

Prueba de aliento optimizada con urea marcada con carbono 13 para la detección de *Helicobacter pylori* (PAU-Hp¹³C®)

Optimized ¹³C-urea breath test for Helicobacter pylori detection (PAU-Hp-¹³C®)

Germán Campuzano Maya, MD¹

Resumen: *Helicobacter pylori* es una bacteria íntimamente relacionada con enfermedades benignas del estómago como la dispepsia no ulcerosa, la gastritis crónica, la úlcera péptica duodenal y gástrica, y con enfermedades malignas como el cáncer gástrico y los linfomas MALT del estómago; además, en la literatura médica mundial hay suficiente evidencia para vincular esta infección con manifestaciones extradigestivas, tales como enfermedades hematológicas (anemia y trombocitopenia inmune), dermatológicas (rosácea, urticaria y alopecia areata), reumatológicas (síndrome de Sjögren y artritis reumatoide), endocrinológicas (tiroiditis autoinmune y pancreatitis autoinmune), pediátricas (talla baja y dolor abdominal recurrente) y malignas (cáncer de páncreas y linfomas MALT de las conjuntivas), entre otras; por ello, es imperativa la identificación de la infección y su erradicación. Durante los últimos años, se ha presentado un gran avance en el desarrollo de pruebas para el diagnóstico de *Helicobacter pylori*, especialmente en las pruebas de aliento con urea marcada con carbono 13 (¹³C-urea); en el medio se optimizó y patentó la prueba de aliento con urea marcada con carbono 13 (PAU-Hp¹³C®). La PAU-Hp¹³C® está diseñada para uso clínico tanto para el diagnóstico como para el seguimiento postratamiento, ya que posee una sensibilidad y especificidad del 100%, es una prueba no invasiva, inocua y la toma de la muestra es sencilla. La principal ventaja de la prueba es que el kit para la toma de la muestra se puede enviar a cualquier parte del territorio nacional y la estabilidad de las muestras permite su remisión a la central de análisis donde éstas serán analizadas. El objetivo de este módulo es presentar una descripción de la prueba de aliento con ¹³C-urea para la detección de *Helicobacter pylori*, en especial de la PAU-Hp¹³C®, su desarrollo, su fundamento, las condiciones preanalíticas para la toma de la muestra, su procedimiento analítico, sus indicaciones y contraindicaciones y la interpretación de sus resultados.

Palabras clave: *Helicobacter pylori*, pruebas de aliento con ¹³C-urea, prueba de aliento optimizada con ¹³C-urea, toma de muestra, PAU-Hp¹³C®.

Abstract: *Helicobacter pylori* is a bacteria closely related to gastric benign diseases, such as non-ulcer dyspepsia, chronic gastritis, gastric and duodenal peptic ulcer; it is also related with malignant neoplasms such as gastric cancer and gastric MALT lymphomas. In addition, there is enough evidence in medical literature about the association between *H. pylori* infection and extra-digestive diseases, such as hematologic diseases (anemia and immune thrombocytopenia), dermatologic diseases (alopecia areata and urticaria), rheumatic diseases (Sjögren's syndrome and rheumatoid arthritis), endocrine diseases (autoimmune thyroiditis and autoimmune pancreatitis), pediatric diseases (low height and recurrent abdominal pain) and oncologic diseases (pancreatic carcinoma

¹ Médico especialista en Hematología y Patología Clínica. Docente, Ad Honorem, Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia. Médico Director, Laboratorio Clínico Hematológico. Correspondencia: Carrera 43C No. 5-33, Medellín, Colombia. E-mail: gcm@lch.co.

Conflicto de intereses: los autores declararon no tener conflicto de intereses.
 Medicina & Laboratorio 2012; 18: 137-160
 Módulo 14 (Tecnología), número 15. Editora Médica Colombiana S.A., 2012°.
 Recibido el 2 de mayo de 2012; aceptado el 20 de mayo de 2012.

and MALT lymphoma of the conjunctiva), among other diseases. Therefore, the identification of the infection and its eradication is imperative. Throughout the past years, there has been a great advance in the development of tests for *H. pylori* detection, especially in urea breath tests. The urea breath test labeled with carbon 13 (PAU-Hp¹³C®) was optimized and patented in our country. The PAU-Hp¹³C® is used for diagnosis and follow-up after treatment, since it has 100% sensitivity and specificity, is a non-invasive test, is harmless, and has a simple sample collection protocol. The main advantage of PAU-Hp¹³C® is that the kits for sample collection can be sent to anywhere in the country, and the sample is stable for long periods which allows the remission to the reference laboratory where the samples will be analyzed. The purpose of this module is to describe urea breath test for *Helicobacter pylori* detection, especially PAU-Hp¹³C®, its historical development, the essentials of the test, the pre-analytical conditions for sample collection, the analytical procedure, the test indications and contraindications, and results interpretation.

