird individuell berechnet. Dabei würde eine herkömmliche MELD-Berechnung einen verhältnismäßig niedrigen Score ergeben und somit zu einer Fehlannahme bezüglich Transplantationsbedürftigkeit führen. Der MELD-Score sollte erst ab einem Patientenalter von über zwölf Jahren herangezogen werden. Bei jüngeren Kindern wird stattdessen der PELD-Score ermittelt.

Der Score kann Werte zwischen 6 und 40 ergeben. Höhere Werte gehen mit einer größeren Wahrscheinlichkeit einher, dass die Lebererkrankung ohne Transplantation binnen drei Monaten zum Ableben des Patienten führt. Die Mortalitätsraten zu den jeweiligen Score-Ergebnissen können Abbildung 11 entnommen werden (Kamath, Wiesner et al. 2001).

MELD-Score	6	15	20	24	28	30	35	40
3-Monats-Mortalität in %	1	5	11	21	37	49	80	98

Abbildung 11: 3-Monats-Mortalität ohne Transplantation anhand des MELD-Scores

Der MELD-Score dient also der Beurteilung und Auswahl der Transplantationsbedürftigkeit von Patienten mit terminalen Leberschädigungen (Wiesner, Edwards et al. 2003).

5.9.3 Acute Physiology And Chronic Health Evaluation II

Der APACHE II-Score ist ein sehr umfangreiches und hauptsächlich auf Intensivstationen verwendetes Score-Verfahren. Es soll eine verbesserte Vorhersage der Überlebenschance von Intensivpatienten ermöglichen

Der Score beinhaltet verschiedene klinische (z.B. GCS, Temperatur) und labormedizinische (z.B. Kreatinin, Leukozyten) Parameter. Auch Angaben zum Alter sowie anamnestisch erhobene Befunde, wie Voroperationen und schwerwiegende Erkrankungen verschiedener Organsysteme, werden berücksichtigt. Aus den unterschiedlich gewichteten Punkten wird ein Score zwischen 0 und 71 ermittelt, aus welchem sich Rückschlüsse auf die Mortalität des jeweiligen Patienten und damit die weitere Behandlung ziehen lassen (Knaus, Draper et al. 1985).

Der APACHE II-Score wird üblicherweise als Aufnahme-Score verwendet und nur einmal zu Beginn des Patientenaufenthaltes auf der Intensivstation ermittelt. Um bei mehrmals punktierten Patienten auch eine Verlaufsbeobachtung durchführen zu können, wurde der Score in dieser Studie jedoch bei jeder einzelnen Punktion bestimmt.

6 STATISTISCHE AUSWERTUNG

Die statistische Auswertung erfolgte mit Microsoft Excel für Mac 2011 (Version 14.4.5) sowie IBM SPSS Statistics Version 22 für Mac.

6.1 Spearman Rangkorrelationskoeffizient

Um die Werte auf eine einfache, parameterfreie Korrelation mit der Zahl der neutrophilen Granulozyten hin zu untersuchen, diente der Spearman's Rho Rangkorrelationskoeffizient. Im Gegensatz zu Pearsons Korrelationskoeffizient ist hierbei nicht erforderlich, dass eine lineare Verbindung zwischen den Stichproben bestehen muss. Aufgrund der Korrelation der Ränge ist der Test sehr robust gegenüber Ausreißern.

Für den Spearman's Rho wird zunächst je eine Rangfolge für jeden zu untersuchenden Parameter erstellt und anschließend diese Rangfolgen auf Korrelation untersucht. Ein Wert von 1 steht dabei für eine vollständige positive Korrelation, wohingegen -1 eine vollständig negative Korrelation beschreibt.

6.2 Mann-Whitney U-Test

Bei einer Dependenzanalyse auf Unterschiede hinsichtlich der zentralen Tendenz stehen mehrere Tests zur Verfügung.

Der Wilcoxon Mann-Whitney U-Test wird bei nicht-normalverteilten und unverbundenen Stichproben dem regulären T-Test vorgezogen.

Konkret wird der Frage auf den Grund gegangen, ob zwischen SBP-kranken und -gesunden Patienten Unterschiede in der zentralen Tendenz verschiedener Parameter bestehen (Fay and Proschan 2010).

Ein T-Test konnte aufgrund nicht-normalverteilter Daten nicht verwendet werden. Trotzdem wurden zur Verdeutlichung der Unterschiede die Mittelwerte sowie die Standardabweichung angegeben. Graphisch sollten Boxplots anhand der dargestellten Median, Extremwerte und Ausreißern eine schnelle Übersicht über die jeweiligen Ergebnisse ermöglichen.

6.3 Receiver Operating Characteristics (ROC) Kurven

Bei den, auch als Grenzwertoptimierungskurven bezeichneten, ROC-Kurven wird zunächst für den jeweiligen Parameter die Sensitivität (Richtig-Positiv-Rate) und Spezifität (Richtig-Negativ-Rate) ermittelt (siehe Abbildung 12).

		Tatsächliche Erkrankung		
		Positiv (SBP = 1)	Negativ (SBP = 0)	Gesamt
Testergebnis	Positiv	a	b	a + b
	Negativ	c	d	c + d
	Gesamt	a + c	b + d	a + b + c + d

Sensitivität: $\frac{a}{(a+c)}$ Anteil der durch den Test korrekt als krank erkannten an allen Kranken

Spezifität: $\frac{d}{(b+d)}$ Anteil der durch den Test korrekt als gesund erkannten an allen Gesunden

Abbildung 12: Vierfeldertafel zur Bestimmung von Sensitivität und Spezifität

Jede Wertekombination wird in ein Diagramm mit 1–Spezifität (Falsch-Positiv-Rate) als Abszisse und der Sensitivität als Ordinate eingetragen. Die resultierenden ROC-Kurven ermöglichen eine einfache Visualisierung der Leistungsstärke der überprüften Parameter. Anhand der Kurvenkoordinaten des zugrundeliegenden Datensatzes können mithilfe der ROC-Kurven sinnvolle Cut-Off-Werte bestimmt werden. Als Auswahlhilfe zur Bestimmung eines Cut-Off-Wertes kann *Youden's J statistic* (siehe unten) verwendet werden (Youden 1950).

$$J = \text{Sensitivität} + \text{Spezifität} - 1$$

Formel 1: Youden's J statistic

Der Wert mit dem höchsten Youden's J kann als die beste Kombination aus jeweils hohen Falsch-Positiv- und Falsch-Negativ-Raten betrachtet werden und sollte als Trennwert genutzt werden.

Zu beachten ist jedoch, dass speziell bei diagnostischen Tests die Sensitivität eine bedeutendere Rolle spielt als die Spezifität.

So sollten bei einem Test mindestens 80% der Kranken richtig als krank erkannt und ggf. auch eine entsprechend geringere Spezifität toleriert werden.

6.4 Binäre logistische Regressionsanalyse

Die binäre logistische Regressionsanalyse wurde bei gut korrelierenden Aszites-Infektionsparametern durchgeführt um die relativen Wahrscheinlichkeiten zu bestimmen mit denen eine SBP in Abhängigkeit von einer oder mehreren Infektionsmarkern vorliegt.

Um das beste Modell zu finden wurden mittels der Wald-Rückwärts Methode schrittweise unabhängige Variablen entfernt, die nicht zur Stärkung des Modells beitragen. Zur Überprüfung des Gesamtmodells wurde das Nagelkerke-R-Quadrat betrachtet, welches Werte zwischen 0 und 1 annehmen kann. Ein R^2 von größer 0,5 deutet darauf hin, dass die gewählten Prädiktoren das Modell gut erklären. Im letzten Schritt können die jeweiligen Regressionskoeffizienten B der verbleibenden signifikanten Werte abgelesen werden (Backhaus, Erichson et al. 2011).

III. ERGEBNISSE

1 PATIENTEN

Im Untersuchungszeitraum wurden 36 Patienten mit nicht malignem Aszites in die Studie eingeschlossen. Die Patienten sind im Studienverlauf insgesamt einhundertmal auf Intensivstation punktiert worden.

1.1 Ätiologie und Punktionen

17 Patienten (47,2%) wurden einmal punktiert und in den Datensatz aufgenommen, die übrigen 19 (52,8%) zwischen zwei und zwölfmal.

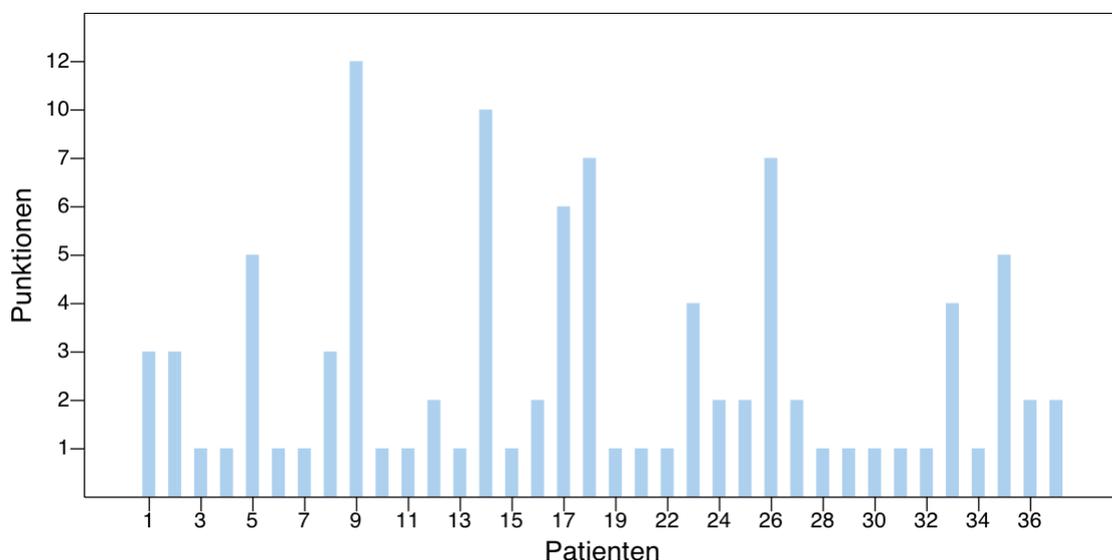


Abbildung 13: Punktionshäufigkeit

Die 20 positiven Punktionen (20% der Gesamtpunktionenzahl) entfielen auf 13 Patienten (36,1% der Gesamtpatienten). Drei der SBP-kranken

Patienten wurden zweimal positiv getestet, zwei dreimal. Die Ätiologie der Leberzirrhose war überwiegend chronischer Alkoholabusus (75%). Die restlichen 25% machten Hepatitis C und D (13,9%) sowie nicht genau bekannte toxische (2,8%) Ursachen aus. In drei Fällen (8,3%) war die Ätiologie zum Abschluss des Studienzeitraums unbekannt.

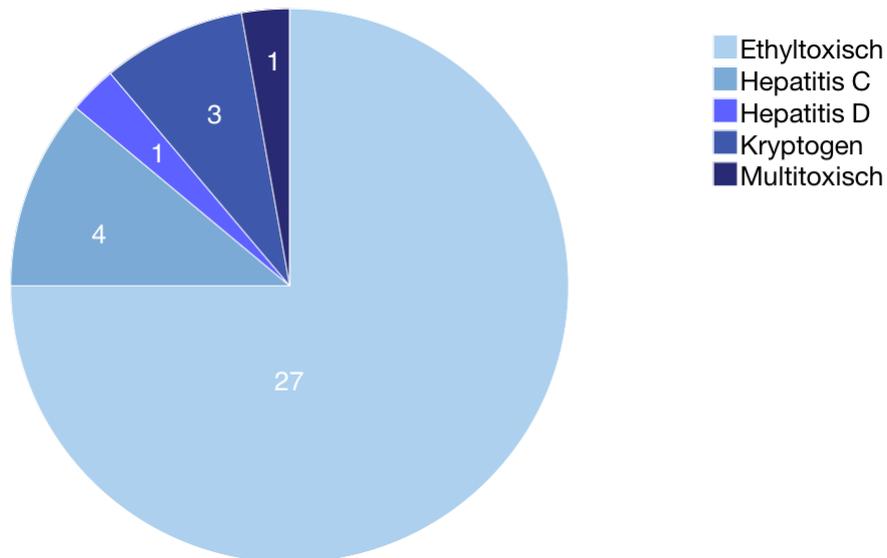


Abbildung 14: Ätiologie der Leberzirrhose

1.2 Alters- und Geschlechterverteilung

Den elf weiblichen Patienten der Studie (30,6%) stand eine mehr als doppelt so große Anzahl von 25 Männern (69,4%) gegenüber.

Geschlechterübergreifend war das Durchschnittsalter bei Erstpunktion $55,3 \pm 9,4$ Jahre. Der Median lag bei 57,5 Jahren.

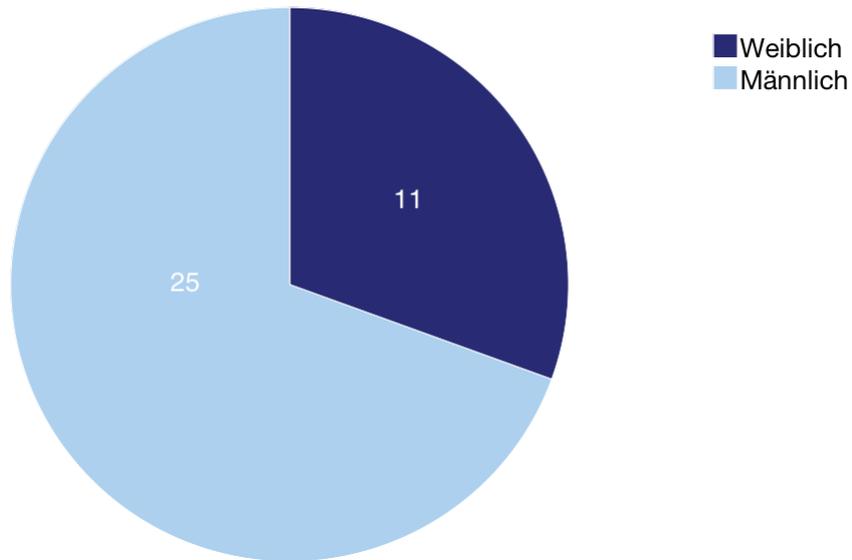


Abbildung 15: Geschlechterverteilung

Das Durchschnittsalter der Frauen betrug $55,2 \pm 8,2$ Jahre mit einem Median von 53 Jahren.

Bei den Männern belief sich der Altersdurchschnitt auf $55,3 \pm 10,1$ Jahre bei einem Median von 59 Jahren.

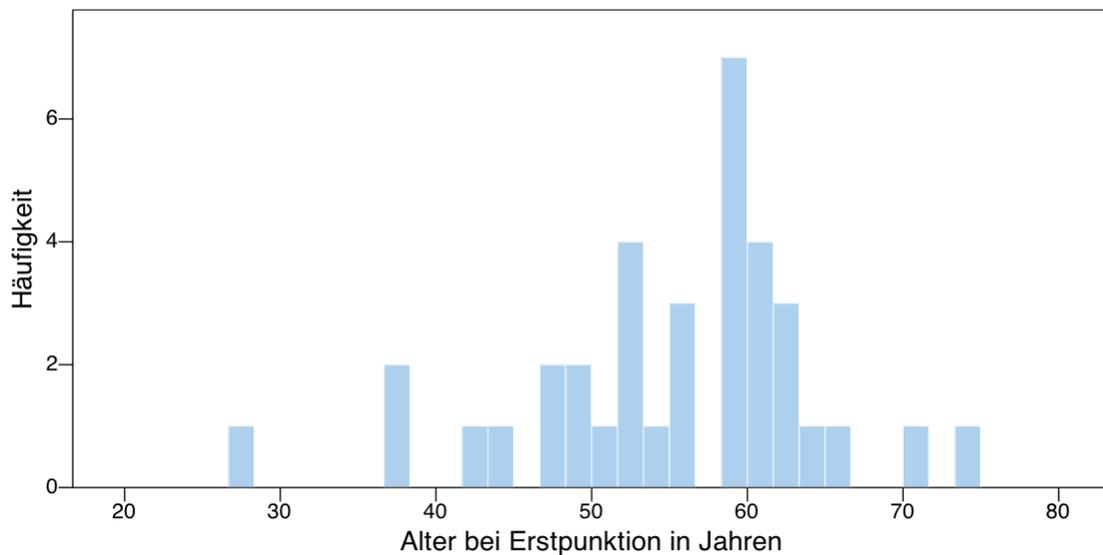


Abbildung 16: Altersverteilung

Sowohl der jüngste, als auch der älteste Patient waren männlich. Die jüngste weibliche Patientin war bereits zehn Jahre älter als der jüngste Mann; die älteste Frau hingegen acht Jahre jünger als der älteste männliche Patient.

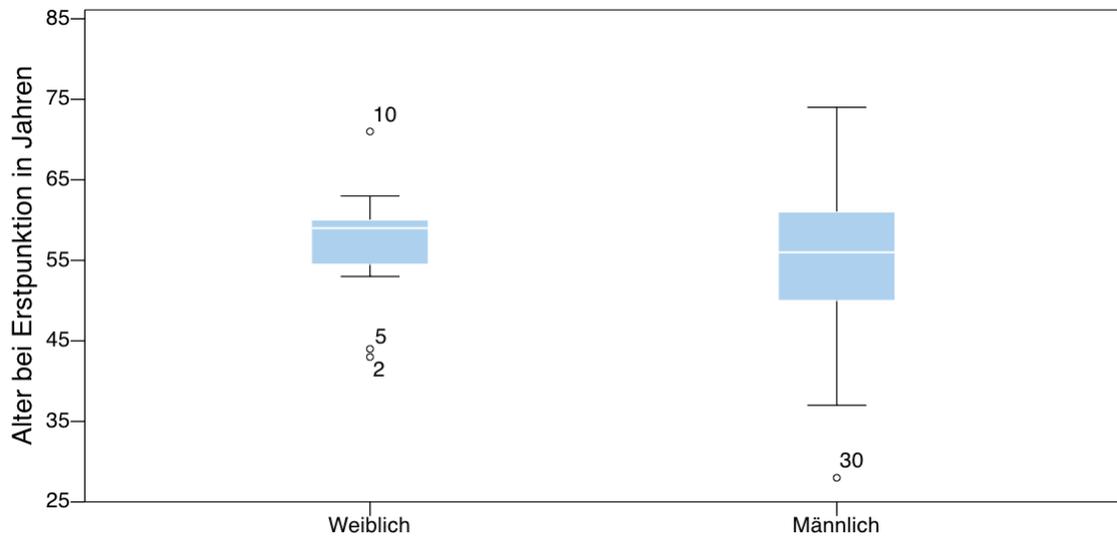


Abbildung 17: Altersverteilung aufgeteilt nach Geschlechtern

1.3 Biometrische Daten

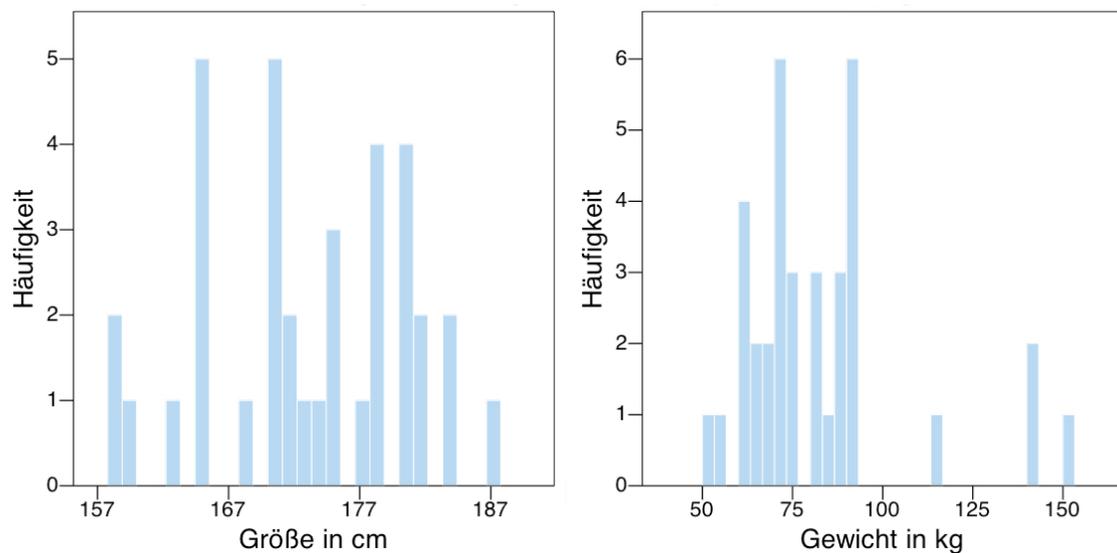


Abbildung 18: Verteilung von Körpergröße und -gewicht

Die durchschnittliche Größe der Patienten war $173 \pm 7,7\text{cm}$, bei einem Median von $173,5\text{cm}$. Das durchschnittliche Gewicht betrug $82,1 \pm 23\text{kg}$, der Median 76kg . Der Body-Mass-Index wurde mithilfe der international gebräuchlichen Formel $BMI = \frac{\text{Masse (kg)}}{(\text{Größe (m)})^2}$ berechnet.

Minimal betrug der BMI $17,3\text{kg/m}^2$, maximal $55,1\text{kg/m}^2$. Errechneter Mittelwert war $27,3 \pm 7,2\text{kg/m}^2$, der Median $26,3\text{kg/m}^2$.

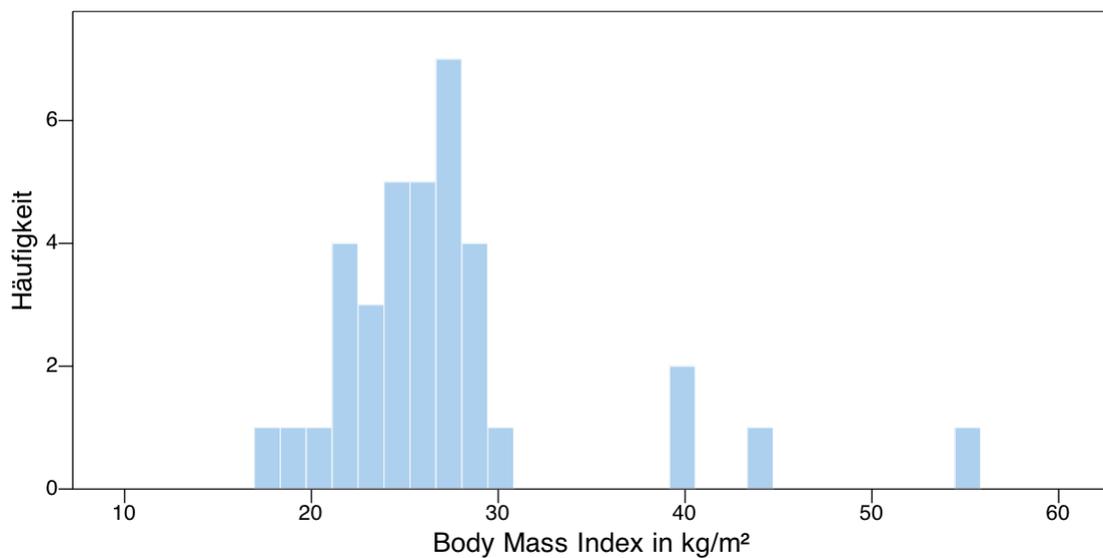


Abbildung 19: Verteilung des Body-Mass-Index

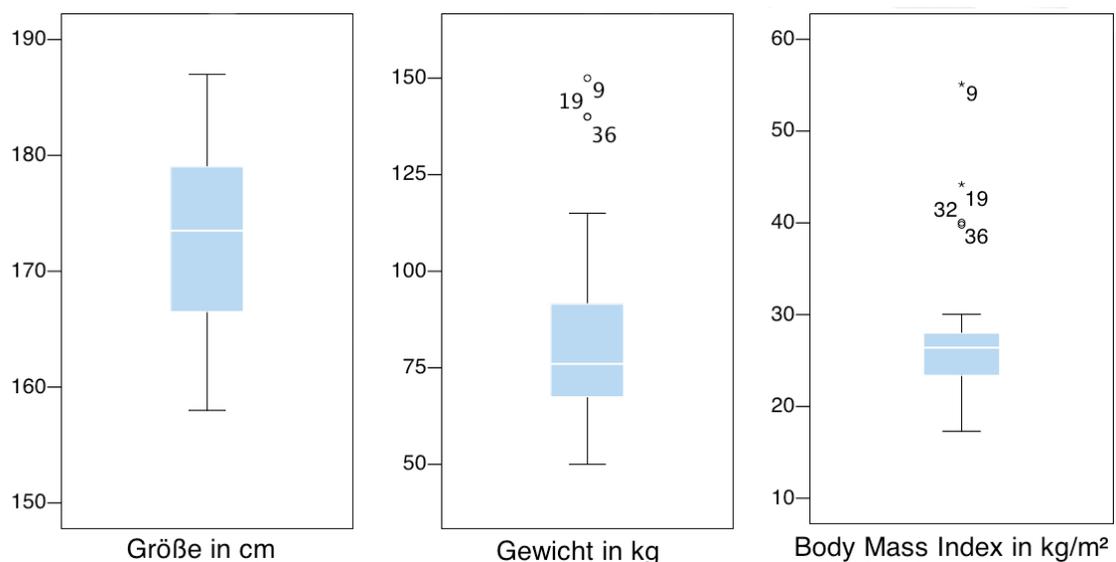


Abbildung 20: Biometrische Daten

Der BMI besagt laut Adipositas-Klassifikation der WHO, dass ein Normalgewicht zwischen einem BMI von 19kg/m^2 (Frau) bzw. 20kg/m^2 (Mann) und 24kg/m^2 (Frau) bzw. 25kg/m^2 (Mann) besteht.