Key words: *Helicobacter pylori*, urea breath test, optimized ¹³C urea breath test, sample collection protocol, PAU-Hp¹³C®

Introducción

A partir de 1983, cuando se descubrió que el estómago podía ser colonizado por bacterias [1], se ha acumulado suficiente evidencia para considerar que esta bacteria, hoy conocida como *Helicobacter pylori*, es un patógeno íntimamente relacionado con enfermedades benignas del estómago, como la gastritis crónica, la úlcera péptica duodenal y la úlcera péptica gástrica [1] y con enfermedades malignas como el cáncer gástrico [2, 3] y los linfomas gástricos [4], como se esquematiza en la **figura 1** [5].

Además del compromiso en el estómago, *Helicobacter pylori* se ha encontrado asociado con una gran variedad de enfermedades extradigestivas que afectan diferentes órganos o sistemas, entre las que se encuentran:

- Enfermedades de origen hematológico, como la anemia por deficiencia de hierro [6], la anemia perniciosa [7] y la deficiencia de vitamina B₁₂ [8], la hiperhomocisteinemia [9], la neutropenia autoinmune [10], la gammapatía monoclonal [11], la trombocitopenia inmune [12] antes denominada púrpura trombocitopénica idiopática o autoinmune, y la púrpura de Schönlein-Henoch [13];
- Enfermedades de origen dermatológico, como la urticaria crónica [14], la rosácea [15], la psoriasis [16], el liquen plano [17] y la alopecia areata [18], entre otras;
- Enfermedades de origen reumatológico, como el síndrome de Sjögren [19] y la artritis reumatoide [20];
- Enfermedades de origen cardiovascular, como la aterosclerosis [21], la hipertensión arterial [22], la angina inestable de pecho [23] y la enfermedad isquémica coronaria [24];
- Enfermedades de origen neurológico, como la migraña [25], la esclerosis sistémica [26], la enfermedad cerebrovascular [27], la enfermedad de Alzheimer [28] y la demencia [29], a través de la hiperhomocisteinemia [30] que se presenta en los pacientes infectados por *Helicobacter pylori* [9], y la enfermedad de Parkinson, porque se puede agravar por la interferencia con la absorción de los medicamentos [31];
- Enfermedades de origen oftalmológico, como el glaucoma de ángulo abierto [32], la coriorretinopatía serosa central [33] y los linfomas MALT de la conjuntiva [34];

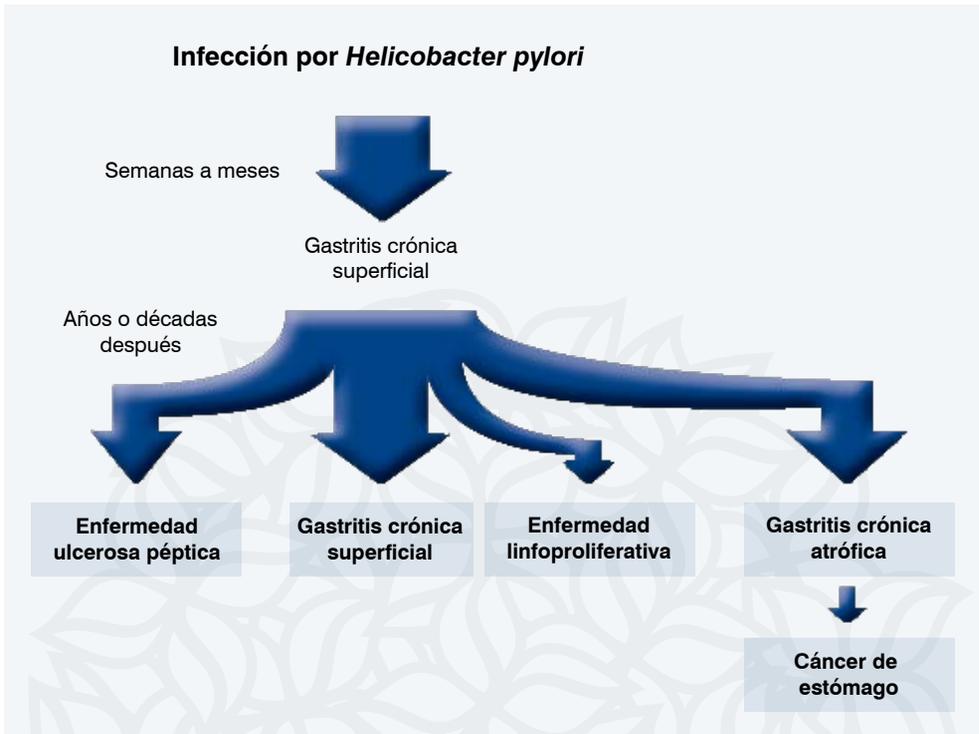


Figura 1. Historia natural de la infección por *Helicobacter pylori*. Meses después de la infección se desarrolla la gastritis crónica superficial. En la mayoría de los individuos infectados este proceso persiste durante toda la vida si no se realiza un tratamiento antimicrobiano. Una minoría de las personas puede desarrollar desenlaces clínicos relevantes como las úlceras pépticas, las enfermedades linfoproliferativas o la gastritis atrófica crónica, conduciendo posteriormente al cáncer gástrico. Tomado, con autorización, de **Blaser, M. J. and J. Parsonnet.** Parasitism by the "slow" bacterium *Helicobacter pylori* leads to altered gastric homeostasis and neoplasia. *J Clin Invest* 94; 94: 4-8 [5].

- Enfermedades de origen endocrinológico, como la tiroiditis autoinmune [35], la enfermedad de Hashimoto [36] y la pancreatitis autoinmune [37];
- Enfermedades pediátricas, como la talla baja en niños, como se demostró en niños colombianos [38-40], la deficiencia de hierro [41], el síndrome de muerte súbita infantil [42] y el dolor abdominal recurrente [43];
- Enfermedades ginecoobstétricas, como la hiperémesis gravídica [44], el síndrome de ovario poliquístico [45] y productos de bajo peso en madres infectadas [46], la eclampsia y la preeclampsia [47] debido elevaciones de la proteína C reactiva y el factor tumoral alfa [48] y a la hiperhomocisteinemia que se puede presentar en el curso de la infección por *Helicobacter pylori* [9];
- Además de las enfermedades malignas del estómago [2-4], la infección por *Helicobacter pylori* también es sospechosa de una posible relación con otras neoplasias, como el cáncer de páncreas [49, 50], el cáncer colorrectal [51], los linfomas MALT de las conjuntivas [34, 52, 53] y los linfomas MALT en los senos [54, 55], entre otras; y,
- Otras enfermedades que también se han asociado con esta infección son la halitosis [56], las caries dental [57], las bronquiectasias pulmonares [58], la apnea del sueño [59], la rinosinosis crónica [60], la otitis media [61] y la infertilidad masculina [62], entre otras.

Además de lo anterior, en 1994, la Organización Mundial de la Salud reconoció la infección por *Helicobacter pylori* como un cancerígeno tipo I [63], el grado más alto de potencial carcinogénico, equiparándola, por ejemplo, con la asociación entre el hábito de fumar y el cáncer de pulmón; y, en 2003, esta misma Organización incluyó la infección por *Helicobacter pylori* en el ICD-10 [64], reconociéndola como una enfermedad, similar a estar infectado por *Treponema pallidum* o por el virus de la inmunodeficiencia humana, que en todos los casos requiere intervención médica.

El objetivo de este módulo es hacer una revisión de la prueba de aliento con urea marcada con carbono 13 (¹³C-urea) en donde se analizarán: (1) los aspectos generales de la prueba, de acuerdo con la prueba de referencia universal, conocida como protocolo europeo [65], y (2) los aspectos particulares de la prueba de aliento optimizada con ¹³C-urea (PAU Hp¹³C®, desarrollada en nuestro medio [66]. Al desarrollar el presente módulo se pretende entregar a la comunidad médica una nueva opción, la de mejor desempeño analítico [67], para el diagnóstico y manejo de la infección por *Helicobacter pylori* y a la comunidad de los laboratorios clínicos la posibilidad de incluirla en sus portafolios de servicios, gracias a que la prueba está diseñada para hacerse a distancia, en donde el laboratorio clínico administra la ¹³C-urea y toma las muestras de aliento (pre y pos ¹³C-urea) y en un laboratorio central a donde se remita para hacer el respectivo análisis [66], con mayor razón cuando el Ministerio de Salud recientemente ha incorporado la prueba de aliento con ¹³C-urea (código 903043) en el Nuevo Plan Obligatorio (POS) del Sistema de Seguridad Social de Colombia [68].

Diagnóstico de la infección por *Helicobacter pylori*

El diagnóstico de la infección por *Helicobacter pylori* se puede establecer por dos maneras:

- Métodos invasivos o endoscópicos, que dependen de la endoscopia digestiva alta que aparte de ser invasiva, costosa, molesta y no estar disponible en todas partes [69], no está exenta de complicaciones que pueden ir desde infecciones [70, 71] y aun hasta la posibilidad de morir por el procedimiento [72], con una morbilidad de 0,432% y una mortalidad de 0,008% (1:200 y 1:2.000 respectivamente) [73]. De este grupo, los métodos más representativos son la prueba de ureasa rápida, la visualización de las bacterias en cortes histológicos coloreados con hematoxilina-eosina u otras coloraciones especializadas, el cultivo y la reacción en cadena de la polimerasa (biología molecular) a partir del tejido gástrico. Además de las limitaciones de los métodos invasivos antes citados, en especial los estudios histológicos, tienen el inconveniente de presentar resultados falsos negativos relacionados con la distribución en parches, característica de la infección por *Helicobacter pylori* [74, 75].
- Métodos no-invasivos o no-endoscópicos, los cuales no requieren endoscopia digestiva alta, y por lo tanto están exentos de las complicaciones previamente citadas, entre las cuales se incluyen la serología que busca anticuerpos contra la bacteria [76], la prueba de aliento con urea marcada con ¹³C-urea, que se basa en la capacidad que tiene *Helicobacter pylori* para hidrolizar la urea [65, 77], y finalmente, la detección de antígenos bacterianos excretados en materia fecal [78].

A su vez, los métodos no-invasivos se subdividen en dos grupos:

- Activos, que detectan la presencia de infección activa, como es el caso de la prueba de aliento con ¹³C-urea y el antígeno de *Helicobacter pylori* en materia fecal; y,

- Pasivos, que proveen evidencia de que ha habido exposición a *Helicobacter pylori* en cualquier momento de la vida del paciente y no necesariamente indican que la infección esté presente o activa, como los estudios serológicos [79].

Para mayor información, en la **tabla 1** se relacionan los métodos disponibles para la detección de la infección por *Helicobacter pylori* [80].

Historia de la prueba de aliento con carbono marcado con isótopos

Las bases de la prueba de aliento con ^{13}C -urea se remonta a 1924, cuando Luck y Seth descubrieron la ureasa y describieron la hidrólisis de la urea en estómagos de perros y de otros animales [81, 82]; además de los aportes de Leifer y colaboradores, en 1948, utilizando urea marcada con carbono 14 (^{14}C -urea) por vía intravenosa para el estudio de la actividad de la ureasa gástrica en monos, observaron que tras la hidrólisis de la urea se liberaba $^{14}\text{CO}_2$, que recolectado en una cámara de respiración podía ser medido con la ayuda de un contador de centelleo [83] y de Korngerg y colaboradores, en 1954, quienes observaron que la administración de antibióticos en gatos abolía la respuesta de la ureasa frente a la ^{14}C -urea, demostrando, de esta manera, el origen bacteriano de la ureasa gástrica [84], 28 años antes de que se descubriese el papel de *Helicobacter pylori* en las enfermedades de la mucosa gástrica.

Graham y colaboradores, en 1987, partiendo de la prueba de aliento con ^{14}C -urea, sustituyeron el carbono 14, un isótopo radiactivo y altamente contaminante, por el carbono 13, un isótopo natural e inocuo, y describieron la prueba de aliento con carbono 13, desarrollada específicamente para el diagnóstico de *Helicobacter pylori* [85], prueba que rápidamente fue aceptada por la comunidad médica y difundida en la investigación y la práctica clínica en todo el mundo, tanto en los adultos [86-93] como en los niños [94].

Evolución de las pruebas de aliento con ^{13}C -urea para el diagnóstico y manejo de la infección por *Helicobacter pylori* a través del tiempo

El protocolo original de la prueba de aliento con ^{13}C -urea descrita en 1987 por Graham y colaboradores es el siguiente: tras una ayuno de toda la noche, al paciente se le toma una muestra basal de aliento, se le administra una comida densa para retardar el vaciamiento gástrico y 10 minutos más tarde se le da a tomar una solución glucosada que contiene 5 mg/kg de peso de ^{13}C -urea; a partir de este momento, al paciente se le toma una muestra de aliento cada 10 minutos por 180 minutos (18 muestras) y los resultados se expresan en μmol de urea hidrolizada por minuto [85]. Con el transcurrir de los años la prueba se ha modificado, siempre buscando optimizarla y hacerla más fácil sin reducir su excelente desempeño analítico, y es así como en la actualidad hay más de 40 protocolos referenciados en la literatura médica mundial, como se resume en una tabla de una de nuestras publicaciones al describir, un nuevo protocolo optimizando la prueba de aliento con ^{13}C -urea, desarrollado en el medio [66].