Darunter spricht man von leichtem ($>17\text{kg/m}^2$), mäßigem ($>16\text{kg/m}^2$) und starkem Untergewicht ($\leq 16\text{kg/m}^2$); darüber von Präadipositas ($<30\text{kg/m}^2$) und, in drei weitere Grade unterteilt, Adipositas ($\geq 30\text{kg/m}^2$) (WHO Expert Committee 1995, Organization 2000, WHO Expert Consultation 2004).

1.3.1 Erkrankungsfortschritt

Eine Erhebung von Scores ermöglicht eine bessere Einschätzung des Krankheitsverlaufs der Patienten.

1.3.2 Child-Pugh-Score

83,3% der Patienten hatten mit einem Child-Pugh-Score von C bereits die schwerste Stufe der Lebererkrankung erreicht.

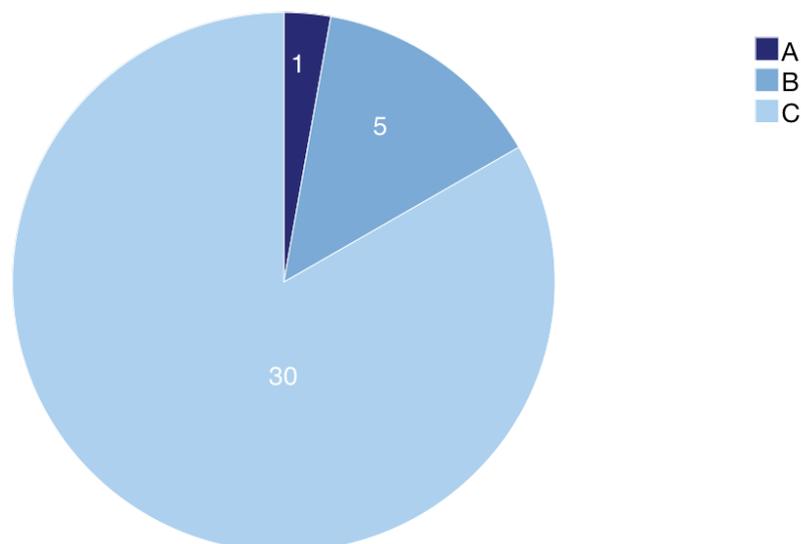


Abbildung 21: Häufigkeitsverteilung des Child-Pugh-Scores

Am zweithäufigsten war die Gruppe derer mit Child-Pugh B, welche 13,9% ausmachte, gefolgt von den 2,8% der Patienten, die sich mit einem Child-Pugh von A noch in einem Anfangsstadium der Erkrankung befanden.

1.3.3 MELD-Score

Bei dem *Model for Endstage Liver Disease* können theoretisch Werte zwischen 6 und 40 erreicht werden.

Eurotransplant, die zentrale Vermittlungsstelle für Organspenden in Deutschland sowie einigen weiteren europäischen Ländern, erstellt ihre Dringlichkeitsrangfolge auf Basis dieses Scores.

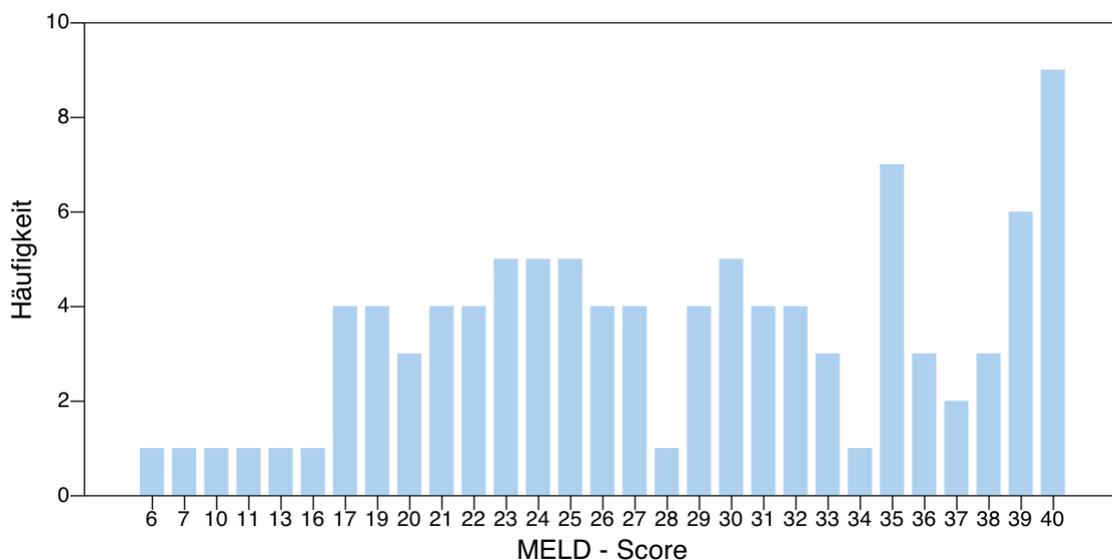


Abbildung 22: Verteilung des MELD Scores

Die 36 Patienten hatten einen durchschnittlichen MELD-Wert von $27,97 \pm 9,1$ bei einem Median von 28. Der geringste ermittelte Wert lag beim rechnerischen Minimum von sechs. Vier Patienten (11,1%) erreichten einen maximalen MELD-Score von 40. Die Häufigkeitsverteilung kann Abbildung 22 entnommen werden.

1.3.4 APACHE II-Score

Als hauptsächlich auf Intensivstationen angewandtes Verfahren soll der APACHE II als Aufnahmescore die Überlebenswahrscheinlichkeit von Intensivpatienten vorhersagen. Der APACHE II wurde im Rahmen dieser Studie nicht nur bei Aufnahme sondern bei jeder Punktion neu bestimmt. So ließen sich auch Krankheitsverläufe für mehrfach punktierte Probanden anhand von Parametern besser darstellen.

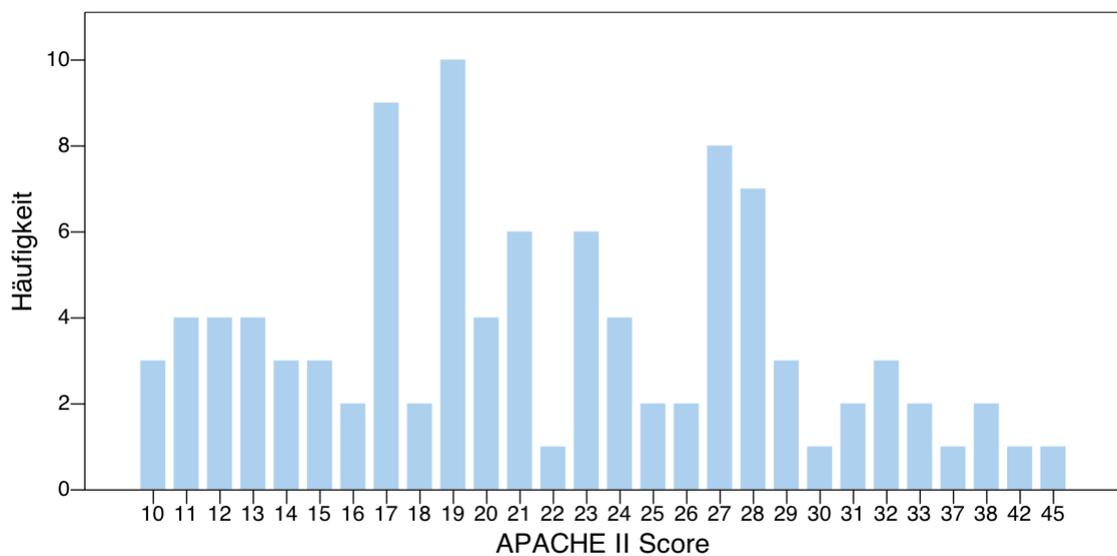


Abbildung 23: Verteilung der APACHE II Scores

Die bei Erstpunktion der Patienten ermittelten Werte waren minimal zehn und maximal 37 (siehe Abbildung 23). Der Median war 21, der Mittelwert lag bei $20,9 \pm 7,1$. Der im Patientenkollektiv minimal gemessene APACHE II-Wert betrug zehn.

1.4 Mikrobiologische Untersuchung und Antibiose

In lediglich 10% der positiv auf SBP getesteten Fälle (2 von 20) konnte eine bakterielle Besiedelung in den Blutkulturfläschchen festgestellt werden. In beiden Fällen handelte es sich um vereinzelt auftretende

Staphylokokken Spezies. Bei den SBP-negativen Proben kam es in keinem Fall zu einer bakteriellen Besiedelung der Kulturen.

Bei 26 Punktionen (26%) war im Vorfeld der Punktion nicht mit einer antibiotischen Therapie begonnen worden. Davon entfielen neun (45% der 20 SBP-Kranken) auf die Gruppe der SBP Erkrankten.

Es ist davon auszugehen, dass bei den bereits antibiotisch behandelten SBP-Kranken die Bakterienzahl bereits stark reduziert war. So lässt sich sagen, dass 2 von 9 (22,2%) unbehandelte SBP-positive Proben auch bakterielle Besiedelung zeigten.

1.5 Analyse der Standarddiagnostik

Ein diagnostischer Hinweis für eine spontan bakterielle Peritonitis ist eine Aszites-Gesamtzellzahl von über 500 Zellen pro μl (Gerbes, Gulberg et al. 2011).

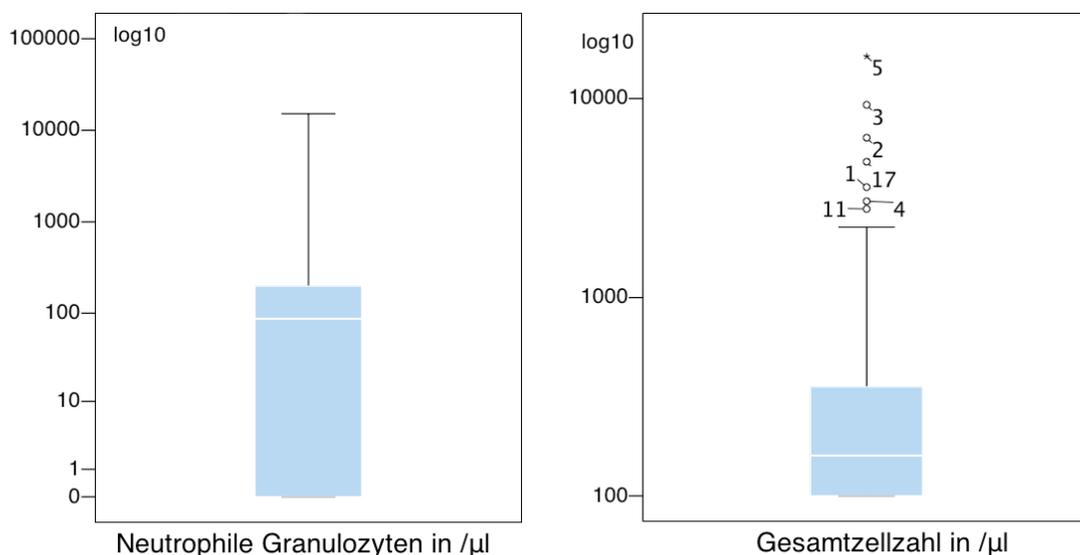


Abbildung 24: Streuung und Lage von Zellzahl und neutrophilen Granulozyten

Bisher wird weltweit eine erhöhte Neutrophilenzahl von über 250 Zellen pro μl im Aszites als diagnostischer Goldstandard verwendet (Gerbes, Gulberg et al. 2011). Mittelwert der neutrophilen Granulozyten war $510,5 \pm 1.818/\mu\text{l}$. Streuungs- und Lagemaße der beiden Parameter können der Abbildung 24 entnommen werden.

1.5.1 Gesamtzellzahl

In 81 Fällen (81%) wurde eine Zellzahl von $<500/\mu\text{l}$ gemessen. Bei 19 Patienten (19%) lag der Wert über dieser Schwelle. In 39 Fällen wurde der minimale Messwert von 100 Zellen/ μl ermittelt; maximal betrug die Zellzahl in einem Fall 16.290/ μl . Der Mittelwert lag bei $713,6 \pm 2.039/\mu\text{l}$.

Die Gesamtzellzahl wird in der Fachliteratur momentan immer noch als einzige Alternative zur Neutrophilenzahl angegeben. Der einzige Vorteil liegt dabei in der nicht mehr notwendigen Zelldifferenzierung. Der Prozess des Auszählens und der damit verbundene Aufwand kann jedoch auch hier nicht umgangen werden. Im Folgenden wurde die Gesamtzellzahl als diagnostischer Parameter re-evaluiert.

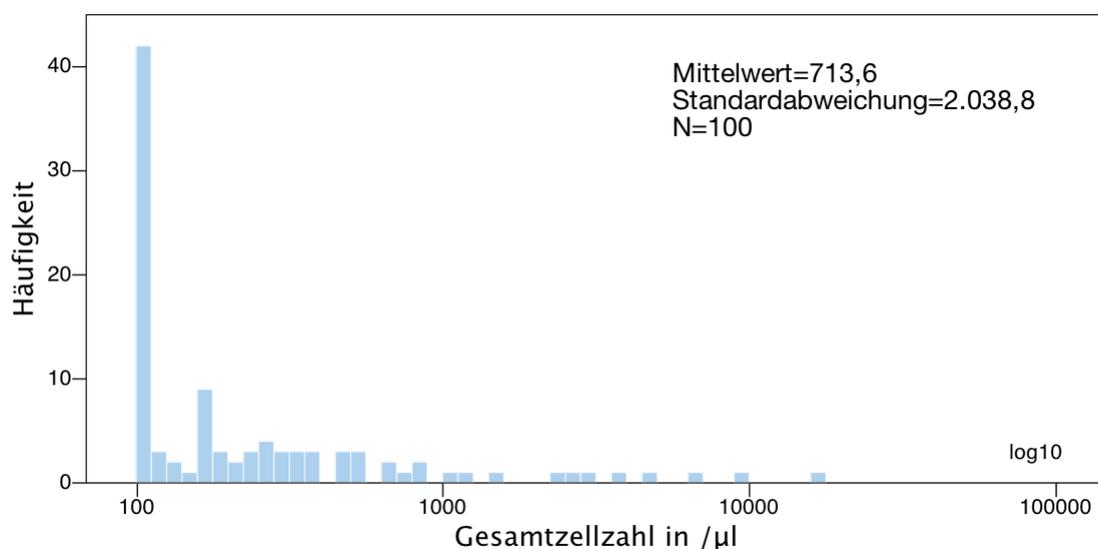


Abbildung 25: Verteilung der Gesamtzellzahl im Aszites

1.5.2 Neutrophile Granulozyten – der diagnostische Goldstandard

Bei 80 Punktionen (80%) konnte eine Neutrophilenzahl von weniger als 250/ μ l festgestellt werden; in 20 Fällen (20%) lag die Zellzahl über diesem Cut-Off.

Nach aktueller Leitlinienempfehlung konnte bei diesen 20 Patienten eine spontan bakterielle Peritonitis diagnostiziert werden.

Der durchschnittliche Neutrophilenwert betrug $510,5 \pm 1,8/\mu$ l und erfüllt somit das SBP-Diagnosekriterium. Bei 35 Punktionen wurde aufgrund einer zu geringen Gesamtzellzahl keine Zelldifferenzierung in unserem Kliniklabor durchgeführt und demzufolge auch die Zahl der neutrophilen Granulozyten nicht errechnet. In diesen Fällen wurde als Neutrophilenzahl 0 angenommen und damit die weiteren Analysen durchgeführt.

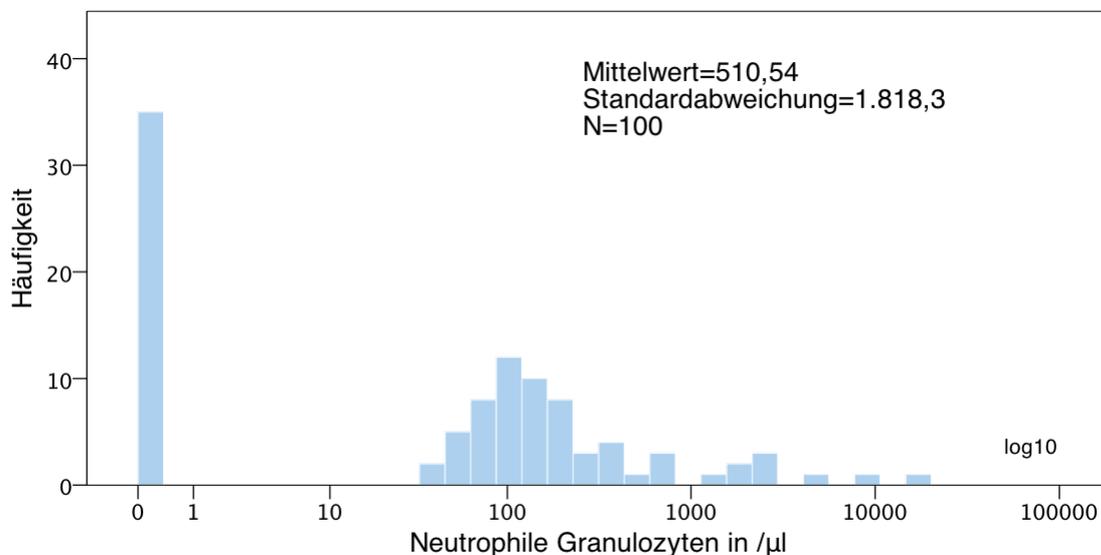


Abbildung 26: Verteilung der Neutrophilenzahl

Maximal wurden bei einer Punktion 15.150/ μ l neutrophile Granulozyten gemessen. Die Häufigkeitsverteilung der Neutrophilen ist der Abbildung 26 zu entnehmen.

2 SPEZIELLE STATISTISCHE AUSWERTUNG

2.1 Rangkorrelationen

Als parameterfreier Korrelationstest kam der Rangkorrelationskoeffizient nach Spearman zum Einsatz. Er gilt aufgrund der Betrachtung von Rängen gegenüber Ausreißern als sehr robust.

Alle beschriebenen Parameter wurden dabei mit der Zahl der Neutrophilen verglichen.

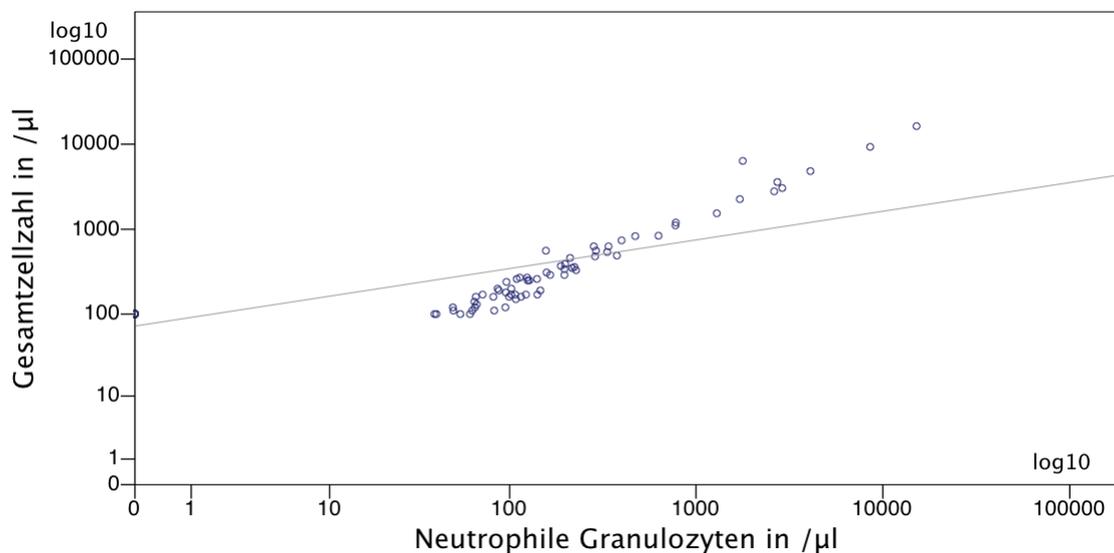


Abbildung 27: Korrelation von Gesamtzellzahl und neutrophilen Granulozyten im Aszites

Die in Abbildung 27 dargestellte Korrelation zwischen Gesamtzellzahl und neutrophilen Granulozyten zeigt, dass die beiden Parameter eine annähernd gleiche Aussagekraft bezüglich der SBP besitzen.

Die höchste Korrelation mit den Neutrophilen hatten das Calprotectin ($r_{sp}=0,76$; $p<0,001$; Abbildung 28), das NGAL ($r_{sp}=0,64$; $p<0,001$; Abbildung 29), das Gesamteiweiß ($r_{sp}=0,61$; $p<0,001$; Abbildung 31), sowie die Gesamtzellzahl ($r_{sp}=0,98$; $p<0,001$; Abbildung 27).

N=100	Korrelationskoeffizient	Zweiseitige Signifikanz
Gesamteiweiß (A)	0,608	<0,001
NGAL (A)	0,639	<0,001
Calprotectin (A)	0,761	<0,001
Gesamtzellzahl (A)	0,979	<0,001

Tabelle 1: Spearman Rho mit großer Korrelation (aufsteigend)

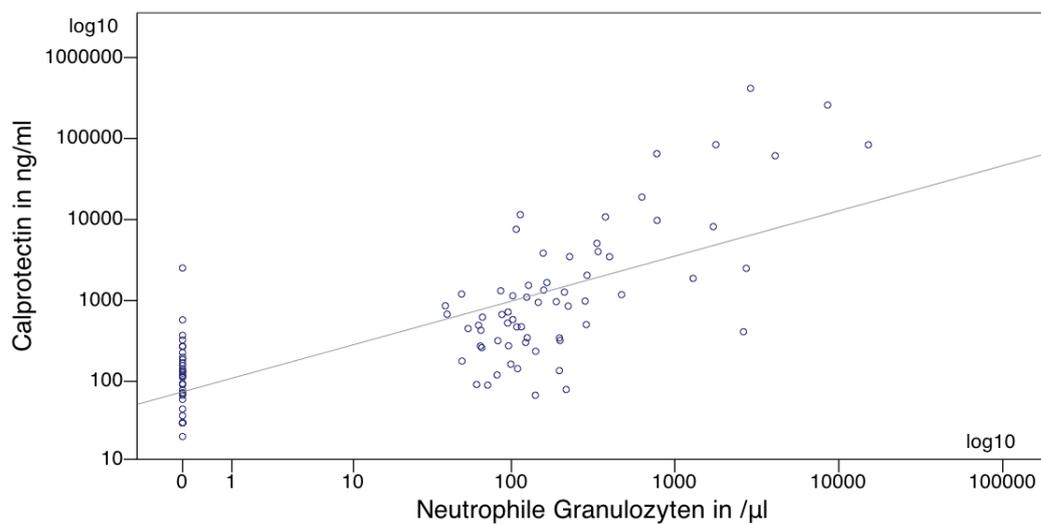


Abbildung 28: Korrelation von Calprotectin mit den neutrophilen Granulozyten im Aszites

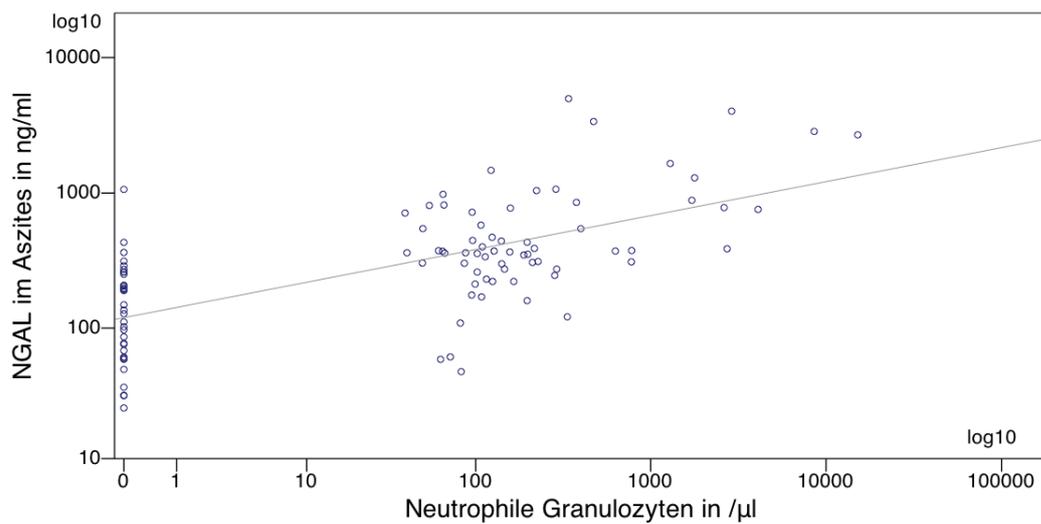


Abbildung 29: Korrelation von NGAL mit den neutrophilen Granulozyten im Aszites

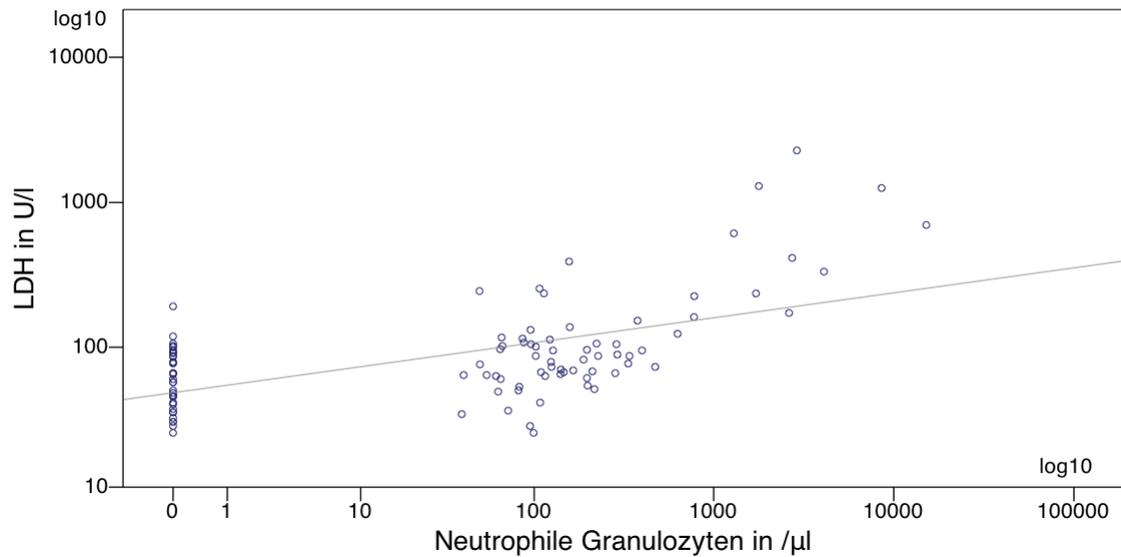


Abbildung 30: Korrelation der LDH mit den neutrophilen Granulozyten im Aszites

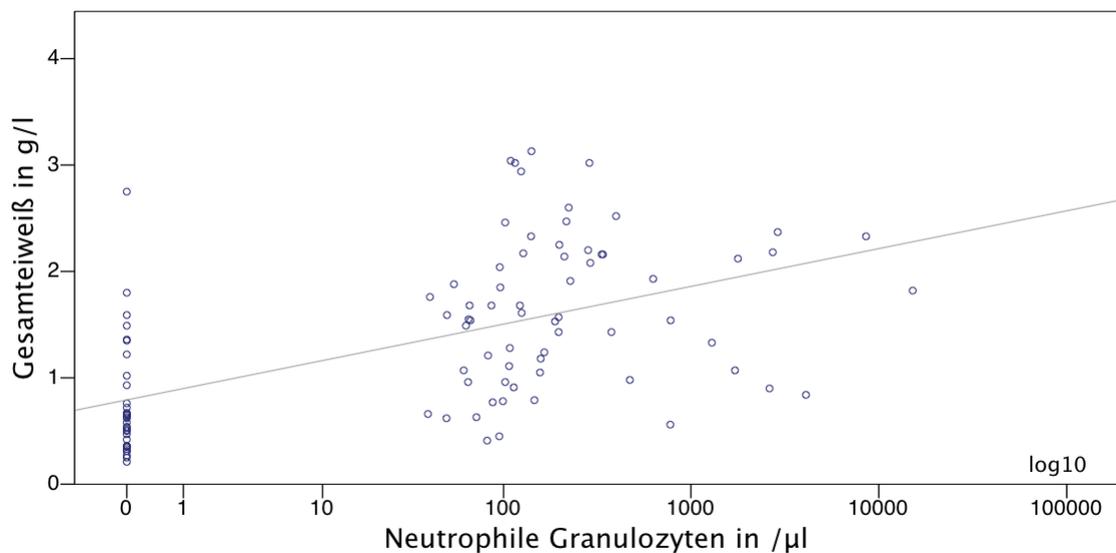


Abbildung 31: Korrelation von Gesamteiweiß mit den neutrophilen Granulozyten im Aszites

Mit Ausnahme des Aszites C-reaktiven Proteins korreliert die Rangfolge aller in Tabelle 2 aufgeführten Parameter signifikant mit der der neutrophilen Granulozyten.