A continuación se resumen las modificaciones más significativas a la prueba de aliento con ^{13}C -urrea descrita originalmente por Graham y colaboradores en 1987 [85]:

- La dosis de ^{13}C -urea de 5 mg/kg de peso en la descripción original (350 mg para un adulto de 70 kg) [85], pasó a 100 mg en los protocolos europeos [65, 88], a 75 mg en los asiáticos [95, 96], y a una dosis tan baja como 50 mg en la prueba desarrollada en el medio [66];

Tabla 1. Métodos disponibles para la detección de la infección por *Helicobacter pylori*. Modificado de Chey WD, Wong BC; Practice Parameters Committee of the American College of Gastroenterology. American College of Gastroenterology guideline on the management of *Helicobacter pylori* infection. Am J Gastroenterol 2007; 102: 1808-1825 [80]

Métodos	Pruebas	Ventajas	Desventajas
Invasivos	Histología (hematoxilina-eosina)	<ul style="list-style-type: none"> Sensibilidad y especificidad altas, que mejoran con el uso de tinciones inmunes Permite la evaluación de la mucosa gástrica 	<ul style="list-style-type: none"> Es costosa, tanto el procedimiento endoscópico, como el estudio histopatológico Presenta variabilidad interobservador Presenta falsos negativos relacionados con la distribución en parches Su desempeño disminuye en pacientes que consumen antibióticos o inhibidores de la bomba de protones Riesgos inherentes a la toma de muestra
	Prueba de de ureasa rápida	<ul style="list-style-type: none"> Los resultados se obtienen con rapidez Exactitud alta en pacientes que no consumen inhibidores de la bomba de protones o antibióticos 	<ul style="list-style-type: none"> Requiere endoscopia digestiva Es poco útil para el seguimiento postratamiento Su desempeño disminuye en pacientes que consumen inhibidores de la bomba de protones Riesgos inherentes a la toma de muestra
	Cultivo	<ul style="list-style-type: none"> Especificidad de 100% Permite la evaluación de la sensibilidad a antibióticos 	<ul style="list-style-type: none"> El procedimiento es tedioso No está disponible en el medio Es costosa Riesgos inherentes a la toma de muestra
	Reacción en cadena de la polimerasa	<ul style="list-style-type: none"> Sensibilidad y especificidad alta Permite la detección de la resistencia a antibióticos 	<ul style="list-style-type: none"> No está disponible en el medio Es costosa No está estandarizada Riesgos inherentes a la toma de muestra
No invasivos	Serología	<ul style="list-style-type: none"> Gran disponibilidad Económico Valor predictivo negativo bueno 	<ul style="list-style-type: none"> Valor predictivo positivo pobre en zonas de baja prevalencia No es útil para el seguimiento postratamiento No diferencia entre pacientes con infecciones activas y pacientes curados
	Prueba de aliento con urea marcada con carbono 13	<ul style="list-style-type: none"> Identifica infecciones activas La exactitud no se afecta por la prevalencia Útil para el diagnóstico y el seguimiento pos tratamiento El carbono 13 no es un isótopo radiactivo, por lo que su uso es seguro La toma de muestra es fácil Está disponible en el medio 	<ul style="list-style-type: none"> La exactitud se afecta por el uso de los antibióticos o de inhibidores de la bomba de protones El carbono 14 es un isótopo radioactivo, está contraindicado en niños y en mujeres de edad fértil. Contamina el ambiente y hasta donde sea posible, se debe abolir de los portafolios de servicios
	Antígeno de <i>Helicobacter pylori</i> en materia fecal	<ul style="list-style-type: none"> Identifica infecciones activas La exactitud no se afecta por la prevalencia Útil para el diagnóstico y el seguimiento pos tratamiento 	<ul style="list-style-type: none"> Hay poca información sobre las pruebas policlonales La exactitud se afecta por el uso de los antibióticos o de inhibidores de la bomba de protones

- La comida densa para retardar el vaciamiento gástrico, de la descripción original [85], se reemplazó por ácido cítrico, que está presente en la mayoría protocolos basados en el estándar europeo [65], por leche [97], por pudín [98], por jugo de manzana [99], por jugo de naranja [100] o se eliminó, como en la prueba desarrollada en el medio [66] y como lo hicieron otros autores sin detrimento del desempeño analítico de la prueba [97, 101-105];
- De la solución glucosada con la dosis de ¹³C-urea, de la descripción original [85], se pasó a administrar la ¹³C-urea disuelta en agua [98] o en ácido cítrico [106], en forma de cápsulas [107], tabletas [108] o en solución de ¹³C-urea en agua para consumo directo, como

en la prueba desarrollada en el medio [66], sin que ninguna de estas variaciones hubiesen modificado los indicadores analíticos de la prueba;

- De una toma de una muestra de aliento basal y pos ^{13}C -urea cada 10 minutos por 180 minutos (19 muestras) de la descripción original [85], rápidamente se llegó a estandarizar la prueba con dos muestras de aliento: basal y pos ^{13}C -urea; y,
- A su vez, los tiempos de la prueba se ha reducido significativamente, sin perder las características analíticas de la prueba, de 180 minutos en la prueba original [85] a 40 minutos en las pruebas basadas en el protocolo europeo [65, 88, 95] hasta 10 minutos, como en la prueba desarrollada en nuestro medio [66] y en otras latitudes [109, 110].

Historia de la prueba de aliento con ^{13}C -urea en Colombia

La prueba de aliento con ^{13}C -urea para el diagnóstico de *Helicobacter pylori* está disponible en Colombia desde 1999. Desde este año, hasta 2007 se utilizó una prueba basada en el protocolo europeo, prueba que incluía 4,2 g de ácido cítrico, 100 mg de ^{13}C -urea y una duración de 40 minutos; con el cual se adelantaron tres investigaciones de impacto a nivel internacional: el primero, “Prevalencia de la infección por *Helicobacter pylori* en médicos de Medellín, Colombia” en donde se demostró una altísima prevalencia de la infección por *Helicobacter pylori* (77,2%) en la comunidad médica de Medellín, Colombia [111] una de las altas de Latinoamérica; el segundo, “Proof of an association between *Helicobacter pylori* and idiopathic thrombocytopenic purpura in Latin America”, que demostró la asociación de *Helicobacter pylori* con la púrpura trombocitopénica idiopática en nuestro medio [12] y el tercero, “An optimized ^{13}C -urea breath test for the diagnosis of *H. pylori* infection”, que dio origen a la nueva prueba de laboratorio, como lo es la prueba de aliento con ^{13}C -urea optimizada (PAU-Hp ^{13}C ®), que será analizada detalladamente en la segunda parte de este módulo. A partir del año 2007, la prueba de aliento se ha realizado con un protocolo optimizado, desarrollado en el medio [66], en donde no se da ácido cítrico u otro alimento, se reduce la carga de ^{13}C -urea de 100 mg a 50 mg y se redujo el tiempo de la prueba de 40 minutos a tan solo 10 minutos, mejorando sustancialmente los indicadores analíticos. A su vez, el desarrollo de esta nueva prueba, la PAU Hp ^{13}C ®, ha permitido el estudio de la relación de la infección por *Helicobacter pylori* con enfermedades extra-digestivas, como “Cure of alopecia areata after eradication of *Helicobacter pylori*: A new association?” [18] y se está evaluando, para publicación internacional, una cohorte de pacientes con anemia ferropénica e infección por *Helicobacter pylori*, en donde claramente se establece una relación.

La PAU-Hp ^{13}C ® en la literatura médica mundial está referenciada como una de las pruebas de aliento basadas en ^{13}C -urea con mejor desempeño analítico (100% de especificidad, 100% de sensibilidad, 100% de valor predictivo negativo, 100% de valor predictivo positivo y 100% de exactitud) y con la mejor relación costo beneficio con relación a las pruebas de aliento con ^{13}C -urea que le antecedieron [112-114].

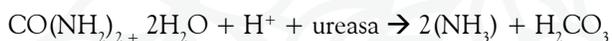
A la fecha en que se terminó este módulo, la PAU-Hp ^{13}C ® está patentada en Japón [115] y en Colombia [116] y está en proceso de patente en muchos otros países, particularmente en aquellos en donde la prevalencia y las complicaciones de la infección por *Helicobacter pylori*, sobre todo en donde el cáncer de estómago, es un problema de salud pública como sucede en Colombia y en Japón. Localmente, se está en el proceso de la fabricación de los estuches (kits) y los trámites ante el INVIMA, para ponerla a disposición de la comunidad médica, del sistema de seguridad social y de los laboratorios clínicos del país.

Objetivo de la PAU-Hp¹³C®

La PAU-Hp¹³C® [116], para el diagnóstico y seguimiento de la infección por *Helicobacter pylori*, es una prueba de laboratorio diseñada específicamente para la detección de *Helicobacter pylori* en el estómago mediante la detección de la actividad de la ureasa a partir del metabolismo de una pequeña cantidad de ¹³C-urea, como evidencia de la presencia de esta bacteria en la cavidad gástrica [66, 116].

Fundamento de la PAU-Hp¹³C® para la detección de *Helicobacter pylori*

Todas las pruebas de aliento con ¹³C-urea hasta ahora desarrolladas a partir de la prueba original de Graham y colaboradores se fundamentan en detectar la ureasa producida por *Helicobacter pylori* [85], como un mecanismo indispensable de la bacteria para poder sobrevivir en un medio ácido, que le es extremadamente hostil. La ureasa desdobra la urea, produciendo iones amonio que neutralizan el pH ácido del estómago y crean un entorno favorable, conocido como “nube de amonio”, que permite el desarrollo normal de la bacteria [117, 118], bajo la siguiente reacción bioquímica que se desarrolla a nivel de la mucosa gástrica:



Al final de esta reacción, el amoníaco se equilibra con el agua para formar hidróxido de amonio elevando el pH del estómago que protege a las bacterias y el bicarbonato (H_2CO_3), se difunde a través de la mucosa gástrica, pasando a la circulación general, a la circulación venosa capilar y se difunde a través del plexo capilar alveolar a la luz de los alvéolos y a la luz bronquial para ser expulsado, finalmente, en el aire expirado (aliento) en forma de CO_2 [119]. Este proceso bioquímico no sucederá en el estómago si no está presente *Helicobacter pylori* en la mucosa gástrica y en este caso la urea es metabolizada y degradada por vía renal.