N=100	Korrelationskoeffizient	Zweiseitige Signifikanz
CRP (S)	0,209	0,037
Laktat (A)	0,280	0,005
Albumin (A)	0,336	0,001
Leukozyten Urin Reagenzstreifen	0,491	<0,001
CRP (A)	0,530	<0,001
LDH (A)	0,541	<0,001

Tabelle 2: Rangkorrelation nach Spearman Rho (aufsteigend)

Die Korrelation der Glukose ($r_{sp}=-0,32$; $p<0,001$) sowie des Serum-LDH ($r_{sp}=-0,26$; $p=0,008$) mit den neutrophilen Granulozyten ist gering invers, aber statistisch signifikant (siehe Tabelle 3).

N=100	Korrelationskoeffizient	Zweiseitige Signifikanz
LDH (S)	-0,264	0,008
Glukose (A)	-0,318	0,001

Tabelle 3: Spearman Rho mit negativen Korrelationen

2.2 Unterschiede in der zentralen Tendenz

Zur Untersuchung unverbundenen Stichproben auf Unterschiede in der zentralen Tendenz wurde der Wilcoxon Mann-Whitney-U-Test verwendet. Er wird als nichtparametrischer Test bei nicht-normalverteilten Daten eingesetzt.

2.2.1 Biometrische Daten

Bei den biometrischen Daten Alter ($p=0,760$) und BMI ($p=0,090$) konnte hinsichtlich der beiden Gruppen SBP-krankte und -gesunde Menschen kein signifikanter Unterschied festgestellt werden.

Der Mittelwert der Body-Mass-Indices war bei den Patienten mit einer SBP $26 \pm 5,2 \text{ kg/m}^2$, bei den SBP-negativen betrug dieser $24,7 \pm 6,7 \text{ kg/m}^2$. An der Abbildung 32 können Lage- und Streuungsmaße des BMI abgelesen werden.

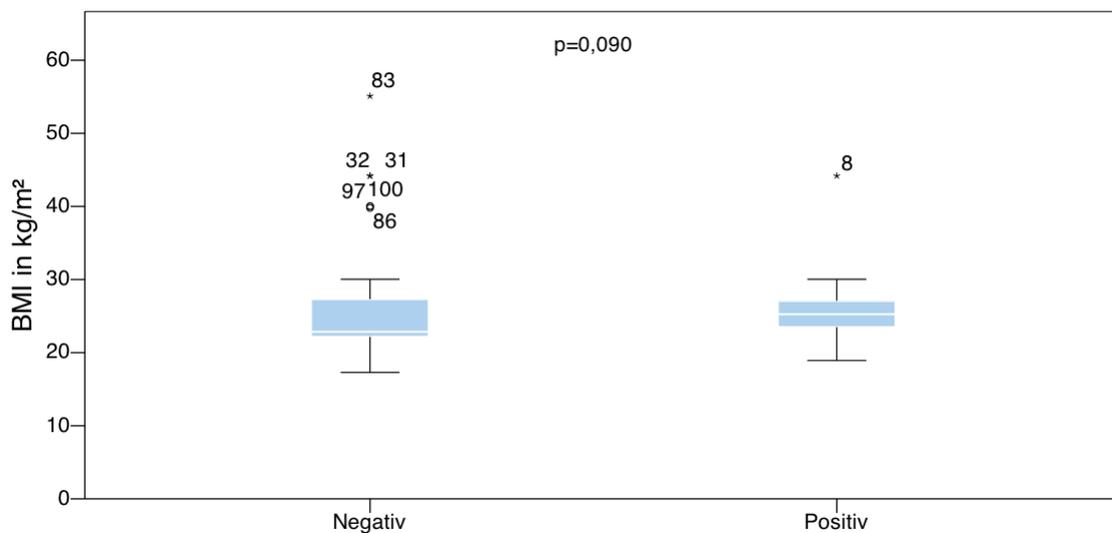


Abbildung 32: Unterschiede des BMI bei SBP-negativen und -positiven Patienten

2.2.2 Krankheitsscores

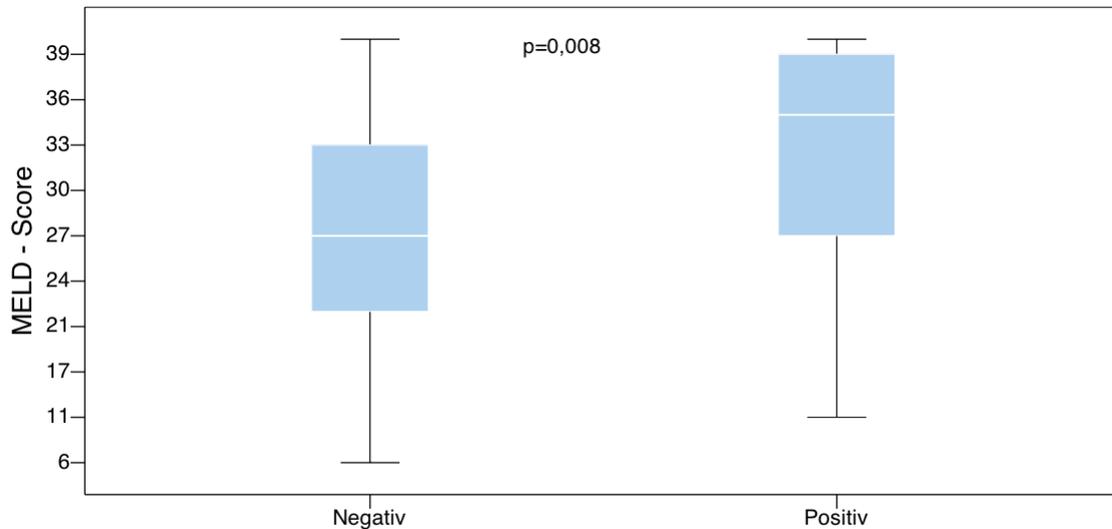


Abbildung 33: Verteilung des MELD-Scores auf SBP-krankte und -gesunde

Sowohl der CHILD-Score ($p=0,353$) als auch der Apache II ($p=0,162$) zeigten hinsichtlich der zentralen Tendenz keine signifikanten Unterschiede in den beiden Gruppen. Der MELD-Score war der einzige Krankheitsscore, der signifikante Unterschiede aufwies ($p=0,008$).

Der Mittelwert der MELD-Werte bei den SBP-positiven Probanden war $32,15 \pm 8,5$, der der negativen $27,3 \pm 7,96$.

2.2.3 Symptomatik und Ausprägung der Lebererkrankung

Signifikante Unterschiede in der allgemeinen Tendenz zwischen SBP-kranken und -gesunden ließen sich in der Ausprägung des Bauchwassers erkennen ($p=0,002$). Der Mittelwert der 80 SBP-negativen Patienten betrug $2,9 \pm 0,4$, bei den 20 SBP-positiven betrug dieser im Mittel $2,6 \pm 0,5$. Sowohl hepatische Enzephalopathie ($p=0,421$), als auch die mithilfe des GCS ($p=1,000$) quantifizierte Vigilanz war in beiden Gruppen nicht signifikant unterschiedlich.

2.2.4 Unterschiede bei Seruminfektionsmarkern

Die im Serum bestimmten Infektionsmarker CRP ($p=0,199$), Laktat ($p=0,361$) und LDH ($p=0,993$) zeigten keine Unterschiede.

2.2.5 Glukose und Serum Aszites Albumingradient

Die Glukose ($p=0,064$) im Aszites ließ anhand des Mann-Whitney U-Tests in der zentralen Tendenz keine signifikanten Unterschiede erkennen. Aufgrund der nur knapp überschrittenen Signifikanzschwelle wurde anschließend noch ein T-Test durchgeführt, anhand welchem sich jedoch auch eine Varianzgleichheit erkennen ließ.

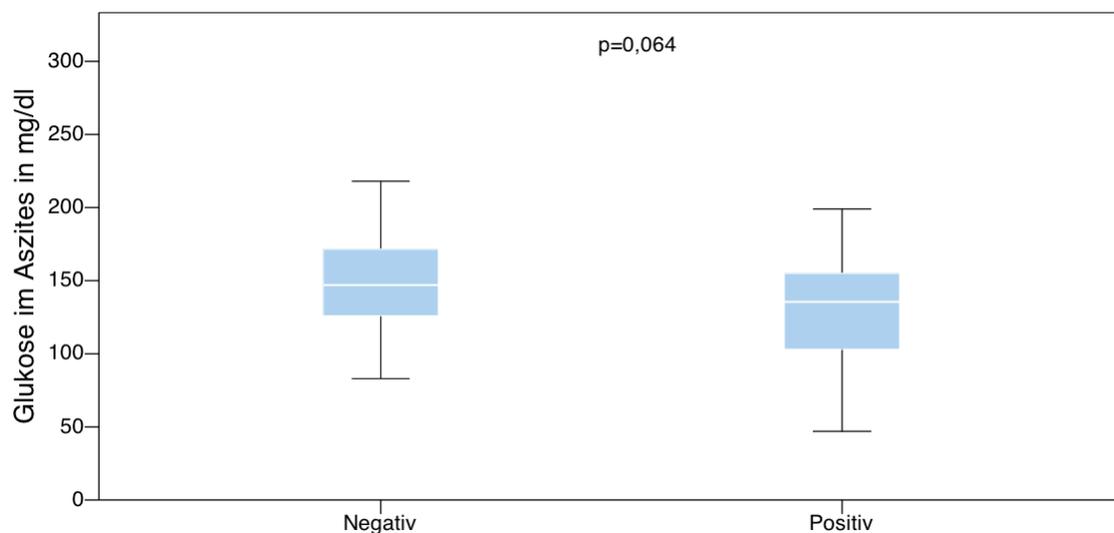


Abbildung 34: Glukose im Aszites

Ermittelter Durchschnitt der SBP-positiven Aszitesglukosewerte war $129,4 \pm 41,5$, die der -negativen $166,8 \pm 170,6$. Der Serum-Aszites Albumingradient zeigte mit Mittelwerten von $2,3 \pm 0,8$ bei SBP-negativen und $1,8 \pm 0,5$ bei den -positiven Patienten signifikante ($p=0,037$) Unterschiede. Beim SAAG wird die Aszitesalbuminkonzentration von der des Serums subtrahiert und die Differenz als Gradient angegeben.

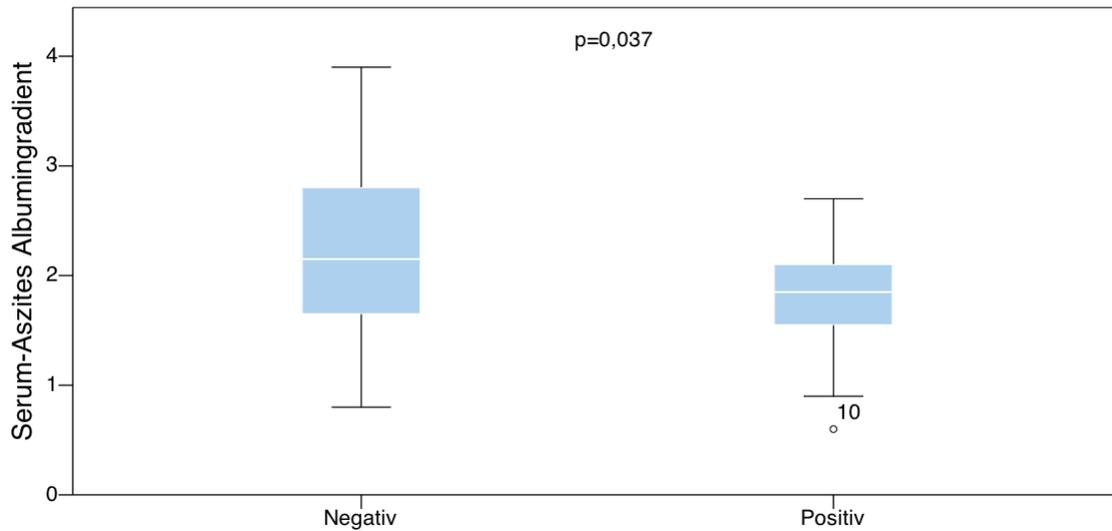


Abbildung 35: SAAG im Aszites

2.2.6 Unterschiede bei CRP, Laktat, Gesamteiweiß und Leukozyten

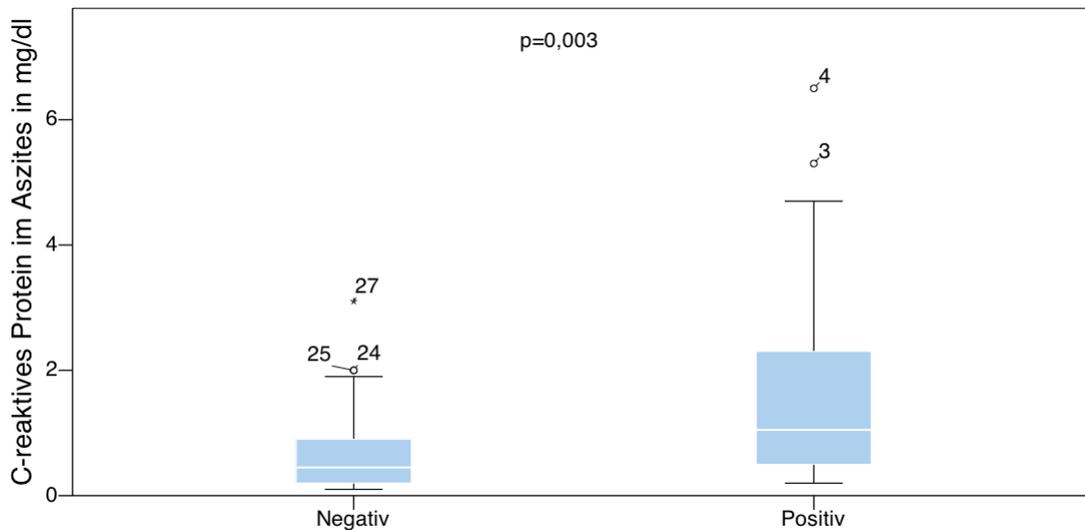


Abbildung 36: CRP im Aszites

Bei CRP ($p=0,003$), Laktat ($p=0,009$) und Gesamteiweiß ($p=0,002$) im Aszites konnten abhängig von einer SBP-Erkrankung signifikante Unterschiede in der allgemeinen Tendenz festgestellt werden.

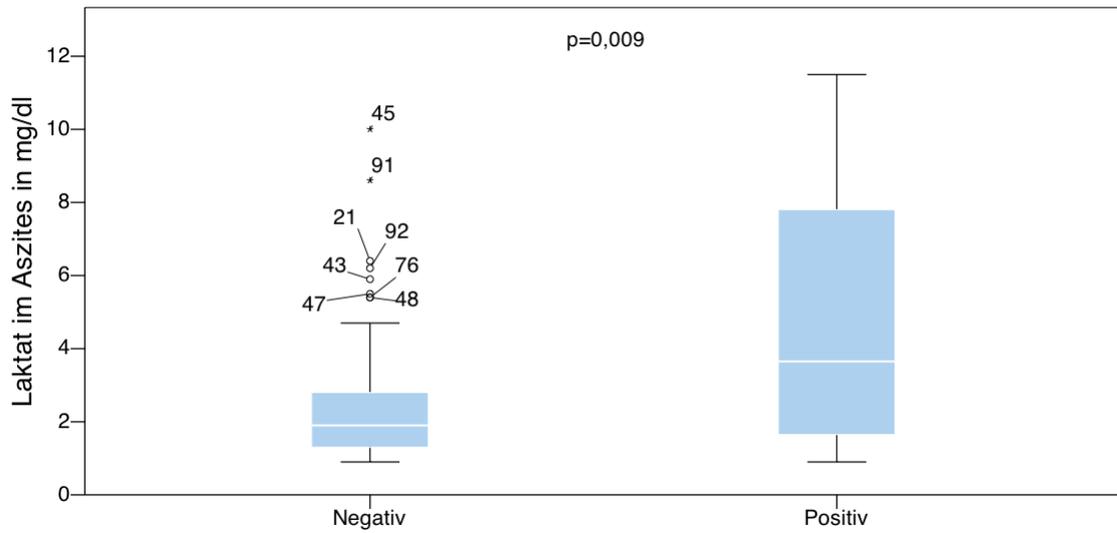


Abbildung 37: Laktat im Aszites

Mittelwerte der SBP-positiven CRP Werte waren $1,7 \pm 1,9$ mg/dl und bei den -negativen $0,6 \pm 0,6$ mg/dl.

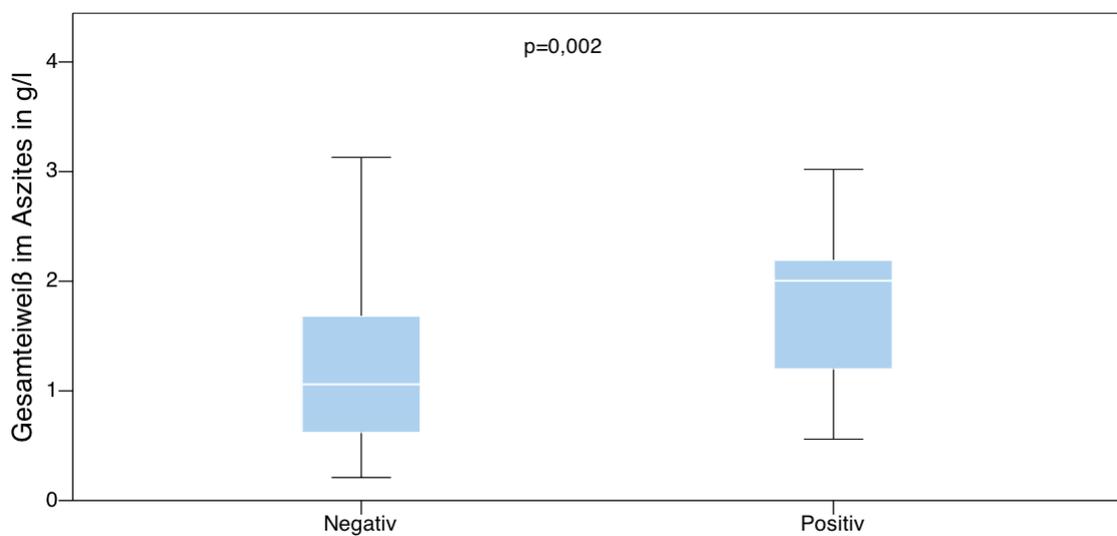


Abbildung 38: Gesamteiweiß im Aszites

Durchschnitt des Asziteslaktats der negativen Ergebnisse war $2,5 \pm 1,7$ mg/dl, bei den positiven betrug dieser $4,7 \pm 3,3$ mg/dl.

Das Gesamteiweiß im Aszites ergab Mittelwerte von $1,8 \pm 0,7\text{g/l}$ bei den positiven Proben und $1,2 \pm 0,8\text{g/l}$ bei den negativen.

Auch die anhand eines Urin-Teststreifens im Bauchwasser bestimmten Leukozyten ($p < 0,001$) zeigten deutliche Unterschiede in den beiden Gruppen.

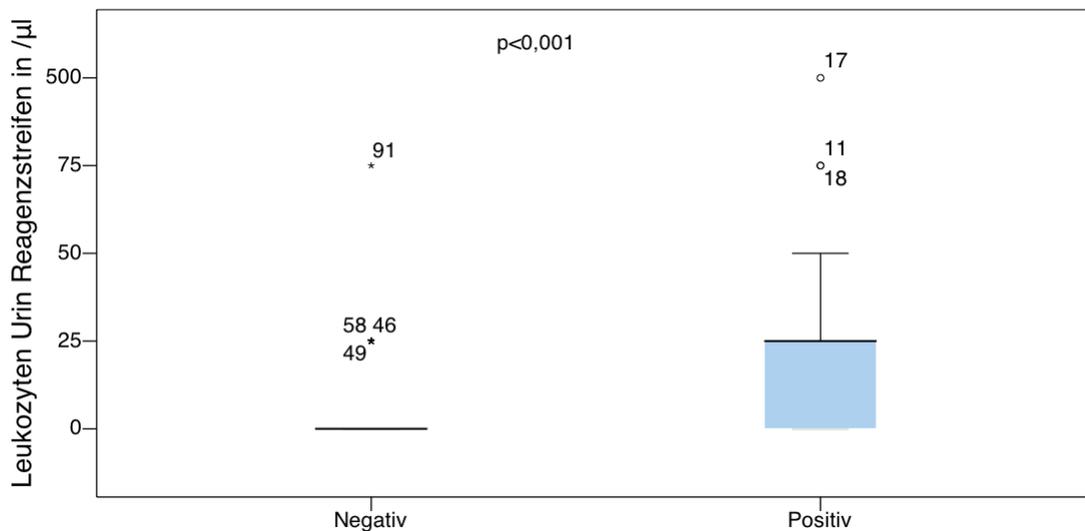


Abbildung 39: Leukozyten im Aszites auf Urin-Teststreifen

So ergaben die zusätzlich errechneten Mittelwerte bei den negativen Proben $4,1 \pm 11,6$ Leukozyten/ μl) und bei den Positiven $43,8 \pm 110/\mu\text{l}$. Die Lage- und Streuungsmaße können der Abbildung 39 entnommen werden.

2.2.7 Zellzahl und Anzahl der Neutrophilen

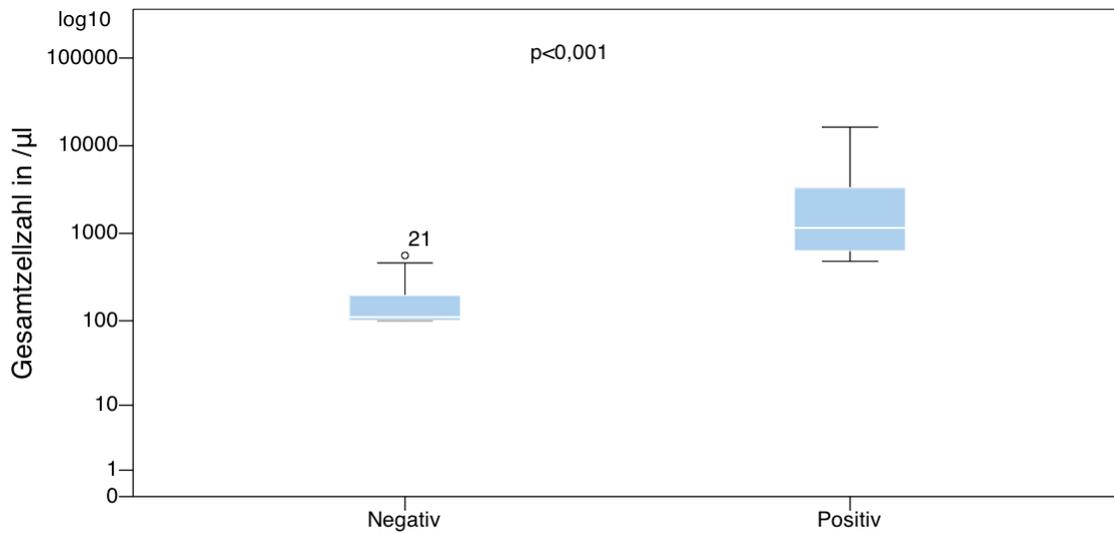


Abbildung 40: Gesamtzellzahl im Aszites

Wie zu erwarten war, bestand ein signifikanter Unterschied bei der Zellzahl ($p < 0,001$) und der Neutrophilenzahl ($p < 0,001$).

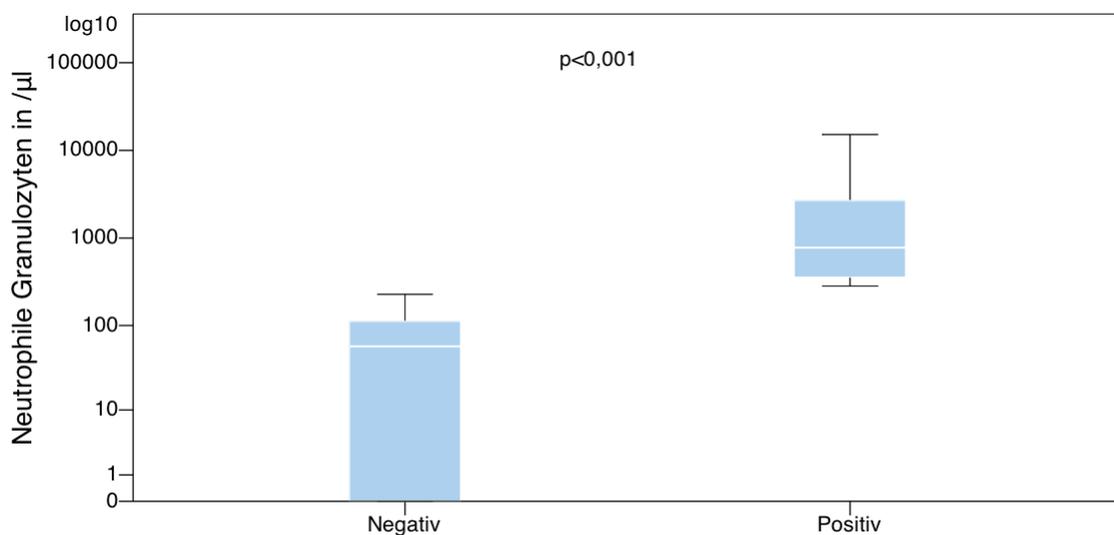


Abbildung 41: Neutrophile Granulozyten im Aszites

Die Mittelwerte der Gesamtzellzahl betragen bei den negativen Proben $166,4 \pm 98,4/\mu\text{l}$, bei den positiven hingegen $2.902,5 \pm 3.913/\mu\text{l}$.

Die bei den neutrophilen Granulozyten errechneten Mittelwerte waren bei SBP-positiven Patienten $2.290,9 \pm 3.610/\mu\text{l}$, bei den -negativen $65,5 \pm 70,5/\mu\text{l}$.

2.2.8 LDH, NGAL und Calprotectin im Aszites

Hoch signifikant ($p < 0,001$) waren auch die Unterschiede zwischen SBP-positiven und -negativen Patienten in den zentralen Tendenzen von LDH, NGAL und Calprotectin im Aszites.

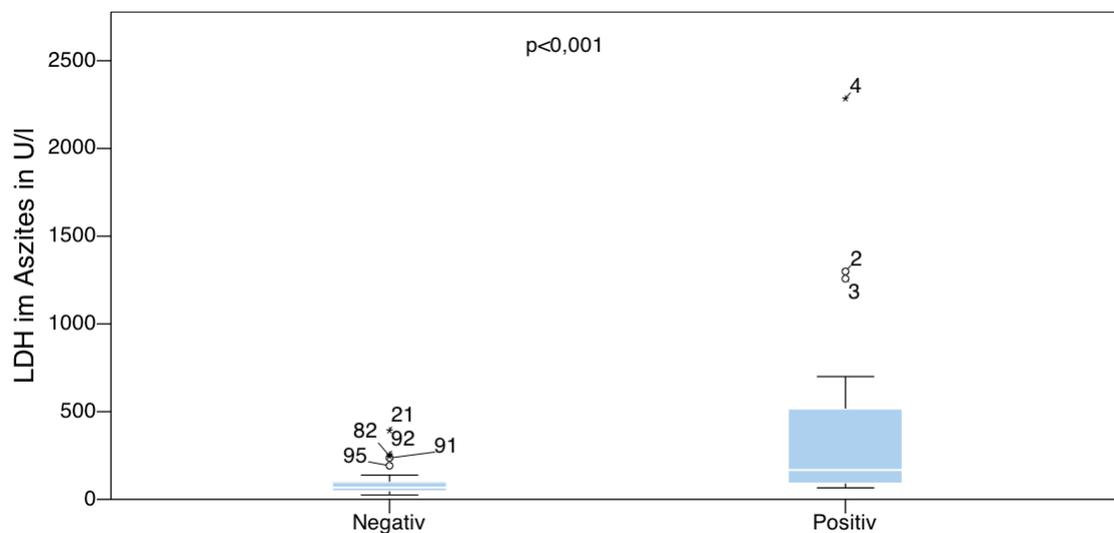


Abbildung 42: LDH im Aszites

Die LDH-Mittelwerte betragen bei den SBP-negativen Ergebnissen $81,6 \pm 57,2\text{U/l}$, bei den -positiven hingegen $428,5 \pm 572\text{U/l}$.

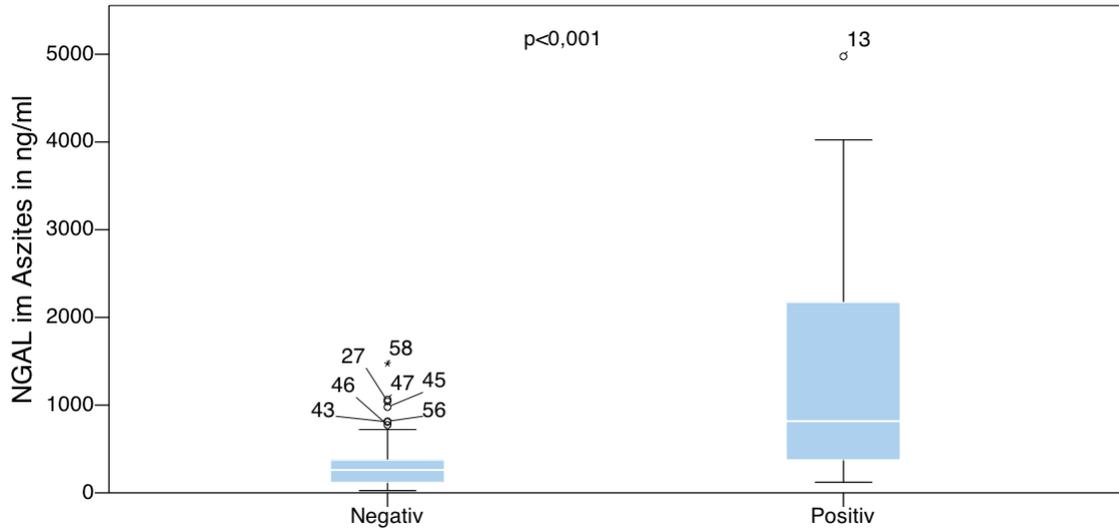


Abbildung 43: NGAL im Aszites

Die Mittelwerte von NGAL bei SBP-negativen Patienten waren $313,4 \pm 268,8$ ng/ml, den SBP-positiven $1.391,6 \pm 1416$ ng/ml.

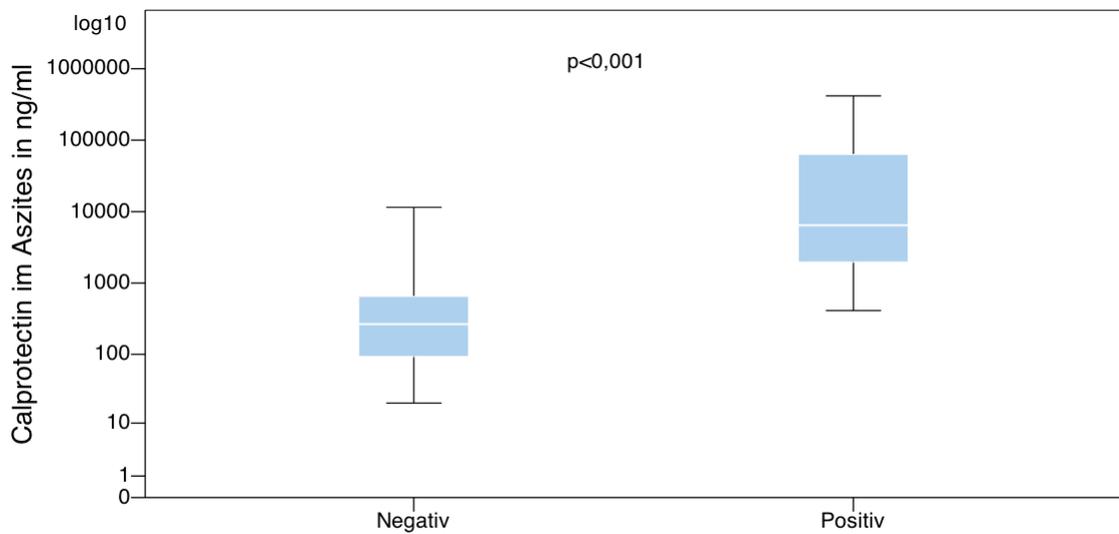


Abbildung 44: Calprotectin im Aszites

Die Mittelwerte des Calprotectins bei den negativen Probanden waren 719 ± 1.610 ng/ml, bei den positiven 51.974 ± 104.966 ng/ml.

2.3 ROC-Kurven

Grenzwertoptimierungskurven (ROC-Kurven) wurden bei den Werten erstellt, die als potenzielle Parameter zur Detektion einer SBP infrage kamen.

Ein positives Testergebnis und damit eine SBP-Erkrankung liegt bei einer Neutrophilenzahl von größer als 250/ μl vor. Diese wurde als Zustandsvariable mit dem Wert 1=positiv zur Ermittlung der ROC-Kurven festgelegt.

2.3.1 Zellzahl und Neutrophilenzahl

Die Gesamtzellzahl gilt als einzige in der Literatur empfohlene diagnostische Alternative zu den neutrophilen Granulozyten. Um die beiden Parameter vergleichen zu können, wurden beide Kurven in eine ROC-Grafik nebeneinander gelegt.

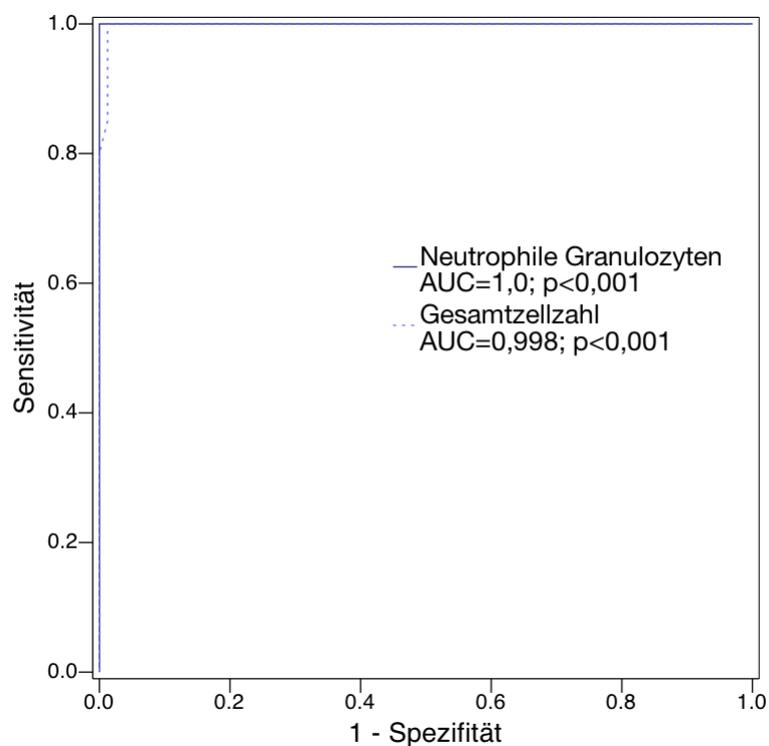


Abbildung 45: ROC-Kurven für Zellzahl und Neutrophilenzahl

Anhand der Kurve war die 100-prozentige Sensitivität und Spezifität der Neutrophilenzahl zu erkennen. Dies lag daran, dass dieser Parameter als Grundlage für die Diagnosestellung der SBP verwendet wurde.

Testergebnis-variablen	Bereich	Standard-fehler	Asymptotische Signifikanz	Asymptotisches 95%-KI	
				Untergrenze	Obergrenze
Gesamtzellzahl	0,998	0,003	0,000	0,993	1,00
Neutrophilenzahl	1,00	0,000	0,000	1,00	1,00

Tabelle 4: Fläche unter der Kurve von Zellzahl und Neutrophilenzahl

Die Kurve der Gesamtzellzahl bewegte sich nahe des Testoptimums. Bei einem Standardfehler von 0,003 ($p < 0,001$) befand sich ein Anteil von 99,8% der Gesamtdiagrammfläche unterhalb der Kurve.

Positiv, wenn größer-gleich	Sensitivität	1 – Spezifität	Spezifität	Youden's J
425	1	0,025	0,975	0,975
470	1	0,012	0,988	0,988
485	0,95	0,012	0,988	0,938

Tabelle 5: Ausschnitt der Kurvenkoordinaten von Zellzahl im Aszites

Um einen geeigneten Cut-off Wert zu bestimmen, wurde der Youden's J-Test verwendet. Der höchste errechnete Wert gibt dabei allgemein den besten Cut-Off Wert an.

Der in der Literatur einvernehmlich empfohlene Grenzwert für die Zellzahl liegt bei 500/ μl (Runyon 2014). Mit einer Sensitivität von 1 und einer Spezifität von 0,988 ließen die vorliegenden Daten auf einen etwas geringeren Cut-Off-Wert von 470/ μl schließen.

2.3.2 Laktat, CRP, Gesamteiweiß und Leukozyten im Aszites

Diese vier Parameter werden in anderen Bereichen der Medizin sehr häufig routinemäßig als Entzündungsmarker verwendet und sind als Infektionsparameter in der SBP-Diagnostik durchaus erfolgversprechend.

So weisen erhöhte Laktatwerte im Aszites auf eine Infektion bakterieller Genese hin und wurden deshalb bei den Parazentesen bestimmt.

Das C-reaktive Protein ist ein vielseitig einsetzbarer inflammatorischer Marker (Clyne and Olshaker 1999), der bisher jedoch als Aszites-Infektionsmarker keine Bedeutung spielte. Er wurde ebenfalls auf die Eignung als diagnostischer Prädiktor der SBP hin überprüft.

Die Konzentration der gesamten im Aszites befindlichen Proteine lässt Rückschlüsse auf die Erkrankungswahrscheinlichkeit der SBP zu.

Unter Verwendung eines bereits vorhandenen Bedside-Tests wurden die Leukozyten i. A. mithilfe eines Urin-Reagenzstreifen bestimmt.

Laktat im Aszites bewegte sich in der Studie zwischen 0,9mg/dl und 11,5mg/dl bei einem Mittelwert von $2,9 \pm 2,3$ mg/dl.

Die CRP-Konzentration im Bauchwasser war minimal 0,1mg/dl und maximal 6,5mg/dl. Der Mittelwert betrug $0,9 \pm 1,1$ mg/dl. Die gemessenen Gesamtproteine lagen zwischen 0,2g/l und 3,1g/l bei einem Mittelwert von $1,3 \pm 0,8$ g/l.

Die Leukozyten waren als minimaler Wert überhaupt nicht bestimmbar und erreichten maximal 500/ μ l. Der Durchschnitt betrug $12 \pm 51,8$ / μ l.

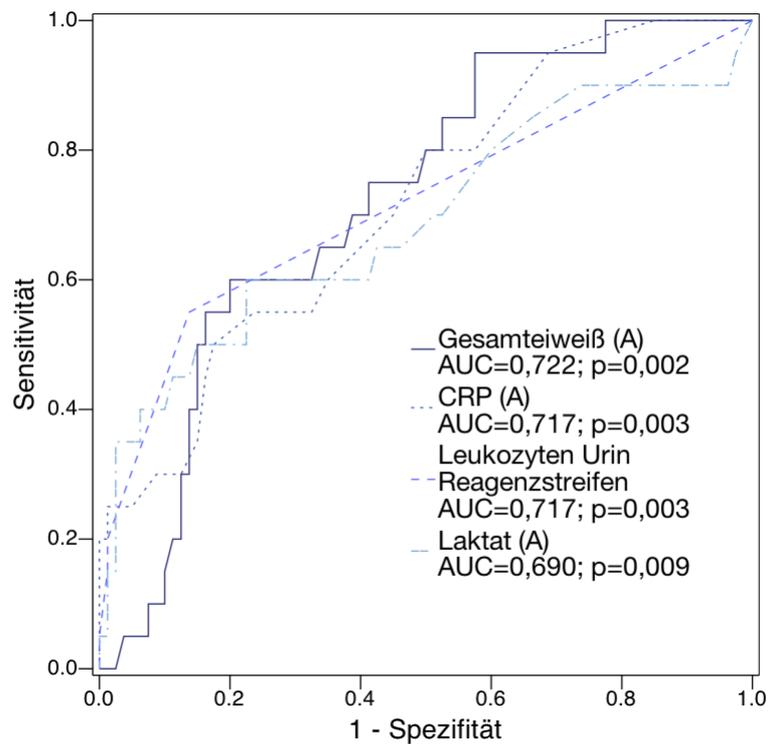


Abbildung 46: ROC-Kurven für Laktat, CRP, Gesamteiweiß und Leukozyten (UStix) im Aszites

Testergebnis-variablen	Bereich	Standardfehler	Asymptotische Signifikanz	Asymptotisches 95%-KI	
				Untergrenze	Obergrenze
Laktat (A)	0,690	0,076	0,009	0,542	0,838
CRP (A)	0,717	0,062	0,003	0,595	0,840
Gesamteiweiß (A)	0,722	0,058	0,002	0,609	0,834
Leukozyten Ustix	0,717	0,073	0,003	0,574	0,859

Tabelle 6: Fläche unter der Kurve von Laktat, CRP, Gesamteiweiß und den Leukozyten auf dem Urin-Stix

Der maximale Youden's J ($J=0,375$) bei Laktat im Aszites ging mit einer Sensitivität von 0,6 und einer Spezifität von 0,775 einher. Der zugehörige beste Trennwert lag bei 3,15mg/dl.

Der optimale Cut-Off für CRP im Aszites betrug 1,05mg/dl und hatte bei einem Youden's J=0,325 eine Sensitivität von 0,5 und eine Spezifität von 0,825.

Der Gesamtproteinwert von 18,1g/l wurde aufgrund des hier maximalen Youden's J von 0,40 als bester Trennwert ermittelt. Dieser hatte eine Sensitivität von 0,6 und eine Spezifität von 0,8.

Mithilfe des Urin-Schnelltests bestimmte Leukozytenwerte von 125 wurden mittels Youden's J (0,413) als bester Cut-Off Wert erkannt. Die zugehörige Sensitivität war 0,55 bei einer Spezifität von 0,863.

	Positiv, wenn \geq	Sensitivität	1- Spezifität	Spezifität	Youden J
Laktat (A)	3,15	0,6	0,225	0,775	0,375
CRP (A)	1,05	0,5	0,175	0,825	0,325
Proteine (A)	18,1	0,6	0,2	0,800	0,400
Leukozyten Ustix	125	0,55	0,137	0,863	0,413

Tabelle 7: Youden's J von Laktat (A), CRP (A), Gesamtproteinen (A) und Leukozyten (UStix)

2.3.3 Laktatdehydrogenase im Aszites

In der Literatur werden erhöhte LDH-Werte bei Peritonitiden beschrieben. Die Laktatdehydrogenase wurde demzufolge in dieser umfassende SBP-Diagnostik-Studie als Marker aufgenommen (Runyon 1988).

Minimal konnte ein Wert von 25U/l und maximal 2.284U/l gemessen werden. Durchschnittlich betragen die LDH-Werte $150,97 \pm 291,3$ U/l.

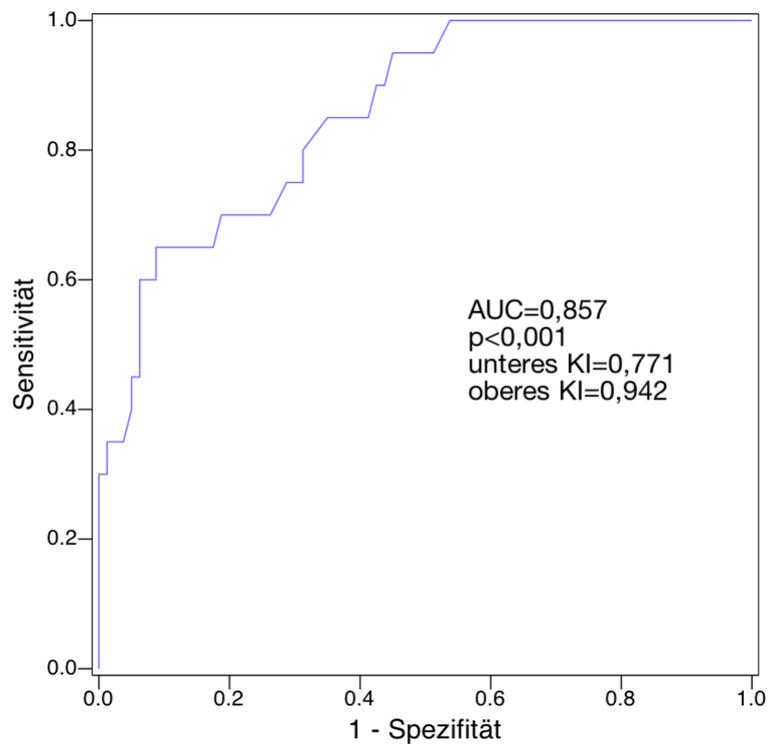


Abbildung 47: ROC-Kurve zur Laktatdehydrogenase im Aszites

Die Fläche unter der Kurve betrug bei der Laktatdehydrogenase 0,857 ($p < 0,001$).

Bereich	Standardfehler	Asymptotische Signifikanz	Asymptotisches 95%-KI	
			Untergrenze	Obergrenze
0,857	0,044	0,000	0,771	0,942

Tabelle 8: Fläche unter der Kurve der Laktatdehydrogenase

Ein geeigneter Cut-Off Wert ließ sich wiederum bei einem Youden's J von 0,5 ermitteln. Der zugehörige Wert von 86,5U/l spiegelte dabei die beste Kombination von Sensitivität (0,85) und Spezifität (0,65) wider.

Positiv, wenn größer-gleich	Sensitivität	1- Spezifität	Spezifität	Youden's J
84	0,85	0,363	0,637	0,487
86,5	0,85	0,35	0,65	0,5
88	0,8	0,313	0,687	0,487

Tabelle 9: Youden's J Ausschnitt der Kurvenkoordinaten der LDH i. A.

2.3.4 NGAL im Aszites

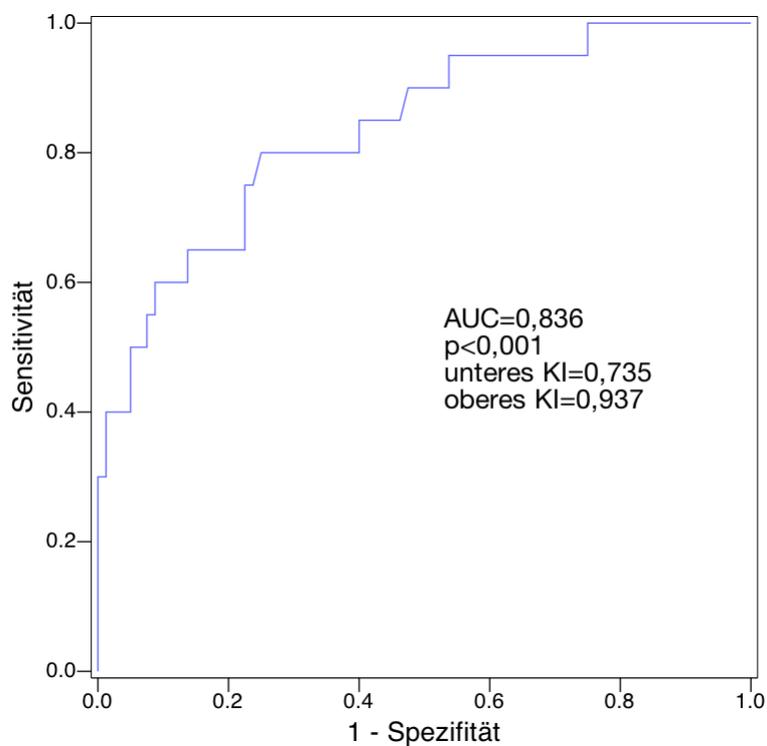


Abbildung 48: ROC-Kurve zu NGAL im Aszites

Bereich	Standardfehler	Asymptotische Signifikanz	Asymptotisches 95%-KI	
			Untergrenze	Obergrenze
0,836	0,052	0,000	0,735	0,937

Tabelle 10: Fläche unter der Kurve von NGAL im Aszites

Die gemessenen NGAL-Werte betragen minimal 25ng/ml und maximal 4.975,2ng/ml. Der Mittelwert lag bei 529,1 ±794,3ng/ml. Die Fläche unter der Kurve betrug bei NGAL als SBP-Test 0,836 (p<0,001). Das höchste Youden's J bei NGAL im Aszites betrug J=0,550. Der zugehörige Wert lag bei 372,2ng/ml. Dieser NGAL-Wert stellte mit einer Sensitivität von 0,8 und einer Spezifität von 0,75 einen geeigneten Cut-Off Wert dar, um eine spontan bakterielle Peritonitis zu erkennen.