Al marcar el carbono de la urea con un isótopo como el carbono 13, en presencia de ureasa, en caso de haber infección por *Helicobacter pylori* en la mucosa gástrica, la ureasa al descomponer la ¹³C-urea libera ¹³CO₂ y la cantidad de ¹³CO₂ liberado es proporcional a la cantidad de bacterias que están colonizando la mucosa gástrica al momento de hacer la prueba que rápidamente se detecta en la respiración.

El ¹³CO₂ liberado se cuantifica por espectrometría de masas de relación isotópica, ya que éste tiene una masa isotópica diferente al CO₂ que se exhala normalmente (¹²CO₂), 44 y 45 respectivamente. La liberación de ¹³CO₂ en presencia de *Helicobacter pylori* produce un cambio en la relación ¹³CO₂/¹²CO₂; esta relación se expresa como un valor delta ($\delta^{13}\text{CO}_2$), el cual según el punto de corte, permitirá definir la prueba como positiva o negativa [119]. El análisis por espectrometría de masas de relación isotópica se explicará posteriormente con mayor detalle.

En la **figura 2** se esquematiza el principio de la prueba de aliento con ¹³C-urea. En ausencia de ureasa gástrica, esto es, en ausencia de colonización de la mucosa gástrica por *Helicobacter pylori* u otras bacterias productoras de ureasa que pudiesen sobrevivir allí como *Helicobacter helmannii*, la urea administrada se excreta por vía renal.

Desarrollo de la PAU-Hp¹³C®

La prueba de aliento con ¹³C-urea desarrollada en nuestro medio (PAU-Hp¹³C®) obedeció a los altos costos de la prueba que se venía utilizando, a las dificultades con la importación

de los estuches del protocolo europeo (Tau-Kit, Isomed SL, Madrid, España) y a la necesidad de no depender del ácido cítrico que era poco tolerado por los pacientes, en especial por los pacientes con dispepsia o antecedentes de enfermedad ácido péptica.

Para lograrlo se diseñó un protocolo de estudio que incluyó 70 voluntarios, adultos sanos, asintomáticos desde el punto de vista de las manifestaciones clínicas asociadas con la infección por *Helicobacter pylori*. A todos los participantes en el estudio se les determinó el estatus de *Helicobacter pylori* mediante una prueba de aliento con ^{13}C -urea siguiendo el protocolo europeo, antes citado y a cada participante se le practicó, en días diferentes, los dos protocolos puestos a prueba:

- Protocolo 1: después de 8 horas de ayuno, se toma una muestra basal de aliento, toma “como un trago fuerte” 50 mg de ^{13}C -urea disueltos en 10 mL de agua destilada, seguido inmediatamente de 200 mL de agua estéril; y,

- Protocolo 2: similar al protocolo 1, excepto que a los 200 mL de agua estéril del final de la prueba se le han agregado 4,2 g de ácido cítrico.

Para ambos protocolos se tomaron muestras pos ^{13}C -urea a los 10, 20 y 30 minutos respectivamente, y estas fueron analizadas en un espectrómetro de masas de relación isotópica en el Laboratorio Clínico Hematológico en Medellín, Colombia.

Como se observa en la **tabla 2**, ambos protocolos tiene un desempeño excelente, siendo un “poco” mejor el protocolo 1 que elimina la necesidad del ácido cítrico y como se observa en la **figura 3** el protocolo 1 tiene una sensibilidad y especificidad del 100%, por lo cual éste se determina como un nuevo protocolo, el cual se ha venido aplicando desde 2007 en el Laboratorio Clínico Hematológico, único laboratorio clínico que a nivel nacional oferta la prueba de aliento con ^{13}C -urea para el diagnóstico y manejo de la infección por *Helicobacter pylori*. Vale la pena