Positiv, wenn größer-gleich	Sensitivität	1- Spezifität	Spezifität	Youden's J
369,30	0,8	0,262	0,738	0,538
372,20	0,8	0,25	0,750	0,550
373,90	0,75	0,238	0,762	0,512

Tabelle 11: Youden's J und Kurvenkoordinaten von NGAL i. A.

2.3.5 Calprotectin im Aszites

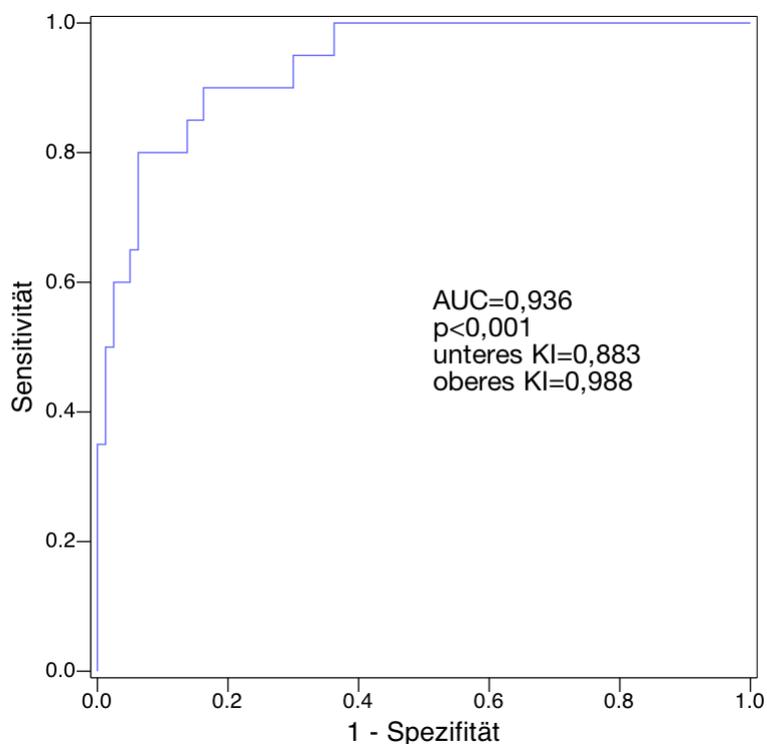


Abbildung 49: ROC-Kurve zu Calprotectin im Aszites

Der Bereich in dem sich die gemessenen Aszitescalprotectinwerte bewegten betrug minimal 20ng/ml und maximal 416.400ng/ml. Durchschnittlich lag der Wert bei $10.970 \pm 51,8$ ng/ml. Die AUC des Calprotectin-Tests betrug 0,936 ($p < 0,001$).

Bereich	Standardfehler	Asymptotische Signifikanz	Asymptotisches 95%-KI	
			Untergrenze	Obergrenze
0,936	0,027	0,000	0,883	0,988

Tabelle 12: Fläche unter der Kurve von Calprotectin im Aszites

Positiv, wenn größer-gleich	Sensitivität	1- Spezifität	Spezifität	Youden's J
959,8	0,9	0,175	0,825	0,725
977,3	0,9	0,162	0,838	0,738
1.042,5	0,85	0,162	0,838	0,688

Tabelle 13: Youden's J und Kurvenkoordinaten von Calprotectin i. A.

Bei einem Wert von 977,3ng/ml hatte der geprüfte Test eine Sensitivität von 0,9 und eine Spezifität von 0,838. Das größte Youden's J von 0,738 gab an, dass diese Kombination die beste Testleistung erbringt.

2.4 Binäre logistische Regressionsanalyse

Mithilfe einer Regressionsanalyse lassen sich die relativen Wahrscheinlichkeiten ermitteln, mit denen eine SBP abhängig von mehreren unterschiedlichen Parametern vorliegt bzw. nicht vorliegt.

2.4.1 Regression mit erweiterten Infektionsparametern

Als abhängige Variable wurde die ordinalskalierte Variable SBP mit den beiden Werten 0=negativ und 1=positiv gewählt; als Kovariaten zunächst die im Aszites bestimmten Parameter Glukose, Gesamteiweiß, LDH, CRP, Laktat, Calprotectin und NGAL.

Mithilfe der Methode „*Schrittweise rückwärts nach Wald*“ konnte zunächst ein R^2 -Wert nach Nagelkerke von 0,795 berechnet werden. Dieser lag nach zwei Analyseschritten immer noch bei 0,788. Das entsprechende R betrug 0,89.

Schritt	2 Log-Likelihood	R^2 nach Cox & Snell	R^2 nach Nagelkerke
1	30,22	0,503	0,795
2	31,037	0,499	0,788

Tabelle 14: Modellübersicht binäre logistische Regression mit erweiterten Parametern

Nach den beiden Schritten war die SBP unabhängig mit vier Parametern assoziiert: Glukose ($p=0,048$), LDH ($p=0,040$), NGAL ($p=0,040$) und Calprotectin ($p=0,006$).

Eine zweite Regressionsgleichung mit lediglich diesen vier Werten resultierte nach zwei Schritten in einem R^2 -Wert nach Nagelkerke von 0,695 und dementsprechend einem R von 0,834. Die verbleibenden signifikanten Marker waren die Glukose ($p=0,048$), das NGAL ($p=0,015$) sowie das Calprotectin ($p=0,001$) im Aszites.

Aus diesen drei Parametern konnte ein Panel erstellt werden, mit dessen Hilfe sich eine spontan bakterielle Peritonitis sehr gut nachweisen lässt. Zur Berechnung wurden die jeweiligen Produkte aus dem Aszitesparameter und dem zugehörigen Regressionskoeffizienten B addiert.

Optimales Panel= $-0,029 \cdot \text{Glukose}(A) + 0,003 \cdot \text{NGAL}(A) + 0,001 \cdot \text{Calprotectin}(A)$

Formel 2: Optimales Panel

Die Formel erlaubt eine extrem genaue Diagnostik der SBP, wie anhand der folgenden ROC-Kurve deutlich gemacht werden soll.

Positiv, wenn größer-gleich	Sensitivität	1- Spezifität	Spezifität	Youden's J
-1,0307	1	0,113	0,887	0,887

Tabelle 15: Kurvenkoordinaten der ROC-Kurve bei dem optimalen Panel

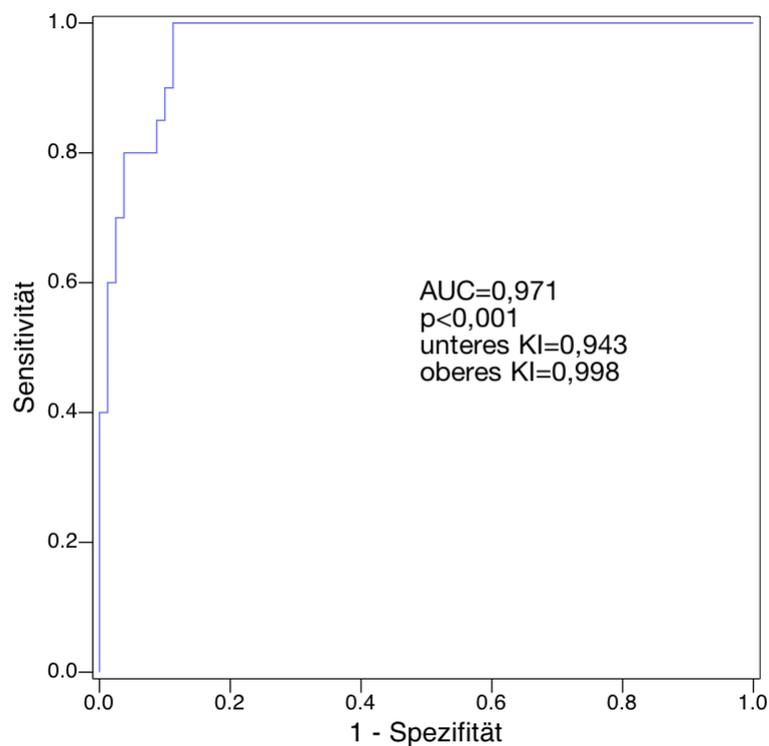


Abbildung 50: ROC-Kurve für das optimale Panel

Anhand der Kurvenkoordinaten und dem Youden's J ließ sich auch hier ein geeigneter Cut-Off-Wert ermitteln. Der Wert lag bei $-1,0307$;

einer zugehörigen Sensitivität von 1 und einer Spezifität von 0,887 ($J=0,887$). Bei Werten unterhalb des Schwellenwertes war von einer SBP auszugehen.

2.4.2 Regression mit bereits etablierten Parametern

Sowohl NGAL als auch Calprotectin im Aszites sind relativ neue und noch nicht in vielen Labors etablierte Marker. Daher bot es sich an, mittels Regressionsanalyse auch gezielt nur den Einfluss der etablierten Laborwerte auf die SBP-Diagnostik zu untersuchen.

Für das vereinfachte Basismodell wurden die besten im letzten Schritt des obigen Modells verbliebenen Parameter verwendet. Auf NGAL und Calprotectin wurde trotz der sehr guten Vorergebnisse bewusst verzichtet.

Schritt	2 Log-Likelihood	R ² nach Cox & Snell	R ² nach Nagelkerke
1	64,050	0,303	0,478
2	64,470	0,300	0,474
3	65,133	0,295	0,466

Tabelle 16: Modellübersicht binäre logistische Regression mit einfachen Parametern

Der R²-Wert nach Nagelkerke fiel mit 0,466 und einem entsprechenden R von 0,68 nach drei Schritten gegenüber dem vorherigen Modell deutlich ab. Angesichts des großen Einflusses von NGAL und Calprotectin auf das Testmodell war eine solche Veränderung zu erwarten.

Die nach drei Schritten verbleibenden signifikanten Parameter waren das Gesamteiweiß ($p=0,021$) sowie die LDH ($p=0,002$) im Aszites.

Aus diesen beiden Werten ließ sich ein für die meisten Labors jederzeit zu ermittelndes vereinfachtes Panel erstellen.

$$\text{Vereinfachtes Panel} = 1,017 \cdot \text{Gesamteiweiß(A)} + 0,014 \cdot \text{LDH(A)}$$

Formel 3: vereinfachtes Panel

Anhand der ROC-Kurve und der Fläche unter der Kurve ließ sich feststellen, dass auch mit diesen beiden etablierten Parametern ein relativ gutes diagnostisches Testpanel kalkulierbar ist.

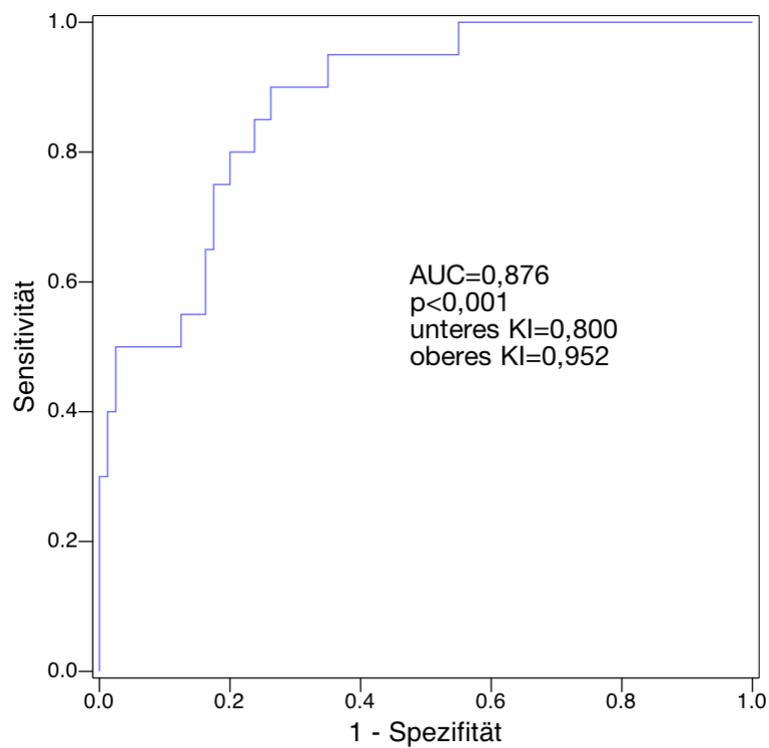


Abbildung 51: ROC-Kurve des vereinfachten Panels

Positiv, wenn größer-gleich	Sensitivität	1- Spezifität	Spezifität	Youden's J
3,1609	0,9	0,2625	0,738	0,638

Tabelle 17: Kurvenkoordinaten mit höchstem Youden's J beim vereinfachten Panels

Mithilfe des Youden's J ($J=0,638$) konnte ein Trennwert von 3,16 ermittelt werden, wobei kleinere Werte eine Erkrankung bedeuten. Bei diesem Cut-Off betrug die Testsensitivität 0,9 und die Spezifität 0,74.

2.4.3 Regression aus zwei Dritteln des Datensatzes

Um die Panels anhand des relativ kleinen Datensatzes validieren zu können, wurden die Daten zunächst nach der Zahl der neutrophilen Granulozyten sortiert und anschließend in Triplets unterteilt. Die jeweils mittleren Punktionsdaten des Triplets wurden für eine neue, ein Drittel des ursprünglichen Datensatzes umfassende, Validierungskohorte ausgewählt. So können die Panels in einem Datensatz evaluiert werden, welcher nicht zu deren Erstellung genutzt wurde.

Eine erneute binäre logistische Regressionsanalyse aus dem 67 Punktionen umfassenden Evaluierungsdatensatz führte in fünf Schritten zu einem R^2 -Wert nach Nagelkerke von 0,854 bzw. $R=0,924$. Es verblieben vier unabhängig mit der SBP assoziierte Parameter: Gesamteiweiß ($p=0,033$), LDH ($p=0,044$), Calprotectin ($p=0,026$) und NGAL ($p=0,013$) im Aszites.

Die sich daraus ergebende Formel sah wie folgt aus:

$$\text{Optimales 2/3-Panel} = 3,54 \cdot \text{Gesamteiweiß(A)} + 0,32 \cdot \text{LDH(A)} + 0,001 \cdot \text{Calprotectin(A)} + 0,003 \cdot \text{NGAL(A)}$$

Formel 4: Optimales Panel ermittelt aus dem zwei Drittel Datensatz

Aus dem zwei Drittel Datensatz ließ sich ebenfalls ein vereinfachtes Panel ohne Calprotectin und NGAL im Aszites ermitteln. Der nach vier Schritten verbleibende R^2 -Wert nach Nagelkerke war hierbei 0,592 bzw. $R=0,77$; die resultierende Formel war folgende:

$$\text{Vereinfachtes 2/3-Panel} = 1,305 \cdot \text{Gesamteiweiß(A)} + 0,026 \cdot \text{LDH(A)}$$

Formel 5: Einfaches Panel ermittelt aus dem zwei Drittel Datensatz

Die beiden ermittelten Panels konnten nun im ein Drittel der Punkti-
onsdaten umfassenden Validierungsdatensatz als weitere Variable
berechnet werden. Anhand von ROC-Kurven wurde anschließend der
diagnostische Nutzen dieser neuen Variable als SBP-Marker über-
prüft. Testendpunkt war eine leitliniengerecht diagnostizierte SBP.

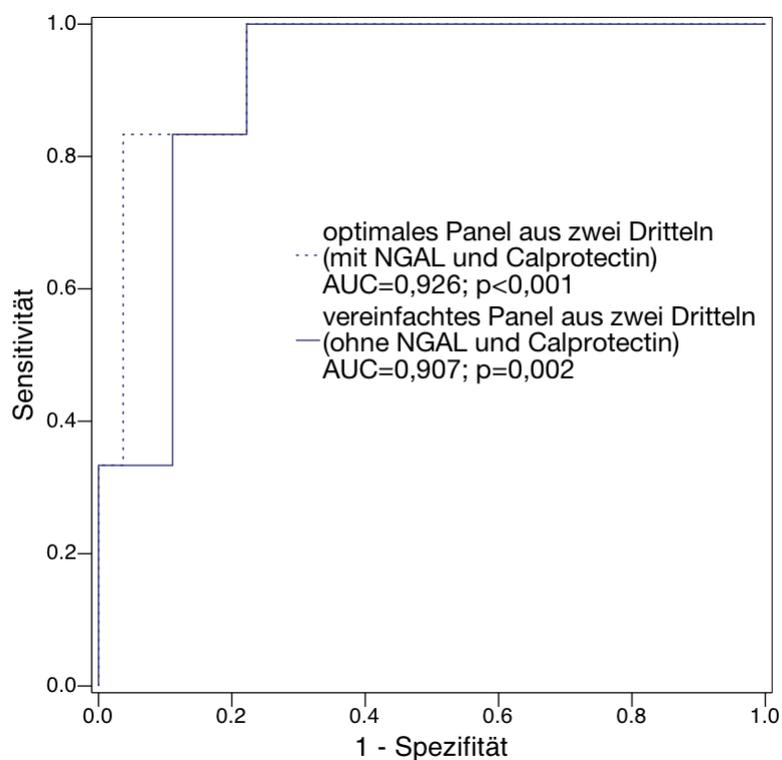


Abbildung 52: ROC-Kurven der Evaluierungsdatensatz-Panels im Validierungsdatensatz

Beim optimalen Panel als SBP-Test ließ sich im Validierungsdaten-
satz eine AUC von 0,926 ($p < 0,001$) berechnen. Das vereinfachte Pa-
nel hatte eine AUC von 0,907 ($p = 0,002$) (siehe Abbildung 52). Beide
Panels konnten also als verlässliche SBP-Marker in Betracht gezogen
werden.

IV. DISKUSSION

1 EINFÜHRUNG

Die Leberzirrhose ist das irreversible Endstadium einer chronischen Leberentzündung, die hauptsächlich durch übermäßigen Alkoholkonsum und virale Hepatitiden verursacht wird. 1,6% der Todesfälle in der Bundesrepublik sind direkt einer Leberzirrhose geschuldet, weit aus mehr jedoch deren Komplikationen.

Eine sehr schwerwiegende und fulminant verlaufende Komplikation ist die spontan bakterielle Peritonitis. Diese entwickelt sich auf Basis von Aszites, welcher sich durch verschiedene Pathomechanismen häufig in Folge einer Leberzirrhose entwickelt.

Die SBP geht mit einem sehr heterogenen und unspezifischen klinischen Bild einher. Eine unverzügliche Diagnostik und gezielte Therapie ist jedoch entscheidend für das weitere Überleben des Patienten. Aktuell liegt die Mortalität dieser Infektion bei 20 bis 30% (Garcia-Tsao 2001, Runyon, Practice Guidelines Committee et al. 2004, Ariza, Castellote et al. 2012). Jede Stunde ohne adäquate Therapie erhöht die Wahrscheinlichkeit des Patienten zu sterben um 3,3% (Runyon 2014).

Eine schnelle und zuverlässige Diagnosestellung ist demnach entscheidend für das Überleben der Patienten.

Der langwierige und aufwändige diagnostische Goldstandard stellt nach wie vor ein großes Problem für die Behandlung der SBP dar (Kim, Tsukamoto et al. 2014). Die Diagnostik erfolgt immer noch

durch manuelle oder mechanische Zellzählung und eine anschließende Zelldifferenzierung. Eine Neutrophilenzahl über $250/\mu\text{L}$ oder eine Gesamtzellzahl von über $500/\mu\text{L}$ besagt, dass eine SBP vorliegt.

Eine schnellere, unkompliziertere und ebenso zuverlässige Alternative würde eine suffizientere Versorgung von Leberzirrhotikern im fortgeschrittenen Erkrankungsstadium ermöglichen. Die Mortalitätsrate könnte durch jede eingesparte Stunde Diagnostik um 3,3% gesenkt werden (Runyon 2014).

Speziell für kleinere Krankenhäuser und Labore sowie niedergelassene Kollegen hätte dies eine große Bedeutung, da diese am meisten von der aufwändigen Diagnostik betroffen sind. Denkbar wäre in Zukunft ein Point-of-Care Verfahren mit biochemischen Parametern zur schnellen Diagnostik einer SBP im klinischen aber auch ambulanten Umfeld.

2 HAUPTERGEBNISSE

2.1 Evaluation der einzelnen Infektionsparameter

Aus den evaluierten Parametern kristallisierten sich im Laufe der statistischen Auswertung drei Werte als besonders geeignet für die SBP-Diagnostik heraus. Die Ergebnisse von Calprotectin, NGAL und LDH als alleinige Marker sollen im Folgenden genauer beleuchtet werden.

2.1.1 Der Nutzen von Calprotectin in der SBP-Diagnostik

Das im Zytoplasma neutrophiler Granulozyten vorkommende Protein Calprotectin wird bei Zelllyse freigesetzt. Es wird beispielsweise in der Stuhldiagnostik chronisch- und akut-entzündlicher Darmerkrankungen eingesetzt. Daher kann der Marker zum Nachweis von akuten Entzündungszellen verwendet und somit auch potentiell in der SBP-Diagnostik eingesetzt werden.

Das in weiteren Studien (Burri, Schulte et al. 2013, Lutz, Pfarr et al. 2015) bereits im Aszites untersuchte Protein zeigte auch in der vorliegenden Studie eine sehr gute und signifikante Korrelation mit den neutrophilen Granulozyten ($r_{sp}=0,761$).

In den beiden Kohorten zeigten sich signifikante Unterschiede ($p<0,001$); so lag der Mittelwert der SBP-kranken Patienten bei 51.974 ± 104.966 ng/ml und der der -gesunden bei 719 ± 1.610 ng/ml.

Es bestanden signifikante Unterschiede zwischen SBP-kranken und -gesunden Patienten sowie eine signifikante Korrelation mit den neutrophilen Granulozyten. Anhand einer Analyse der ROC-Kurve bei $>250/\mu\text{l}$ Neutrophilen wurde die Eignung von Calprotectin als diagnostischer Parameter getestet.

Der Calprotectintest erreichte eine Fläche unter der Kurve von 0,936 ($p<0,001$). Dies konnte die ursprüngliche Annahme bestätigen, dass sich der Infektionsparameter hervorragend als Surrogatmarker für die Neutrophilenzahl eignet.

Die berechnete Fläche unter der Kurve lag zwischen denen der beiden anderen Calprotectin-Studien. Bei Lutz et al. betrug die AUC von Calprotectin 0,85 ($p=0,001$), Burri et al. kam auf eine AUC von 0,977 im Calprotectin-ELISA (Burri, Schulte et al. 2013, Lutz, Pfarr et al. 2015). Die beiden Studien hatten jedoch lediglich Calprotectin und herkömmliche Parameter bestimmt und konnten somit im Gegensatz zu unserer

Arbeit kein umfassendes Portfolio an neuen und vielversprechenden Infektionsmarkern anbieten.

Der mithilfe des Youden's J-Test ermittelte Trennwert lag bei 977,3ng/ml. Hier bestand eine Sensitivität von 0,9 bei einer Spezifität von 0,838.

Burri et al. bestimmten einen Cut-Off bei 630ng/ml mit einer Sensitivität von 0,95 und einer Spezifität von 0,89; Lutz et al. wählten einen äußerst niedrigen Wert von 36,1ng/ml bei einer Sensitivität von 1,0, welche einer sehr geringen Spezifität von nur 0,52 geschuldet ist (Burri, Schulte et al. 2013, Lutz, Pfarr et al. 2015).

Nachteil der beiden Studien (Burri, Schulte et al. 2013, Lutz, Pfarr et al. 2015), die Calprotectin im Aszites evaluierten war, dass nur der eine Parameter in Kombination mit herkömmlichen Markern untersucht wurde. Erst durch eine Gegenüberstellung mit anderen modernen Parametern innerhalb einer Studie kann jedoch ein aussagekräftiger Vergleich gezogen werden.

2.1.2 NGAL im Aszites als Infektionsparameter für die SBP?

Das Neutrophilen gelatinase-assoziierte Lipocalin im Aszites dient im Urin als Marker für das akute Nierenversagen. Allerdings wird auch der Einsatzbereich im Bauchwasser seit einigen Jahren genauer untersucht und als diagnostischer Marker evaluiert (Axelsson, Bergenfeldt et al. 1995, Leung, Lam et al. 2009, Martino, Filippi et al. 2012, Lippi, Caleffi et al. 2013).

Das NGAL korrelierte ($r_s=0,608$) positiv und signifikant ($p<0,001$) mit den neutrophilen Granulozyten. Zu diesem Ergebnis kam auch eine italienische Studie, welche NGAL als potentiellen SBP-Marker untersuchte (Lippi, Caleffi et al. 2013).

In unserer Studie wurde mithilfe des Mann-Whitney U-Tests signifikante Unterschiede zwischen SBP-kranken und -gesunden Patienten erkannt; der NGAL-Mittelwert der positiven Probanden betrug $1.391,58 \pm 1.416,91$ ng/ml, wohingegen der Durchschnittswert der SBP-negativen Probanden $313,41 \pm 268,84$ ng/ml war.

Anhand einer ROC-Kurve und der zugehörigen Fläche unter der Kurve wurde das NGAL als diagnostischer Test auf seinen Nutzen hin überprüft. Die AUC war $0,836$ ($p < 0,001$), der mithilfe des Youden's J-Test ermittelte Cut-Off-Wert lag bei $372,2$ ng/ml. Bei diesem NGAL-Wert betrug die Testsensitivität $0,8$ und die zugehörige Spezifität $0,75$.

Ein Test auf NGAL im Aszites erlaubt demnach eine sichere Aussage darüber, ob eine SBP vorliegt oder nicht.

Der NGAL-Wert kann schnell und ohne aufwändige, manuelle Testmethoden bestimmt werden. Dies ermöglicht eine deutlich schnellere und trotzdem zuverlässige Diagnosestellung der SBP.

Im Gegensatz zu der anderen Studie, die NGAL im Aszites bestimmte (Lippi, Caleffi et al. 2013), lag unser Fokus jedoch nicht nur auf diesem Marker. Die bereits sehr hohe AUC von NGAL wird durch das Calprotectin im direkten Vergleich noch übertroffen. Eine Kombination aus den Parametern erlaubt eine noch sensitivere und spezifischere Diagnostik.

2.1.3 Die LDH im Aszites als SBP-Marker

Das ubiquitär vorkommende Enzym LDH kann im Aszites aus lysierten neutrophilen Granulozyten austreten. Daraus resultiert eine messbare LDH-Konzentrationssteigerung im Bauchwasser. Ein Zusammenhang mit einer spontan bakteriellen Peritonitis ist demzufolge wahrscheinlich.

Tatsächlich lag der Spearman Korrelationskoeffizient signifikant bei $r_{sp}=0,541$ ($p<0,001$). Eine Korrelation war also vorhanden, wenn auch etwas niedriger als angenommen. Die LDH wird in mehreren Studien bei spontan bakteriellen und in noch größerem Rahmen bei sekundären Peritonitiden als signifikant erhöht beschrieben (Runyon 1988, Badawy, Zaher et al. 2013).

Signifikante Unterschiede in der zentralen Tendenz wurden mittels Mann-Whitney U-Test ($p<0,001$) festgestellt. Die Mittelwerte bei den SBP-negativen Ergebnissen betragen $81,6 \pm 57,17$ U/l, bei den positiven waren sie hingegen $428,45 \pm 572$ U/l. G. Lippi et al. kam auf ähnliche Ergebnisse mit Mittelwerten von 129U/l bzw. 481U/l (Lippi, Caleffi et al. 2013).

Die ROC-Kurve bei einer Neutrophilenzahl $>250/\mu\text{l}$ ergab eine Fläche von 0,857 ($p<0,001$) unter der Kurve. Mithilfe des Youden's J-Test ließ sich ein geeigneter Trennwert bestimmen. Dieser zeigt an, ab welchem Wert das Testergebnis als positiv gewertet werden sollte. Nur bei einer tatsächlich vorliegenden Erkrankung soll das Testergebnis auch positiv sein.

Im Falle der LDH wurde bei einem Wert von 86,5U/l die beste Kombination aus einer hohen Sensitivität von 0,85 und einer Spezifität von 0,65 ermittelt. Demzufolge gehen LDH-Werte im Aszites von über 86,5U/l sehr wahrscheinlich mit einer SBP-Erkrankung einher.

2.2 Kombination mehrerer Parameter

Mithilfe binärer logistischer Regressionsanalysen wurde die Abhängigkeit der ermittelten Aszites-Infektionsparameter von der Neutrophilenzahl getestet. Aus den verbleibenden Werten wurden mithilfe der Regressionskoeffizienten geeignete diagnostische Panels errechnet.

Andere Studien, welche neue SBP-Marker evaluierten, bezogen sich bisher nur auf einzelne Werte oder das Verhältnis zwischen zwei Parametern. Ein Panel aus verschiedenen Entzündungsmarkern stellt jedoch einen gänzlich neuen diagnostischen Ansatz dar.

2.2.1 Diagnosepanel aus allen verfügbaren Infektionsmarkern

Als Infektionsparameter im Aszites wurden in dieser Studie Glukose, Gesamteiweiß, LDH, CRP, Laktat, Calprotectin und NGAL bestimmt. Diese stellten die Kovariaten in der Regressionsanalyse. Die SBP, diagnostiziert anhand einer Neutrophilenzahl von $>250/\mu\text{l}$, war die abhängige Variable.

Nach zweimaliger Regressionsanalyse und dem Ausschluss einiger nicht signifikanter Marker blieben Glukose, NGAL und Calprotectin als signifikante Parameter übrig. Aus diesen Werten wurde folgendes Panel erstellt:

$$-0,029 \cdot \text{Glukose (A)} + 0,003 \cdot \text{NGAL (A)} + 0,001 \cdot \text{Calprotectin (A)}$$

In der ROC-Analyse des berechneten Panels betrug die AUC 0,971 ($p < 0,001$). Dies lässt auf extrem genaue Testergebnisse schließen. Bei einem Cut-Off-Wert von $-1,03$ betrug die Testsensitivität 1,0; die Spezifität 0,887. Dabei gehen Werte unterhalb von $-1,03$ mit einer SBP-Erkrankung einher.

Da das Panel sowohl aus dem vollständigen Datensatz errechnet, als auch in ihm getestet wurde, ist eine hinreichende Validierung nicht möglich. Aus diesem Grund wurden die Daten zunächst nach der Zahl der neutrophilen Granulozyten im Aszites sortiert und anschließend die 100 Punktionen in Triplets gegliedert.

Für ein neues, ein Drittel des ursprünglichen Datensatz umfassendes, Validierungskollektiv wurden nun die jeweils mittleren Punktionsdaten aus dem gesamten Datensatz extrahiert.

Aus dem verbleibenden, zwei Drittel der Punktionsdaten umfassenden Evaluierungsdatensatz wurde mittels einer erneuten binären logistischen Regressionsanalyse ein weiteres Panel erstellt. Interessanterweise verblieben hier anstatt der Aszitesglukose das Gesamteiweiß und die LDH neben NGAL und Calprotectin als signifikante Parameter: $3,54 \cdot \text{Gesamteiweiß (A)} + 0,032 \cdot \text{LDH (A)} + 0,001 \cdot \text{Calprotectin (A)} + 0,003 \cdot \text{NGAL (A)}$.

Im Validierungsdatensatz wurde das Panel erneut überprüft. Die ROC-Analyse ergab eine AUC von 0,926 ($p < 0,001$). Das Panel aus dem gesamten Datensatz schnitt mit einer AUC von 0,994 ($p < 0,001$) wie erwartet auch in der Validierungsgruppe sehr gut ab.

Ein Nachteil der beiden Panels ist, dass sie mit Calprotectin und NGAL zwei noch etwas weniger verbreitete und auch teuer zu bestimmende Parameter beinhalten.

2.2.2 Vereinfachtes Diagnosepanel

Um auch ein auch aktuell in der klinischen Praxis nützliches Panel zu berechnen, wurden im Evaluierungs- und dem gesamten Datensatz weitere Regressionsanalysen durchgeführt. Die jeweiligen Formeln wurden diesmal hingegen ohne Calprotectin und NGAL erstellt.

Beide vereinfachte Panels beinhalteten die zwei Parameter LDH und Gesamtweiß. Aus dem gesamten Datensatz wurde folgende Formel errechnet: $1,017 \cdot \text{Gesamteiweiß} + 0,014 \cdot \text{LDH}$; aus dem Evaluierungsdatensatz hingegen: $1,305 \cdot \text{Gesamteiweiß} + 0,026 \cdot \text{LDH}$.

Anhand einer ROC-Analyse wurde die Testperformanz der beiden Panels veranschaulicht. Als positives Testergebnis wurde erneut die Neutrophilenzahl größer $250/\mu\text{l}$ festgelegt und als Datensatz die Validierungskohorte verwendet.

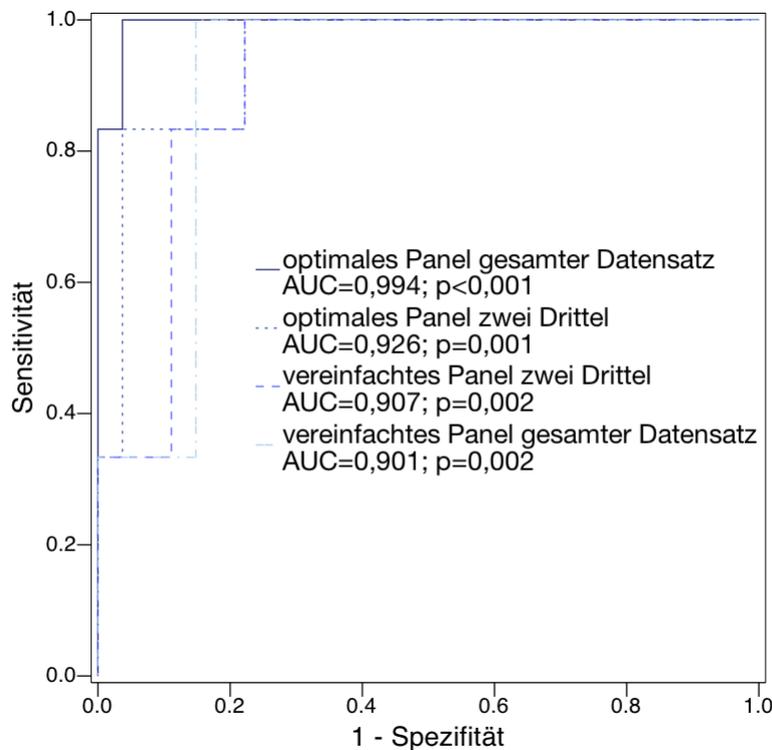


Abbildung 53: Die verschiedenen Panels im Validierungsdatensatz

2.3 Performanz der Diagnoseparameter im gesamten Datensatz

Alle neu ermittelten diagnostischen Optionen wurden bezüglich ihrer Teststärke verglichen. Zellzahl und Neutrophilenzahl wurden bewusst nicht in die Liste aufgenommen.

Die beste Testleistung konnte durch die Messung von NGAL, Calprotectin und Glukose im Aszites und das Berechnen des oben erwähnten optimalen Panels erzielt werden. Im gesamten Datensatz wurde eine AUC von 0,971 ($p < 0,001$) ermittelt (siehe Abbildung 54), im Validierungsdatensatz sogar AUC=0,994 ($p < 0,001$) (siehe Abbildung 53).

Viele Labors und kleinere Kliniken müssen die modernen Testverfahren für diese Parameter jedoch erst etablieren, bevor eine routinemäßige Bestimmung möglich sein wird.

Die ROC-Analyse hat ergeben, dass die Bestimmung von Calprotectin im Aszites die zweitbeste diagnostische Option war. Der Parameter alleine ergab eine AUC von 0,936 ($p < 0,001$) im gesamten Datensatz. In der Validierungskohorte wurde eine AUC von 0,926 ($p = 0,001$) ermittelt. Die Ermittlung des Calprotectins im Aszites anhand nur eines neuen labortechnischen Verfahrens stellt im Vergleich zur Bestimmung mehrerer neuer Werte einen geringeren Kosten- und Zeitaufwand dar.

Jedoch schneidet mit einer AUC von 0,876 ($p < 0,001$) im gesamten und einer AUC von 0,901 ($p = 0,002$) im Validierungsdatensatz auch das vereinfachte Panel aus Gesamteiweiß und der Laktatdehydrogenase sehr gut ab. Er stellt ein schnelles, relativ günstiges und vor allem bereits flächendeckend einsetzbares diagnostisches Werkzeug dar. In weiterführenden Studien mit größeren Fallzahlen sollten die Panels ausreichend validiert und ggf. angepasst werden.

Sowohl NGAL (AUC=0,836; $p < 0,001$) als auch die LDH (AUC=0,857; $p < 0,001$) im Aszites lieferten in der ROC-Analyse des gesamten Datensatzes sehr gute Ergebnisse.

Im kleineren Validierungsdatensatz nimmt LDH mit einer AUC von 0,926 ($p = 0,001$) und NGAL mit einer AUC von 0,852 ($p = 0,008$) eine noch größere Rolle ein. Die beiden Werte stellen damit eine weitere sinnvolle diagnostische Alternative im Rahmen von Point-of-Care Verfahren oder Schnelltests dar. Auch die Ermittlung dieser einzelnen Parameter hat bereits einen großen diagnostischen Mehrwert.

Die folgende ROC-Analyse zeigt eine Aufstellung der aussagekräftigsten Marker NGAL, LDH und Calprotectin im Aszites zusammen mit den errechneten Panels. Hier ist die deutlich bessere Diskriminations-

fähigkeit der beiden Panels im Vergleich zu den darin enthaltenen einzelnen Werten zu erkennen.

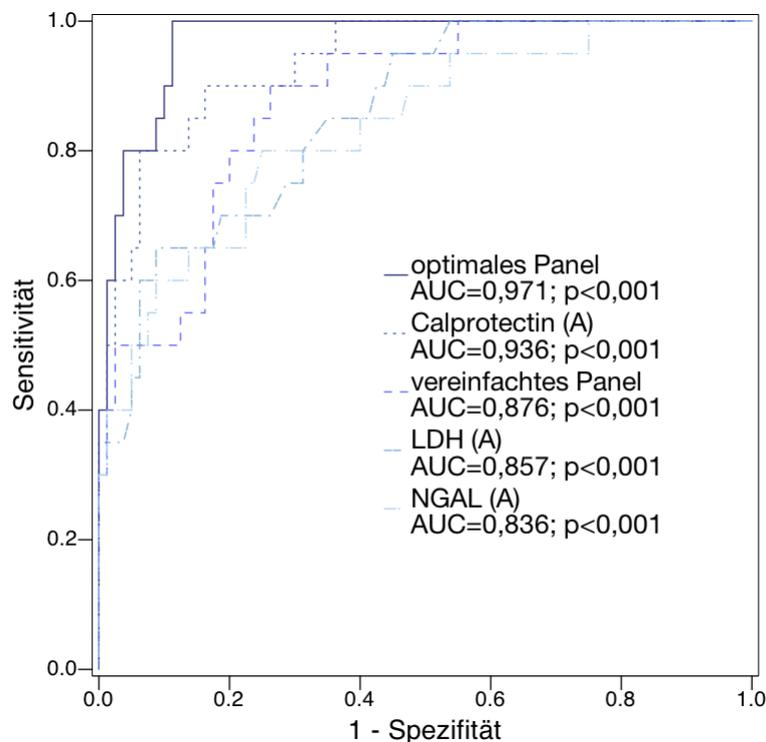


Abbildung 54: ROC-Kurve Zusammenstellung der besten Parameter im gesamten Datensatz

2.4 Schlussfolgerungen und Ausblick

Eine Simplifizierung und Beschleunigung des diagnostischen Prozesses der spontan bakteriellen Peritonitis stellt das bedeutsamste Ziel der Studie dar. Die in der Abbildung 54 aufgeführten Parameter erfüllen als biochemische Marker im Vergleich zu mikroskopisch ermittelten Werten genau diese Prämissen.

Insbesondere mit dem Aszitescalprotectin konnte ein sehr sensitiver und spezifischer Parameter als alleiniges diagnostisches Mittel validiert werden. Auch das NGAL sowie die LDH im Aszites stellen dafür vielversprechende Optionen dar.

Eine Kombination aus den bereits jetzt weit verbreiteten Biomarkern LDH und Gesamteiweiß erlaubt eine kostengünstige und ebenfalls sehr genaue Diagnostik, ohne mit den Nachteilen der mikroskopischen Verfahren konfrontiert zu sein.

Mithilfe einer Kombination verschiedener Werte ist es möglich, die Leistungsfähigkeit mehrerer Parameter (Calprotectin, NGAL, Gesamteiweiß, LDH, Glukose) in einem Panel zusammenzuführen und weiter zu erhöhen, wie sich auch nach Unterteilung des Datensatzes in Evaluations- und Validierungskohorte zeigte.

Das NephroCheck® der Firma Astute Medical® beispielsweise ist ein PoC-Urintest, der in der Diagnostik des akuten Nierenversagens 2015 von der FDA auf dem amerikanischen Markt zugelassen wurde. Anhand der beiden Biomarker TIMP-2 und IGFB-7 können innerhalb von 20 Minuten Testergebnisse abgelesen werden (Hoste, McCullough et al. 2014).

Zur Bestimmung des fäkalen Calprotectins existiert mit Quantum Blue® der Schweizer Firma Bühlmann ebenfalls ein Schnelltest. Dieser wurde bereits in einigen Studien untersucht und erzielte vielversprechende Ergebnisse (Hessels, Douw et al. 2012, Sydora, Sydora et al. 2012, Coorevits, Baert et al. 2013).

Als PoC-Verfahren für NGAL im Serum ist momentan der Alere® Triage NGAL Test als Fluoreszenz-Immunoassay auf dem Markt erhältlich (Haase-Fielitz, Haase et al. 2014). Dieser korreliert laut einer Studie sehr gut mit dem ELISA (Dent, Ma et al. 2007).

Ein ähnliches Verfahren wäre auch mit Calprotectin und NGAL in Kombination mit Glukose denkbar. Niedergelassenen Hepatologen und Klinikärzten stünde damit erstmals ein Verfahren zur Verfügung, um bei Patienten mit Leberzirrhose und allgemeinen Krankheitssymptomen eine SBP vor Ort ausschließen oder diagnostizieren zu können.

Adäquate medizinische Maßnahmen könnten so unmittelbar eingeleitet werden und eine weitere Reduktion der Mortalität erreicht werden.

2.5 Einschränkungen der Studie

Trotz der sehr vielversprechenden Ergebnisse der Studie zur SBP-Diagnostik bleiben einige Punkte, die in weiterführenden Studien verbessert oder angepasst werden sollten.

Zunächst ist das Patientenkollektiv mit nur 36 verschiedenen Probanden relativ klein. Die vielen Mehrfachmessungen, die zwangsläufig bei einer Punktionszahl von 100 durchgeführt wurden, sind statistisch nur teilweise zu korrigieren. Mithilfe der Auftrennung des Datensatzes in Evaluierungs- und Validierungskohorte konnte dieser Einfluss zumindest reduziert werden.

Aus diesen Gründen wäre eine größer angelegte prospektive Studie notwendig, welche die primär herausstechenden Biomarker an einem großen Patientenkollektiv weiter untersucht und ggf. bei der Berechnung von Panels notwendige Anpassungen vornimmt.

3 PATIENTENCHARAKTERISTIKA

3.1 Ätiologie, Biometrie, Alter und Geschlecht

Die Ursache für die Leberzirrhose und damit auch den Aszites war in 75% der Fälle chronischer Alkoholabusus und liegt damit deutlich über den in der Literatur angegebenen 44% (Bell, Manos et al. 2008).

Diese statistische Abweichung kann an der relativ kleinen Patientenzahl liegen. Auch wurde die Arbeitsdiagnose *alkoholische Leberzirrhose* bei dem geringsten Verdachtsmoment bereits schriftlich fixiert; Hepatitiden waren im Patientenkollektiv mit 11% deutlich seltener als die nach Fachliteratur erwarteten 45%.

Der ermittelte 69,4% Männer- und 30,6% Frauenanteil an den Leberzirrhosepatienten entspricht den in Literatur zu findenden epidemiologischen Daten von zwei Dritteln männlichen Patienten zu einem Drittel weiblichen. Das bei beiden Geschlechtern ähnliche Durchschnittsalter von 55,3 Jahren bei Männern und 55,2 Jahren bei Frauen liegt ebenfalls im erwarteten Bereich.

So war einer der männlichen Patienten mit 28 Jahren bei Erstbehandlung vergleichsweise sehr jung und ein anderer mit 71 Jahren sehr alt. Das Alter der Frauen streute hingegen nur zwischen 38 und 66 Jahren.

Anhand des Body-Mass-Index konnten Körpergewicht und -größe der Patienten zusammengefasst und vergleichbar gemacht werden. Die Daten zeigen, dass sich mit einer Ausnahme ($\text{BMI}=55,1\text{kg/m}^2$) alle Patienten im Bereich der Normalverteilung befinden. Der geschlechterübergreifende Mittelwert von $27,3\text{kg/m}^2$ gilt als Präadipositas.

Auch nach Geschlechtern getrennt betrachtet, lassen sich keine großen Unterschiede erkennen. So beträgt der BMI-Mittelwert der weiblichen Studienteilnehmerinnen $26,8 \pm 9,9\text{kg/m}^2$ und der der Männer $27,6 \pm 5,9\text{kg/m}^2$.

Die im Mikrozensus des statistischen Bundesamtes (Statistisches Bundesamt 2013) ermittelten Durchschnittswerte in Deutschland betragen bei Männern $26,5\text{kg/m}^2$ und bei Frauen 25kg/m^2 . Im Patientenkollektiv lagen die männlichen Studienteilnehmer dementsprechend

um 1,1kg/m² und die weiblichen um 1,8kg/m² über dem bundesweiten BMI-Mittel.

3.2 Erkrankungsfortschritt

Anhand der beschriebenen Überlebensraten nach Child-Pugh-Score lässt sich erkennen, dass ein Großteil (83,3%) der Patienten eine 5-Jahres-Überlebenswahrscheinlichkeit von lediglich 21% haben. Nach zehn Jahren wird bei dieser Patientengruppe von einer nahezu 100-prozentigen Mortalität ausgegangen. Anhand des Child-Pugh-Scores lässt sich also der größte Teil des Patientenkollektivs in Bezug auf die Lebererkrankung als schwer krank bezeichnen.

Auch die MELD-Scores der Probanden lassen auf eine durchschnittlich schwere Lebererkrankung schließen. So geht der Mittelwert von 28 statistisch mit einer 3-Monats-Mortalität von 37% einher, falls keine Lebertransplantation vollzogen wird (Kamath, Wiesner et al. 2001).

Vier Patienten (11,1%) hatten einen maximalen Score von 40. Dieser macht bei Erfüllung der übrigen Bedingungen die Zuweisung eines Spenderorgans durch Eurotransplant sehr wahrscheinlich.

Statistisch signifikante Unterschiede zwischen der Gruppe der SBP-positiven und negativen Patienten konnten lediglich beim Model for End-Stage Liver Disease festgestellt werden. Die MELD-Scores der SBP-Kranken betragen im Mittel 32,2 ±8,5, die SBP-Gesunden hatten einen MELD-Mittelwert von 27,3 ±8.

Sowohl beim Apache II als auch beim Child-Pugh-Score ergaben sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den beiden Gruppen.

Der große Anteil schwer kranker Probanden ist dadurch erklärbar, dass die Patienten ausschließlich auf Intensivstation rekrutiert wur-

den. Einschlusskriterium in die Studie war außerdem eine bereits dekompensierte Lebererkrankung bzw. bestehender Aszites.

Die Ausprägung des Bauchwassers zeigte sich in der Gruppe der SBP-positiven Patienten signifikant erhöht. Da eine fortgeschrittene, Lebererkrankung oft mit massivem Aszites und weiteren Komplikationen wie einer SBP einhergeht, war dieses Ergebnis durchaus zu erwarten.

3.3 Mikrobiologische Untersuchung und Antibiose

Die mikrobiologische Untersuchung war lediglich in 22,2% der nicht antibiotisch vorbehandelten Erkrankungsfälle positiv. Dies spiegelte die in der Literatur beschriebenen Positiv-Raten von 34-36% nicht ganz wider (Gerbes, Gulberg et al. 2011). Womöglich liegt dies an der, im Vergleich zu anderen Körperflüssigkeiten, geringen Bakterienkonzentration im Bauchwasser (Bobadilla, Sifuentes et al. 1989).

4 WEITERE INFEKTIONSPARAMETER

4.1 Gesamtzellzahl

Alle vorherigen Untersuchungen wurden auf Basis einer Diagnosestellung nach dem Goldstandard getätigt: erhöhte neutrophile Granulozyten über 250/ μ l. Dies erfordert stets eine erweiterte Zelldifferenzierung des Punktats. Als einfachere Alternative wird bereits seit längerem am ehesten eine erhöhte Gesamtzellzahl über 500/ μ l empfohlen.

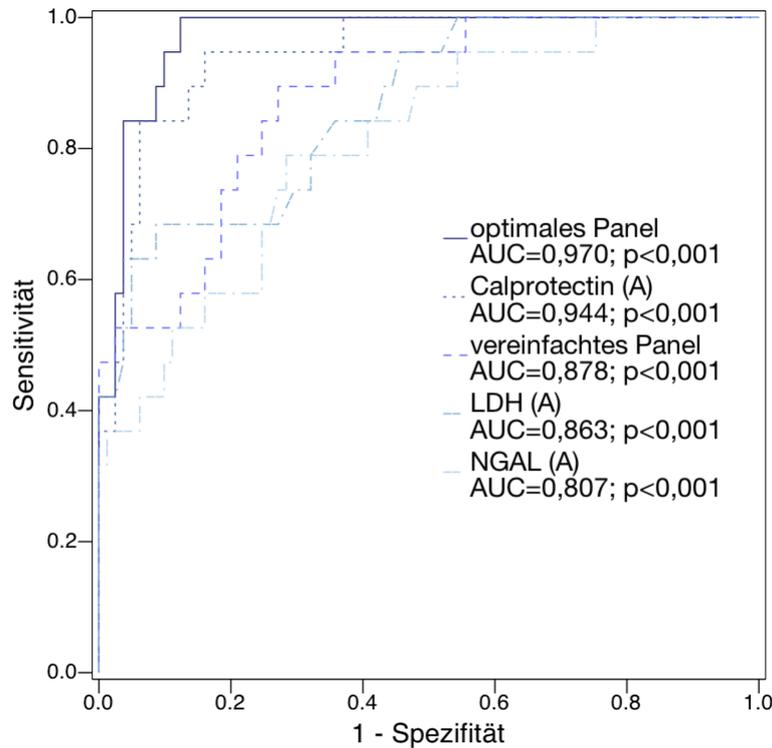


Abbildung 55: ROC-Kurven der besten Parameter mit SBP anhand der Gesamtzellzahl

Sie korreliert stark signifikant ($r_{sp}=0,979$) mit den Neutrophilen. Auch signifikante Unterschiede ($p < 0,001$) in den Gruppen der SBP-positiven und -negativen Patienten konnten festgestellt werden. Die Mittelwerte der Gesamtzellzahl bei den negativen Proben betrug $166,4 \pm 98,4/\mu\text{l}$, bei den Positiven hingegen $2.902,5 \pm 3.913/\mu\text{l}$.

Um die Unterschiede und Gemeinsamkeiten der beiden in den Leitlinien empfohlenen SBP-Marker graphisch darzustellen, wurden die Panels und Parameter auch auf die Diskriminationsfähigkeit zu einer anhand der Gesamtzellzahl diagnostizierten SBP untersucht.

Anhand der Kurven und auch der angegebenen Flächen unter den Kurven wird schnell ersichtlich, dass die Unterschiede zwischen der Neutrophilenzahl und der Gesamtzellzahl als diagnostische Parameter für die spontan bakterielle Peritonitis marginal sind.

Dadurch, dass man die Neutrophilenzahl durch die Gesamtzellzahl als Standarddiagnostik ersetzt, ließe sich immerhin der aufwändige Schritt der Zelldifferenzierung einsparen. Stattdessen wären die Punktate mit einer Gesamtzellzahl von $>500/\mu\text{l}$ als SBP-positiv einzustufen. Eine umständliche, oftmals manuelle Zellzählung im Punktat lässt sich dadurch aber nicht ersparen, was der Zellzahl vor allem als diagnostische Alternative für die Zukunft eine eher untergeordnete Bedeutung zukommen lässt.

4.2 Gesamteiweiß

In verschiedenen Studien (Runyon 1986, Mustafa, Al Mamun et al. 2009) wird die These aufgeworfen, dass niedrige Gesamteiweißlevels mit einem erhöhten SBP-Risiko einhergehen. Im vorliegenden Datensatz hingegen korrelieren die gesamten Proteine ($r_{sp}=0,608$) signifikant positiv mit einer SBP (Runyon 1988). Auch waren die Unterschiede zwischen der Gruppe der SBP-positiven und -negativen Patienten signifikant ($p=0,002$). Das gesamte Eiweiß im Aszites hatte bei den positiven Proben Mittelwerte von $1,8 \pm 0,7\text{g/l}$ und bei den negativen $1,2 \pm 0,8\text{g/l}$.

Dies kann daran liegen, dass im Verlauf einer Entzündung die Eiweißwerte im Aszites in Form von Plasmaproteinen und Entzündungsmediatoren ansteigen, während prä-infektiös niedrige Werte das Risiko für eine SBP erhöhen.

Die Studie von Burri et al. beschreibt ähnliche Funde mit einem Gesamteiweißmedian von 22g/l bei ihren 19 SBP-positiven Patienten und 12g/l bei den 111 -negativen (Burri, Schulte et al. 2013).

4.3 CRP

Das C-reaktive Protein korreliert mit einem Spearman's Rho von 0,53 ($p < 0,001$) hoch signifikant mit der spontan bakteriellen Peritonitis. Im Mann-Whitney U-Test konnten signifikante Unterschiede ($p = 0,003$) festgestellt werden. Auch die CRP Mittelwerte der SBP-positiven Patienten waren mit $1,7 \pm 1,9$ mg/dl deutlich höher als die $0,6 \pm 0,6$ mg/dl bei den -negativen.

Das CRP ist als akute-Phase Protein direkt mit infektiösen Vorgängen im Körper assoziiert und wird dementsprechend in vielen medizinischen Fachbereichen häufig zur Entzündungsdiagnostik verwendet. Es ermöglicht insbesondere eine gute Verlaufsbeurteilung entzündlicher Prozesse. Eine Eignung als Infektionsparameter auch bei Entzündungen innerhalb des Peritoneums ist deshalb naheliegend.

In der ROC-Analyse zeigte das CRP mit einer AUC von 0,72 ($p = 0,003$) nur eine moderat gute Testperformanz. Bei einem Youden's J von 0,325 besteht eine Sensitivität von 0,5 und Spezifität von 0,83. Der zugehörige optimale CRP-Cut-Off-Wert liegt bei 1,1 mg/dl.

4.4 Glukose

Zwischen der Glukose und den neutrophilen Granulozyten im Aszites besteht eine signifikante, gering inverse Korrelation ($r_{sp} = -0,318$). Im Mann-Whitney U-Test sind die Unterschiede zwischen den beiden Gruppen knapp nicht signifikant ($p = 0,064$). Der Durchschnittswert der SBP-positiven Aszitesglukosewerte lag bei $129,4 \pm 41,5$ mg/dl, der der -negativen bei $166,8 \pm 170,6$ mg/dl.

Dieser inverse Zusammenhang wird auch von Runyon beschrieben (Runyon 1988). Ursächlich dafür ist vermutlich ein übermäßiger Glukoseverbrauch der für die SBP verantwortlichen Bakterien.

4.5 Leukozyten auf Urin-Teststreifen

Die Korrelation von Urin-Reagenzstreifen-Leukozyten im Aszites ($r_{sp}=0,491$; $p<0,001$) mit den neutrophilen Granulozyten ist moderat positiv und signifikant. Der errechnete Mittelwert der negativen Proben betrug $4,1 \pm 11,6/\mu\text{l}$, der der positiven lag bei $43,8 \pm 110/\mu\text{l}$. Die Unterschiede waren statistisch signifikant ($p<0,001$).

Leukozyten dienen in vielen medizinischen Bereichen seit langem als Entzündungsmarker. Aus diesem Grund überrascht eine Korrelation und Unterschiede zwischen Patienten mit und ohne Entzündung nicht.

Anhand der ROC-Analyse wurde eine Fläche unter der Kurve von 0,72 ($p=0,003$) ermittelt. Dieses Ergebnis fällt jedoch recht deutlich hinter die eingangs aufgeführten Spitzenwerte zurück. Der Cut-Off Wert von $125/\mu\text{l}$ wurde mittels Youden's J ($J=0,413$) ermittelt. Die zugehörige Sensitivität lag jedoch nur bei 0,55, die Spezifität bei 0,86. Auch andere Studien kamen bereits zu ähnlichen Ergebnissen mit niedriger Sensitivität und hoher Spezifität (Nousbaum, Cadranel et al. 2007).

4.6 Laktat

Das Laktat ($r_{sp}=0,280$) korrelierte im Aszites lediglich gering positiv mit der Neutrophilenzahl. Es wird in Übereinstimmung mit den Ergebnissen auch von früheren Studien bereits als effektiver SBP-Marker angezweifelt (Stassen, McCullough et al. 1986, Runyon and Antillon 1991).

Die statistisch ermittelten Unterschiede zwischen SBP-positiven und -negativen Probanden in der zentralen Tendenz waren beim Laktat signifikant ($p=0,009$). Die Mittelwerte bei den SBP-negativen betragen $2,5 \pm 1,7$ mg/dl und bei den -positiven $4,7 \pm 3,3$ mg/dl.

Die Fläche unter der Kurve in der ROC-Analyse betrug 0,690 ($p=0,009$). Der maximale Youden's J ($J=0,375$) liegt bei einem Laktatwert von 3,2mg/dl. Dabei hat der Test eine Sensitivität von 0,6 und einer Spezifität von 0,78. Dies zeigte insgesamt eine bestenfalls mäßige Eignung zu Unterscheidung von Patienten mit und ohne SBP

V. ZUSAMMENFASSUNG

Die Leberzirrhose ist das irreversible Endstadium einer chronischen Lebererkrankung. Als Hauptursache dafür gilt der chronischen Alkoholabusus. Häufigste Infektion bei Patienten mit Aszites bei Leberzirrhose ist die spontan bakterielle Peritonitis (Fernandez, Navasa et al. 2002). Deren fulminanter Verlauf resultiert in einer Mortalität von 20 bis 30% (Garcia-Tsao 2001, Thuluvath, Morss et al. 2001, Runyon, Practice Guidelines Committee et al. 2004, Ariza, Castellote et al. 2012). Das Mortalitätsrisiko steigt bei verzögerter Therapie stündlich um ca. 3% (Runyon 2014).

Entscheidend für ein positives Outcome ist eine rasche Diagnosestellung sowie ein unverzüglicher Beginn der Therapie. Problematisch hierbei sind das sehr unspezifische und heterogene klinische Bild sowie die zeit- und personalintensive Labordiagnostik.

Als diagnostischer Goldstandard gilt noch immer eine erhöhte Neutrophilenzahl im Aszites über 250/ μ l. Zur Bestimmung erfolgt als erster Schritt eine aufwändige manuelle Auszählung durch geschultes Personal oder Zählautomaten. Anschließend findet eine Zelldifferenzierung statt (European Association for the Study of the Liver 2010).

Mit dem Ziel schneller und einfacher zu ermittelnde diagnostische Parameter zu evaluieren, wurde zunächst eine umfassende Auswahl an biochemischen Entzündungsmarkern im Aszites bestimmt. Anhand von ROC-Kurven wurden die jeweiligen Testleistungen mit dem Goldstandard, den neutrophilen Granulozyten, verglichen. Mittels Regressionsanalysen wurden aus besonders sensitiven und spezifischen Parametern Panels erstellt, die noch genauere Tests ermöglichten.

Das Panel aus Glukose, NGAL und Calprotectin hatte eine AUC von 0,971 ($p < 0,001$). Der gewählte Cut-Off Wert von $-1,03$ ging mit einer

Sensitivität von 1,0 sowie einer Spezifität von 0,887 einher. Panel-Werte darunter sind ein verlässlicher Hinweis auf eine SBP. Das Calprotectin im Aszites ergab die zweitgrößte $AUC=0,936$ ($p<0,001$). Ein Cut-Off Wert von 977,3ng/ml erzielte eine Sensitivität von 0,9 und eine Spezifität von 0,838.

Der Wert mit der drittgrößten AUC ($0,876$; $p<0,001$) war das Panel aus LDH und Gesamteiweiß. Eine Bestimmung der beiden etablierten Parameter ist einfach und kostengünstig möglich. Sowohl LDH ($AUC=0,857$; $p<0,001$) als auch NGAL ($AUC=0,836$; $p<0,001$) runden die Testparameter mit den größten AUCs ab.

Die biochemischen Parameter haben den großen Vorteil, dass sie im Gegensatz zur Zellzahl vollautomatisch bestimmt werden können. Für Calprotectin im Stuhl gibt es mit dem Quantum Blue®-Test bereits ein Point-of-Care Verfahren. NGAL kann im Serum mithilfe des Alere Triage® NGAL Tests bettseitig bestimmt werden. Ein PoC-Test der zwei biochemische Marker kombiniert ist der NephroCheck®. Er wird bereits in der Diagnostik des akuten Nierenversagens verwendet.

Die neu gewonnenen Daten lassen die Annahme zu, dass ein Test mit Calprotectin und NGAL die Zellzahl als diagnostischen Goldstandard der spontan bakteriellen Peritonitis ablösen kann.

Die erstmalig in dieser Studie ermittelte Kombination aus Calprotectin und NGAL ermöglicht einerseits eine schnelle und unkomplizierte Testung, gewährleistet andererseits jedoch auch eine sehr hohe Testsensitivität und -spezifität. Die langsame und aufwändige Standarddiagnostik ist ein Grund für die aktuell noch sehr hohe Mortalität der SBP. Eine Überholung des aktuellen Goldstandards ist unausweichlich.

Die schnelleren, einfacher zu ermittelnden und ebenso zuverlässigen neuen Biomarker gewährleisten eine rundum bessere Diagnostik. Ein besseres Patientenoutcome ist möglich.

ABBILDUNGSVERZEICHNIS

ABBILDUNG 1: MAKROSKOPISCHES BILD EINER LEBERZIRRHOSE (GHODART 2014)	3
ABBILDUNG 2: ÄTIOLOGIE DER LEBERZIRRHOSE (WIEGAND AND BERG 2013)	6
ABBILDUNG 3: ALKOHOLISCHE LEBERZIRRHOSE, TRICHRMFÄRBUNG (NEPHRON 2009)	7
ABBILDUNG 4: SPIDER NAEVI BEI EINEM PATIENTEN MIT LEBERZIRRHOSE (FRED AND VAN DIJK 2008)	10
ABBILDUNG 5: DURCH ASZITES GESPANNTES ABDOMEN (HELLMAN 2011).....	14
ABBILDUNG 6: SKIZZIERUNG EINER ASZITESPUNKTION (BLAUSEN STAFF 2014)	25
ABBILDUNG 7: KRISTALLSTRUKTUR DES NEUTROPHILEN GELATINASE-ASSOZIIERTEN LIPOCALIN (EMW 2009).....	35
ABBILDUNG 8: KRISTALLSTRUKTUR DES PROTEINS CALPROTECTIN (CZEER 2015)	36
ABBILDUNG 9: CHILD-PUGH-SCORE (CHILD AND TURCOTTE 1964, PUGH, MURRAY- LYON ET AL. 1973).....	38
ABBILDUNG 10: ÜBERLEBENS RATEN NACH DEM CHILD-PUGH-SCORE.....	39
ABBILDUNG 11: 3-MONATS-MORTALITÄT OHNE TRANSPLANTATION ANHAND DES MELD-SCORES	40
ABBILDUNG 12: VIERFELDERTAFEL ZUR BESTIMMUNG VON SENSITIVITÄT UND SPEZIFITÄT	42
ABBILDUNG 13: PUNKTIONSHÄUFIGKEIT	45
ABBILDUNG 14: ÄTIOLOGIE DER LEBERZIRRHOSE.....	46
ABBILDUNG 15: GESCHLECHTERVERTEILUNG	47
ABBILDUNG 16: ALTERSVERTEILUNG.....	47
ABBILDUNG 17: ALTERSVERTEILUNG AUFGETEILT NACH GESCHLECHTERN.....	48

ABBILDUNG 18: VERTEILUNG VON KÖRPERGRÖÙE UND -GEWICHT	48
ABBILDUNG 19: VERTEILUNG DES BODY-MASS-INDEX.....	49
ABBILDUNG 20: BIOMETRISCHE DATEN	49
ABBILDUNG 21: HÄUFIGKEITSVERTEILUNG DES CHILD-PUGH-SCORES.....	50
ABBILDUNG 22: VERTEILUNG DES MELD SCORES	51
ABBILDUNG 23: VERTEILUNG DER APACHE II SCORES	52
ABBILDUNG 24: STREUUNG UND LAGE VON ZELLZAHL UND NEUTROPHILEN GRANULOZYTEN.....	53
ABBILDUNG 25: VERTEILUNG DER GESAMTZELLZAHL IM ASZITES	54
ABBILDUNG 26: VERTEILUNG DER NEUTROPHILENZAHL	55
ABBILDUNG 27: KORRELATION VON GESAMTZELLZAHL UND NEUTROPHILEN GRANULOZYTEN IM ASZITES.....	56
ABBILDUNG 28: KORRELATION VON CALPROTECTIN MIT DEN NEUTROPHILEN GRANULOZYTEN IM ASZITES.....	57
ABBILDUNG 29: KORRELATION VON NGAL MIT DEN NEUTROPHILEN GRANULOZYTEN IM ASZITES	57
ABBILDUNG 30: KORRELATION DER LDH MIT DEN NEUTROPHILEN GRANULOZYTEN IM ASZITES	58
ABBILDUNG 31: KORRELATION VON GESAMTEIWEIÙ MIT DEN NEUTROPHILEN GRANULOZYTEN IM ASZITES.....	58
ABBILDUNG 32: UNTERSCHIEDE DES BMI BEI SBP-NEGATIVEN UND -POSITIVEN PATIENTEN	60
ABBILDUNG 33: VERTEILUNG DES MELD-SCORES AUF SBP-KRANKE UND -GESUNDE	61
ABBILDUNG 34: GLUKOSE IM ASZITES	62
ABBILDUNG 35: SAAG IM ASZITES	63
ABBILDUNG 36: CRP IM ASZITES.....	63

ABBILDUNG 37: LAKTAT IM ASZITES	64
ABBILDUNG 38: GESAMTEIWEIß IM ASZITES	64
ABBILDUNG 39: LEUKOZYTEN IM ASZITES AUF URIN-TESTSTREIFEN	65
ABBILDUNG 40: GESAMTZELLZAHL IM ASZITES.....	66
ABBILDUNG 41: NEUTROPHILE GRANULOZYTEN IM ASZITES.....	66
ABBILDUNG 42: LDH IM ASZITES	67
ABBILDUNG 43: NGAL IM ASZITES	68
ABBILDUNG 44: CALPROTECTIN IM ASZITES.....	68
ABBILDUNG 45: ROC-KURVEN FÜR ZELLZAHL UND NEUTROPHILENZAHL	69
ABBILDUNG 46: ROC-KURVEN FÜR LAKTAT, CRP, GESAMTEIWEIß UND LEUKOZYTEN (USTIX) IM ASZITES.....	72
ABBILDUNG 47: ROC-KURVE ZUR LAKTATDEHYDROGENASE IM ASZITES	74
ABBILDUNG 48: ROC-KURVE ZU NGAL IM ASZITES.....	75
ABBILDUNG 49: ROC-KURVE ZU CALPROTECTIN IM ASZITES	76
ABBILDUNG 50: ROC-KURVE FÜR DAS OPTIMALE PANEL.....	79
ABBILDUNG 51: ROC-KURVE DES VEREINFACHTEN PANELS	81
ABBILDUNG 52: ROC-KURVEN DER EVALUIERUNGSDATENSATZ-PANELS IM VALIDIERUNGSDATENSATZ	83
ABBILDUNG 53: DIE VERSCHIEDENEN PANELS IM VALIDIERUNGSDATENSATZ	92
ABBILDUNG 54: ROC-KURVE ZUSAMMENSTELLUNG DER BESTEN PARAMETER IM GESAMTEN DATENSATZ	94
ABBILDUNG 55: ROC-KURVEN DER BESTEN PARAMETER MIT SBP ANHAND DER GESAMTZELLZAHL	100

LITERATURVERZEICHNIS

Abrams, G. A., J. Concato and M. B. Fallon (1996). "Muscle cramps in patients with cirrhosis." Am J Gastroenterol **91**(7): 1363-1366.

Ackerman, Z. (1996). "Ascites in Nephrotic syndrome. Incidence, patients' characteristics, and complications." J Clin Gastroenterol **22**(1): 31-34.

Akriviadis, E. A. and B. A. Runyon (1990). "Utility of an algorithm in differentiating spontaneous from secondary bacterial peritonitis." Gastroenterology **98**(1): 127-133.

Albillos, A., V. Cuervas-Mons, I. Millan, T. Canton, J. Montes, C. Barrios, A. Garrido and P. Escartin (1990). "Ascitic fluid polymorphonuclear cell count and serum to ascites albumin gradient in the diagnosis of bacterial peritonitis." Gastroenterology **98**(1): 134-140.

Almdal, T. P. and T. I. Sorensen (1991). "Incidence of parenchymal liver diseases in Denmark, 1981 to 1985: analysis of hospitalization registry data. The Danish Association for the Study of the Liver." Hepatology **13**(4): 650-655.

Angeli, P., G. Albino, P. Carraro, M. Dalla Pria, C. Merkel, L. Caregaro, E. De Bei, A. Bortoluzzi, M. Plebani and A. Gatta (1996). "Cirrhosis and muscle cramps: evidence of a causal relationship." Hepatology **23**(2): 264-273.

Angeloni, S., G. Nicolini, M. Merli, F. Nicolao, G. Pinto, T. Aronne, A. F. Attili and O. Riggio (2003). "Validation of automated blood cell counter for the determination of polymorphonuclear cell count in the ascitic fluid of cirrhotic

patients with or without spontaneous bacterial peritonitis." Am J Gastroenterol **98**(8): 1844-1848.

Anthony, P. P., K. G. Ishak, N. C. Nayak, H. E. Poulsen, P. J. Scheuer and L. H. Sobin (1978). "The morphology of cirrhosis. Recommendations on definition, nomenclature, and classification by a working group sponsored by the World Health Organization." J Clin Pathol **31**(5): 395-414.

Ariza, X., J. Castellote, J. Lora-Tamayo, A. Girbau, S. Salord, R. Rota, J. Ariza and X. Xiol (2012). "Risk factors for resistance to ceftriaxone and its impact on mortality in community, healthcare and nosocomial spontaneous bacterial peritonitis." J Hepatol **56**(4): 825-832.

Axelsson, L., M. Bergenfeldt and K. Ohlsson (1995). "Studies of the release and turnover of a human neutrophil lipocalin." Scand J Clin Lab Invest **55**(7): 577-588.

Backhaus, K., B. Erichson, W. Plinke and R. Weiber (2011). Multivariate Analysemethoden: Eine anwendungsorientierte Einführung, Springer-Verlag Berlin Heidelberg.

Badawy, A. A., T. I. Zaher, S. M. Sharaf, M. H. Emara, N. E. Shaheen and T. F. Aly (2013). "Effect of alternative antibiotics in treatment of cefotaxime resistant spontaneous bacterial peritonitis." World J Gastroenterol **19**(8): 1271-1277.

Baskol, M., O. Ozbakir, R. Coskun, G. Baskol, R. Saraymen and M. Yucesoy (2004). "The role of serum zinc and other factors on the prevalence of muscle cramps in non-alcoholic cirrhotic patients." J Clin Gastroenterol **38**(6): 524-529.

Bell, B. P., M. M. Manos, A. Zaman, N. Terrault, A. Thomas, V. J. Navarro, K. B. Dhotre, R. C. Murphy, G. R. Van Ness, N. Stabach, M. E. Robert, W. A. Bower, S. R. Bialek and A. N. Sofair (2008). "The epidemiology of newly diagnosed chronic liver disease in gastroenterology practices in the United States: results from population-based surveillance." Am J Gastroenterol **103**(11): 2727-2737.

Berg, T. (2009). "Diagnostik bei erhöhten Leberwerten." Der Gastroenterologe **4**(6): 557-572.

BioPorto Diagnostics, A. S. (2014). NGAL Rapid ELISA Kit CE IVD Cat.No. KIT 037CE.

Blausen staff (2014). "Blausen gallery 2014." Wikiversity Journal of Medicine: Abdominal Paracentesis. This image was donated by Blausen Medical.

Bobadilla, M., J. Sifuentes and G. Garcia-Tsao (1989). "Improved method for bacteriological diagnosis of spontaneous bacterial peritonitis." J Clin Microbiol **27**(10): 2145-2147.

Burri, E., F. Schulte, J. Muser, R. Meier and C. Beglinger (2013). "Measurement of calprotectin in ascitic fluid to identify elevated polymorphonuclear cell count." World J Gastroenterol **19**(13): 2028-2036.

Castera, L. and M. Pinzani (2010). "Biopsy and non-invasive methods for the diagnosis of liver fibrosis: does it take two to tango?" Gut **59**(7): 861-866.

Cereto, F., J. Genesca and R. Segura (2004). "Validation of automated blood cell counters for the diagnosis of spontaneous bacterial peritonitis." Am J Gastroenterol **99**(7): 1400.

Charlton, M. R., M. Kondo, S. K. Roberts, J. L. Steers, R. A. Krom and R. H. Wiesner (1997). "Liver transplantation for cryptogenic cirrhosis." Liver Transpl Surg **3**(4): 359-364.

Child, C. G. and J. G. Turcotte (1964). "Surgery and portal hypertension." Major Probl Clin Surg **1**: 1-85.

Chinnock, B., H. Afarian, H. Minnigan, J. Butler and G. W. Hendey (2008). "Physician clinical impression does not rule out spontaneous bacterial peritonitis in patients undergoing emergency department paracentesis." Ann Emerg Med **52**(3): 268-273.

Clasen, W. and H.-G. Sieberth (1988). "Lactat - Ein wertvoller Indikator in der Intensivmedizin." Dtsch Arztebl International **85**(24): A-1823-A-1824.

Clerico, A., C. Galli, A. Fortunato and C. Ronco (2012). "Neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) as biomarker of acute kidney injury: a review of the laboratory characteristics and clinical evidences." Clin Chem Lab Med **50**(9): 1505-1517.

Clyne, B. and J. S. Olshaker (1999). "The C-reactive protein." J Emerg Med **17**(6): 1019-1025.

Coorevits, L., F. J. Baert and H. J. Vanpoucke (2013). "Faecal calprotectin: comparative study of the Quantum Blue rapid test and an established ELISA method." Clin Chem Lab Med **51**(4): 825-831.

Czeer (2015). Calprotectin. Calprotectin-4GGF.png.
<https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Calprotectin-4GGF.png>, wikimedia common. **430 × 448 pixels**: Crystal structure of Mn²⁺ and Ca²⁺ loaded

calprotectin, showing two S100A108-S100A109 dimers. The grey and blue chains represent S100A108 and S100A109, respectively. Purple spheres represent Mn²⁺ and green spheres represent Ca²⁺. Only one manganese ion can bind per calprotectin dimer.

Dent, C. L., Q. Ma, S. Dastrala, M. Bennett, M. M. Mitsnefes, J. Barasch and P. Devarajan (2007). "Plasma neutrophil gelatinase-associated lipocalin predicts acute kidney injury, morbidity and mortality after pediatric cardiac surgery: a prospective uncontrolled cohort study." Crit Care **11**(6): R127.

Ebrahimi, T., H. Pirasteh, B. Rezakhaniha, B. Dormanesh, R. G. Rabati, E. Yahaghi and A. Mokarizadeh (2015). "The value of U-NGAL expression as a potential prognostic biomarker in patients with renal cancer after neoadjuvant chemotherapy with cisplatin." Tumour Biol.

el-Touny, M., L. Osman, T. Abd-el Hamid and M. S. Sabbour (1989). "Re-evaluation of the value of ascitic fluid pH lactate dehydrogenase and total proteins in the diagnosis of spontaneous bacterial peritonitis (SBP)." J Trop Med Hyg **92**(1): 6-9.

Emw (2009). Protein LCN2 PDB 1dfv. Protein_LCN2_PDB_1dfv.png.
https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Protein_LCN2_PDB_1dfv.png, wikimedia common. **923 × 551 pixels, file size: 309 KB, MIME type: image/png:**
Structure of the LCN2 protein. Based on PyMOL rendering of PDB 1dfv.

European Association for the Study of the Liver (2010). "EASL clinical practice guidelines on the management of ascites, spontaneous bacterial peritonitis, and hepatorenal syndrome in cirrhosis." J Hepatol **53**(3): 397-417.

European Association for the Study of the Liver (2012). "EASL Clinical Practical Guidelines: Management of Alcoholic Liver Disease." J Hepatol **57**: 399-420.

Fauci, A., E. Braunwald, D. Kasper, S. Hauser, D. Longo, J. Jameson and J. Loscalzo (2008). Harrison's Principles of Internal Medicine, McGraw-Hill Publishing.

Fay, M. P. and M. A. Proschan (2010). "Wilcoxon-Mann-Whitney or t-test? On assumptions for hypothesis tests and multiple interpretations of decision rules." Stat Surv **4**: 1-39.

Fernandez, J., M. Navasa, J. Gomez, J. Colmenero, J. Vila, V. Arroyo and J. Rodes (2002). "Bacterial infections in cirrhosis: epidemiological changes with invasive procedures and norfloxacin prophylaxis." Hepatology **35**(1): 140-148.

Fogel, M. R., V. K. Sawhney, E. A. Neal, R. G. Miller, C. M. Knauer and P. B. Gregory (1981). "Diuresis in the ascitic patient: a randomized controlled trial of three regimens." J Clin Gastroenterol **3 Suppl 1**: 73-80.

Fred, H. L. and H. A. van Dijk (2008). Spider nevus. Spider_nevus.jpg.
<http://cnx.org/content/m14900/latest/>, Wikimedia Commons **319 × 537**: Gigantic cutaneous arterial spiders - This 47-year-old patient had longstanding jaundice and ascites consequent to biopsy-proven hepatic cirrhosis.

Friedrich-Rust, M., M. F. Ong, S. Martens, C. Sarrazin, J. Bojunga, S. Zeuzem and E. Herrmann (2008). "Performance of transient elastography for the staging of liver fibrosis: a meta-analysis." Gastroenterology **134**(4): 960-974.

Garcia-Tsao, G. (2001). "Current management of the complications of cirrhosis and portal hypertension: variceal hemorrhage, ascites, and spontaneous bacterial peritonitis." Gastroenterology **120**(3): 726-748.

Garcia-Tsao, G., F. Y. Lee, G. E. Barden, R. Cartun and A. B. West (1995). "Bacterial translocation to mesenteric lymph nodes is increased in cirrhotic rats with ascites." Gastroenterology **108**(6): 1835-1841.

Gerbes, A. L., V. Gulberg, T. Sauerbruch, R. Wiest, B. Appenrodt, M. J. Bahr, M. M. Dollinger, M. Rossle and M. Schepke (2011). "[German S 3-guideline "ascites, spontaneous bacterial peritonitis, hepatorenal syndrome"]." Z Gastroenterol **49**(6): 749-779.

Ghodart, T. (2014). Cirrhosis, with fatty degeneration of the liver. w. f. d. o. t. l. W. L. j. Cirrhosis.
http://wellcomeimages.org/indexplus/obf_images/0c/6c/f093478a678b788c7eb42944c733.jpg, wikimedia common. **6,402 × 3,223 pixels, file size: 3.54 MB, MIME type: image/jpeg**: Watercolour and ink drawing of cirrhosis, with fatty degeneration of the liver. From a child, aged 11 years. Medical Photographic Library.

Grabau, C. M., S. F. Crago, L. K. Hoff, J. A. Simon, C. A. Melton, B. J. Ott and P. S. Kamath (2004). "Performance standards for therapeutic abdominal paracentesis." Hepatology **40**(2): 484-488.

Grattagliano, I., E. Ubaldi, L. Bonfrate and P. Portincasa (2011). "Management of liver cirrhosis between primary care and specialists." World J Gastroenterol **17**(18): 2273-2282.

Graudal, N., P. Leth, L. Marbjerg and A. M. Galloe (1991). "Characteristics of cirrhosis undiagnosed during life: a comparative analysis of 73 undiagnosed cases and 149 diagnosed cases of cirrhosis, detected in 4929 consecutive autopsies." J Intern Med **230**(2): 165-171.

Guarner, C., B. A. Runyon, S. Young, M. Heck and M. Y. Sheikh (1997). "Intestinal bacterial overgrowth and bacterial translocation in cirrhotic rats with ascites." J Hepatol **26**(6): 1372-1378.

Haase-Fielitz, A., M. Haase and P. Devarajan (2014). "Neutrophil gelatinase-associated lipocalin as a biomarker of acute kidney injury: a critical evaluation of current status." Ann Clin Biochem **51**(Pt 3): 335-351.

Heidelbaugh, J. J. and M. Bruderly (2006). "Cirrhosis and chronic liver failure: part I. Diagnosis and evaluation." Am Fam Physician **74**(5): 756-762.

Heidelbaugh, J. J. and M. Sherbondy (2006). "Cirrhosis and chronic liver failure: part II. Complications and treatment." Am Fam Physician **74**(5): 767-776.

Hellman, J. (2011). hepaticfailure. hepaticfailure.jpg. Wikipedia, wikimedia common. **3,112 × 3,558 pixels**: A person with massive ascites caused by portal hypertension due to cirrhosis.

Hessels, J., G. Douw, D. D. Yildirim, G. Meerman, M. A. van Herwaarden and F. A. van den Bergh (2012). "Evaluation of Prevent ID and Quantum Blue rapid tests for fecal calprotectin." Clin Chem Lab Med **50**(6): 1079-1082.

Hoefs, J. C. (1981). "Increase in ascites white blood cell and protein concentrations during diuresis in patients with chronic liver disease." Hepatology **1**(3): 249-254.

Hoefs, J. C. (1983). "Serum protein concentration and portal pressure determine the ascitic fluid protein concentration in patients with chronic liver disease." J Lab Clin Med **102**(2): 260-273.

Homann, C., E. Christensen, P. Schlichting, E. K. Philipsen, N. A. Graudal and P. Garred (2003). "Ascites fluid and plasma calprotectin concentrations in liver disease." Scand J Gastroenterol **38**(4): 415-420.

Hoste, E. A., P. A. McCullough, K. Kashani, L. S. Chawla, M. Joannidis, A. D. Shaw, T. Feldkamp, D. L. Uettwiller-Geiger, P. McCarthy, J. Shi, M. G. Walker, J. A. Kellum and I. Sapphire (2014). "Derivation and validation of cutoffs for clinical use of cell cycle arrest biomarkers." Nephrol Dial Transplant **29**(11): 2054-2061.

Johne, B., M. K. Fagerhol, T. Lyberg, H. Prydz, P. Brandtzaeg, C. F. Naess-Andresen and I. Dale (1997). "Functional and clinical aspects of the myelomonocyte protein calprotectin." Mol Pathol **50**(3): 113-123.

Jones, S. R. (1977). "The absolute granulocyte count in ascites fluid. An aid to the diagnosis of spontaneous bacterial peritonitis." West J Med **126**(5): 344-346.

Kamath, P. S., R. H. Wiesner, M. Malinchoc, W. Kremers, T. M. Therneau, C. L. Kosberg, G. D'Amico, E. R. Dickson and W. R. Kim (2001). "A model to predict survival in patients with end-stage liver disease." Hepatology **33**(2): 464-470.

Kim, J. J., M. M. Tsukamoto, A. K. Mathur, Y. M. Ghomri, L. A. Hou, S. Sheibani and B. A. Runyon (2014). "Delayed paracentesis is associated with increased in-hospital mortality in patients with spontaneous bacterial peritonitis." Am J Gastroenterol **109**(9): 1436-1442.

Knaus, W. A., E. A. Draper, D. P. Wagner and J. E. Zimmerman (1985). "APACHE II: a severity of disease classification system." Crit Care Med **13**(10): 818-829.

Leung, J. C., M. F. Lam, S. C. Tang, L. Y. Chan, K. Y. Tam, T. P. Yip and K. N. Lai (2009). "Roles of neutrophil gelatinase-associated lipocalin in continuous ambulatory peritoneal dialysis-related peritonitis." J Clin Immunol **29**(3): 365-378.

Lippi, G., R. Aloe, A. Storelli, G. Cervellin and T. Trenti (2012). "Evaluation of NGAL Test, a fully-automated neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) immunoassay on Beckman Coulter AU 5822." Clin Chem Lab Med **50**(9): 1581-1584.

Lippi, G., A. Caleffi, S. Pipitone, G. Elia, A. Ngah, R. Aloe, P. Avanzini and C. Ferrari (2013). "Assessment of neutrophil gelatinase-associated lipocalin and lactate dehydrogenase in peritoneal fluids for the screening of bacterial peritonitis." Clin Chim Acta **418**: 59-62.

Lutz, P., K. Pfarr, H. D. Nischalke, B. Kramer, F. Goeser, A. Glassner, F. Wolter, P. Kokordelis, J. Nattermann, T. Sauerbruch, A. Hoerauf, C. P. Strassburg and U. Spengler (2015). "The ratio of calprotectin to total protein as a diagnostic and prognostic marker for spontaneous bacterial peritonitis in patients with liver cirrhosis and ascites." Clin Chem Lab Med.

Makris, K., D. Rizos, N. Kafkas and A. Haliassos (2012). "Neutrophil gelatinase-associated lipocalin as a new biomarker in laboratory medicine." Clin Chem Lab Med **50**(9): 1519-1532.

Mannucci, P. M. (2006). "Abnormal hemostasis tests and bleeding in chronic liver disease: are they related? No." J Thromb Haemost **4**(4): 721-723.

Martino, F. K., I. Filippi, D. Giavarina, M. Kaushik, M. P. Rodighiero, C. Crepaldi, C. Teixeira, A. F. Nadal, M. H. Rosner and C. Ronco (2012). "Neutrophil gelatinase-associated lipocalin in the early diagnosis of peritonitis: the case of neutrophil gelatinase-associated lipocalin." Contrib Nephrol **178**: 258-263.

Mendler, M. H., A. Agarwal, M. Trimzi, E. Madrigal, M. Tsushima, E. Joo, M. Santiago, E. Flores, G. David, A. Workman and B. Runyon (2010). "A new highly sensitive point of care screen for spontaneous bacterial peritonitis using the leukocyte esterase method." J Hepatol **53**(3): 477-483.

Mori, K. and K. Nakao (2007). "Neutrophil gelatinase-associated lipocalin as the real-time indicator of active kidney damage." Kidney Int **71**(10): 967-970.

Mustafa, M. G., M. A. Al Mamun and A. K. Alam (2009). "Study on ascitic fluid protein level in cirrhotic patients with spontaneous bacterial peritonitis." Bangladesh Med Res Counc Bull **35**(2): 41-43.

Nephron (2009). Cirrhosis high mag. cirrhosis_high_mag.jpg.

https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Cirrhosis_high_mag.jpg, wikimedia

common. **4,272 × 2,848 pixels**: High magnification micrograph of a liver with cirrhosis. Trichrome stain. The most common cause of cirrhosis in the Western world is alcohol abuse - the cause of cirrhosis in this case.

Nguyen-Khac, E., J. F. Cadranel, T. Thevenot and J. B. Nousbaum (2008).

"Review article: the utility of reagent strips in the diagnosis of infected ascites in cirrhotic patients." Aliment Pharmacol Ther **28**(3): 282-288.

Nousbaum, J. B., J. F. Cadranel, P. Nahon, E. N. Khac, R. Moreau, T. Thevenot, C. Silvain, C. Bureau, O. Nouel, C. Pilette, T. Paupard, G. Vanbiervliet, F. Oberti, T. Davion, V. Jouannaud, B. Roche, P. H. Bernard, S. Beaulieu, O. Danne, D. Thabut, C. Chagneau-Derrode, V. de Ledinghen, P. Mathurin, A. Pauwels, J. P. Bronowicki, F. Habersetzer, A. Abergel, J. C. Audigier, T. Sapey, J. D. Grange, A. Tran, P. Club Francophone pour l'Etude de l'Hypertension and F. Association Nationale des Hepato-Gastroenterologues des Hopitaux Generaux de (2007). "Diagnostic accuracy of the Multistix 8 SG reagent strip in diagnosis of spontaneous bacterial peritonitis." Hepatology **45**(5): 1275-1281.

Organization, W. H. (2000). Obesity: preventing and managing the global epidemic Geneva, World Health Organization.

Poynard, T., P. Halfon, L. Castera, M. Munteanu, F. Imbert-Bismut, V. Ratziu, Y. Benhamou, M. Bourliere, V. de Ledinghen and G. FibroPaca (2007). "Standardization of ROC curve areas for diagnostic evaluation of liver fibrosis markers based on prevalences of fibrosis stages." Clin Chem **53**(9): 1615-1622.

Pugh, R. N., I. M. Murray-Lyon, J. L. Dawson, M. C. Pietroni and R. Williams (1973). "Transection of the oesophagus for bleeding oesophageal varices." Br J Surg **60**(8): 646-649.

Ricart, E., G. Soriano, M. T. Novella, J. Ortiz, M. Sabat, L. Kolle, J. Sola-Vera, J. Minana, J. M. Dedeu, C. Gomez, J. L. Barrio and C. Guarner (2000). "Amoxicillin-clavulanic acid versus cefotaxime in the therapy of bacterial infections in cirrhotic patients." J Hepatol **32**(4): 596-602.

Rimola, A., G. Garcia-Tsao, M. Navasa, L. J. Piddock, R. Planas, B. Bernard and J. M. Inadomi (2000). "Diagnosis, treatment and prophylaxis of

spontaneous bacterial peritonitis: a consensus document. International Ascites Club." J Hepatol **32**(1): 142-153.

Rosenberg, W. M., M. Voelker, R. Thiel, M. Becka, A. Burt, D. Schuppan, S. Hubscher, T. Roskams, M. Pinzani, M. J. Arthur and G. European Liver Fibrosis (2004). "Serum markers detect the presence of liver fibrosis: a cohort study." Gastroenterology **127**(6): 1704-1713.

Roulot, D., J. L. Costes, J. F. Buyck, U. Warzocha, N. Gambier, S. Czernichow, H. Le Clesiau and M. Beaugrand (2011). "Transient elastography as a screening tool for liver fibrosis and cirrhosis in a community-based population aged over 45 years." Gut **60**(7): 977-984.

Rubinstein, T., M. Pitashny and C. Putterman (2008). "The novel role of neutrophil gelatinase-B associated lipocalin (NGAL)/Lipocalin-2 as a biomarker for lupus nephritis." Autoimmun Rev **7**(3): 229-234.

Runyon, B. A. (1986). "Low-protein-concentration ascitic fluid is predisposed to spontaneous bacterial peritonitis." Gastroenterology **91**(6): 1343-1346.

Runyon, B. A. (1986). "Paracentesis of ascitic fluid. A safe procedure." Arch Intern Med **146**(11): 2259-2261.

Runyon, B. A. (1988). "Patients with deficient ascitic fluid opsonic activity are predisposed to spontaneous bacterial peritonitis." Hepatology **8**(3): 632-635.

Runyon, B. A. (2003). "The evolution of ascitic fluid analysis in the diagnosis of spontaneous bacterial peritonitis." Am J Gastroenterol **98**(8): 1675-1677.

Runyon, B. A. (2011). "A Primer on Detecting Cirrhosis and Caring for These Patients without Causing Harm." Int J Hepatol **2011**: 801983.

Runyon, B. A. (2014). Spontaneous bacterial peritonitis in adults: Diagnosis. UpToDate, UpToDate, Waltham, MA.

Runyon, B. A. (2014). Spontaneous bacterial peritonitis in adults: Treatment and prophylaxis. UpToDate, UpToDate, Waltham, MA.

Runyon, B. A. and M. R. Antillon (1991). "Ascitic fluid pH and lactate: insensitive and nonspecific tests in detecting ascitic fluid infection." Hepatology **13**(5): 929-935.

Runyon, B. A., H. N. Canawati and E. A. Akriviadis (1988). "Optimization of ascitic fluid culture technique." Gastroenterology **95**(5): 1351-1355.

Runyon, B. A. and A. P. G. Committee (2009). "Management of adult patients with ascites due to cirrhosis: an update." Hepatology **49**(6): 2087-2107.

Runyon, B. A. and J. C. Hoefs (1985). "Ascitic fluid chemical analysis before, during and after spontaneous bacterial peritonitis." Hepatology **5**(2): 257-259.

Runyon, B. A., Practice Guidelines Committee and A. A. f. t. S. o. L. Diseases (2004). "Management of adult patients with ascites due to cirrhosis." Hepatology **39**(3): 841-856.

Runyon, B. A., S. Squier and M. Borzio (1994). "Translocation of gut bacteria in rats with cirrhosis to mesenteric lymph nodes partially explains the pathogenesis of spontaneous bacterial peritonitis." J Hepatol **21**(5): 792-796.

Savolainen, V. T., A. Penttila and P. J. Karhunen (1992). "Delayed increases in liver cirrhosis mortality and frequency of alcoholic liver cirrhosis following an increment and redistribution of alcohol consumption in Finland: evidence from mortality statistics and autopsy survey covering 8533 cases in 1968-1988." Alcohol Clin Exp Res **16**(4): 661-664.

Schmidt-Ott, K. M., K. Mori, J. Y. Li, A. Kalandadze, D. J. Cohen, P. Devarajan and J. Barasch (2007). "Dual action of neutrophil gelatinase-associated lipocalin." J Am Soc Nephrol **18**(2): 407-413.

Schuppan, D. and N. H. Afdhal (2008). "Liver cirrhosis." Lancet **371**(9615): 838-851.

Sherwood, R. A. (2012). "Faecal markers of gastrointestinal inflammation." J Clin Pathol **65**(11): 981-985.

Stassen, W. N., A. J. McCullough, B. R. Bacon, S. H. Gutnik, I. M. Wadiwala, C. McLaren, S. C. Kalhan and A. S. Tavill (1986). "Immediate diagnostic criteria for bacterial infection of ascitic fluid. Evaluation of ascitic fluid polymorphonuclear leukocyte count, pH, and lactate concentration, alone and in combination." Gastroenterology **90**(5 Pt 1): 1247-1254.

Statistisches Bundesamt (2012). 23211-0002 Gestorbene: Deutschland, Jahre, Todesursachen, Geschlecht.

Statistisches Bundesamt. (2013). "Mikrozensus - Fragen zur Gesundheit, Statistisches Bundesamt, Zweigstelle Bonn." Retrieved 01.05., 2015, from <https://www.gbe-bund.de/gbe10/i?i=434:16947904D>.

- Susianti, H., V. M. Iriane, S. Dharmanata, K. Handono, A. Widijanti, A. Gunawan and H. Kalim (2015). "Analysis of urinary TGF-beta1, MCP-1, NGAL, and IL-17 as biomarkers for lupus nephritis." Pathophysiology **22**(1): 65-71.
- Sydora, M. J., B. C. Sydora and R. N. Fedorak (2012). "Validation of a point-of-care desk top device to quantitate fecal calprotectin and distinguish inflammatory bowel disease from irritable bowel syndrome." J Crohns Colitis **6**(2): 207-214.
- Tannapfel, A., H. P. Dienes and A. W. Lohse (2012). "The indications for liver biopsy." Dtsch Arztebl Int **109**(27-28): 477-483.
- Thuluvath, P. J., S. Morss and R. Thompson (2001). "Spontaneous bacterial peritonitis--in-hospital mortality, predictors of survival, and health care costs from 1988 to 1998." Am J Gastroenterol **96**(4): 1232-1236.
- Tsochatzis, E. A., J. Bosch and A. K. Burroughs (2014). "Liver cirrhosis." Lancet **383**(9930): 1749-1761.
- Umgelter, A., W. Reindl, M. Miedaner, R. M. Schmid and W. Huber (2009). "Failure of current antibiotic first-line regimens and mortality in hospitalized patients with spontaneous bacterial peritonitis." Infection **37**(1): 2-8.
- Wai, C. T., J. K. Greenon, R. J. Fontana, J. D. Kalbfleisch, J. A. Marrero, H. S. Conjeevaram and A. S. Lok (2003). "A simple noninvasive index can predict both significant fibrosis and cirrhosis in patients with chronic hepatitis C." Hepatology **38**(2): 518-526.
- WHO Expert Committee (1995). Physical status: the use and interpretation of anthropometry. Geneva, World Health Organization.

WHO Expert Consultation (2004). "Appropriate body-mass index for Asian populations and its implications for policy and intervention strategies." Lancet **363**(9403): 157-163.

Wiegand, J. and T. Berg (2013). "The etiology, diagnosis and prevention of liver cirrhosis: part 1 of a series on liver cirrhosis." Dtsch Arztebl Int **110**(6): 85-91.

Wiesner, R., E. Edwards, R. Freeman, A. Harper, R. Kim, P. Kamath, W. Kremers, J. Lake, T. Howard, R. M. Merion, R. A. Wolfe, R. Krom and C. United Network for Organ Sharing Liver Disease Severity Score (2003). "Model for end-stage liver disease (MELD) and allocation of donor livers." Gastroenterology **124**(1): 91-96.

Wiesner, R. H., S. V. McDiarmid, P. S. Kamath, E. B. Edwards, M. Malinchoc, W. K. Kremers, R. A. Krom and W. R. Kim (2001). "MELD and PELD: application of survival models to liver allocation." Liver Transpl **7**(7): 567-580.

Williams, R., R. Aspinall, M. Bellis, G. Camps-Walsh, M. Cramp, A. Dhawan, J. Ferguson, D. Forton, G. Foster, I. Gilmore, M. Hickman, M. Hudson, D. Kelly, A. Langford, M. Lombard, L. Longworth, N. Martin, K. Moriarty, P. Newsome, J. O'Grady, R. Pryke, H. Rutter, S. Ryder, N. Sheron and T. Smith (2014). "Addressing liver disease in the UK: a blueprint for attaining excellence in health care and reducing premature mortality from lifestyle issues of excess consumption of alcohol, obesity, and viral hepatitis." Lancet **384**(9958): 1953-1997.

Wittenburg, H., U. Tennert and T. Berg (2011). "[Complications of liver cirrhosis]." Internist (Berl) **52**(9): 1061-1070; quiz 1071-1062.

Wong, C. L., J. Holroyd-Leduc, K. E. Thorpe and S. E. Straus (2008). "Does this patient have bacterial peritonitis or portal hypertension? How do I perform a paracentesis and analyze the results?" JAMA **299**(10): 1166-1178.

Youden, W. J. (1950). "Index for rating diagnostic tests." Cancer **3**(1): 32-35.

Yui, S., Y. Nakatani and M. Mikami (2003). "Calprotectin (S100A8/S100A9), an inflammatory protein complex from neutrophils with a broad apoptosis-inducing activity." Biol Pharm Bull **26**(6): 753-760.

TABELLENVERZEICHNIS

TABELLE 1: SPEARMAN RHO MIT GROßER KORRELATION (AUFSTEIGEND).....	57
TABELLE 2: RANGKORRELATION NACH SPEARMAN RHO (AUFSTEIGEND)	59
TABELLE 3: SPEARMAN RHO MIT NEGATIVEN KORRELATIONEN.....	59
TABELLE 4: FLÄCHE UNTER DER KURVE VON ZELLZAHL UND NEUTROPHILENZAHL	70
TABELLE 5: AUSSCHNITT DER KURVENKOORDINATEN VON ZELLZAHL IM ASZITES.....	70
TABELLE 6: FLÄCHE UNTER DER KURVE VON LAKTAT, CRP, GESAMTEIWEIß UND DEN LEUKOZYTEN AUF DEM URIN-STIX	72
TABELLE 7: YODEN'S J VON LAKTAT (A), CRP (A), GESAMTPROTEINEN (A) UND LEUKOZYTEN (USTIX).....	73
TABELLE 8: FLÄCHE UNTER DER KURVE DER LAKTATDEHYDROGENASE	74
TABELLE 9: YODEN'S J AUSSCHNITT DER KURVENKOORDINATEN DER LDH I. A.....	75
TABELLE 10: FLÄCHE UNTER DER KURVE VON NGAL IM ASZITES.....	75
TABELLE 11: YODEN'S J UND KURVENKOORDINATEN VON NGAL I. A.	76
TABELLE 12: FLÄCHE UNTER DER KURVE VON CALPROTECTIN IM ASZITES.....	77
TABELLE 13: YODEN'S J UND KURVENKOORDINATEN VON CALPROTECTIN I. A.	77
TABELLE 14: MODELLÜBERSICHT BINÄRE LOGISTISCHE REGRESSION MIT ERWEITERTEN PARAMETERN	78
TABELLE 15: KURVENKOORDINATEN DER ROC-KURVE BEI DEM OPTIMALEN PANEL...	79
TABELLE 16: MODELLÜBERSICHT BINÄRE LOGISTISCHE REGRESSION MIT EINFACHEN PARAMETERN	80
TABELLE 17: KURVENKOORDINATEN MIT HÖCHSTEM YODEN'S J BEIM VEREINFACHTEN PANELS.....	81