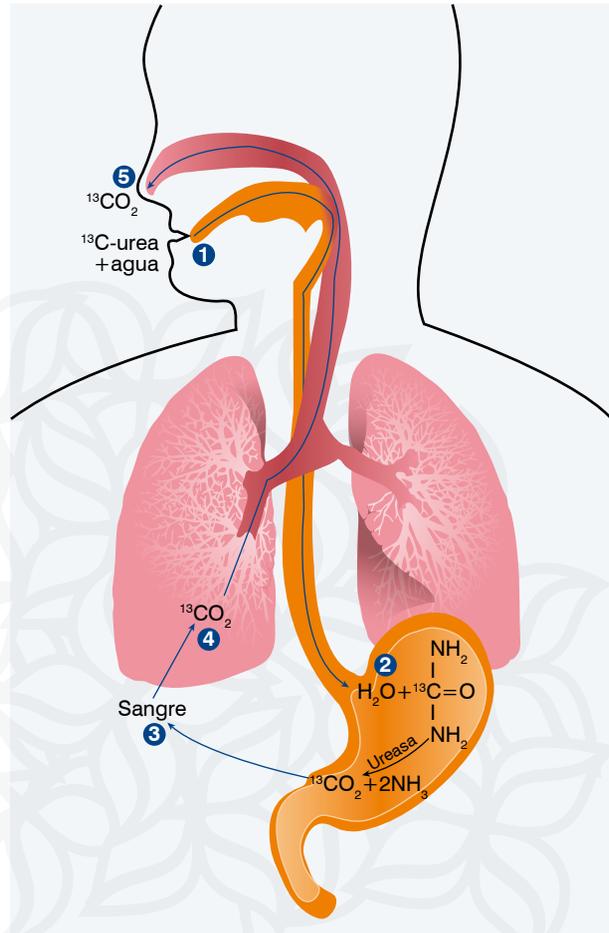


Figura 2. Representación esquemática de la PAU-Hp ^{13}C ® para la detección de *Helicobacter pylori*. (1) El paciente ingiere urea marcada con ^{13}C -urea disuelta en agua e inmediatamente toma más agua; (2) la ureasas de las bacterias presentes en el estómago, desdoblan la urea a amoníaco y a dióxido de carbono ($^{13}\text{CO}_2$); (3) el amoníaco crea la “nube” que protege a las bacterias del medio ácido; (4) el $^{13}\text{CO}_2$ pasa al torrente sanguíneo y (5) llega hasta los pulmones; (6) el paciente exhala $^{13}\text{CO}_2$, el cual se puede cuantificar posteriormente por espectrometría de masas.

Tabla 2. Sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo y valor predictivo negativo para los protocolos europeo y PAU-Hp¹³C®

Minutos	DOB	Sensibilidad		Especificidad		Valor predictivo positivo		Valor predictivo negativo	
		P1	P2	P1	P2	P1	P2	P1	P2
10	0,5	100,0	97,83	45,83	62,5	77,97	83,33	100,0	93,75
	1,0	100,0	97,83	83,33	79,17	92,0	90,0	100,0	95,0
	1,5	100,0	97,83	95,83	95,83	97,87	97,83	100,0	95,83
	2,0	100,0	97,83	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	96,0
	2,5	100,0	95,65	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	92,31
	3,0	97,83	95,65	100,0	100,0	100,0	100,0	96,0	92,31
	3,5	97,83	95,65	100,0	100,0	100,0	100,0	96,0	92,31
	4,0	95,65	95,65	100,0	100,0	100,0	100,0	92,31	92,31
	4,5	93,48	95,65	100,0	100,0	100,0	100,0	88,89	92,31
	5,0	86,96	95,65	100,0	100,0	100,0	100,0	80,0	92,31
5,5	84,78	95,65	100,0	100,0	100,0	100,0	77,42	92,31	
30	0,5	100,0	97,83	54,17	45,83	80,7	77,59	100,0	91,67
	1,0	100,0	97,83	91,67	70,83	95,83	86,54	100,0	94,44
	1,5	100,0	97,83	100,0	83,33	100,0	91,84	100,0	95,24
	2,0	95,65	97,83	100,0	91,67	100,0	95,74	92,31	95,65
	2,5	91,3	97,83	100,0	100,0	100,0	100,0	85,71	96,0
	3,0	84,78	95,65	100,0	100,0	100,0	100,0	77,42	92,31
	3,5	82,61	95,65	100,0	100,0	100,0	100,0	75,0	92,31
	4,0	78,26	95,65	100,0	100,0	100,0	100,0	70,59	92,31
	4,5	78,26	95,65	100,0	100,0	100,0	100,0	70,59	92,31
	5,0	76,09	95,65	100,0	100,0	100,0	100,0	68,57	92,31
5,5	71,74	93,48	100,0	100,0	100,0	100,0	64,86	88,89	

El protocolo de la PAU-Hp¹³C® presenta sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo y valor predictivo negativo de 100% con punto de corte delta de 2,0 a los 10 minutos, mientras que el protocolo europeo con su punto de corte de 2,5 y toma de muestra a los 30 minutos posurea presenta una especificidad y un valor predictivo positivo de 100%, una sensibilidad de 97,83% y un valor predictivo negativo de 96,0%. *Convenciones:* P1, Protocolo PAU-Hp¹³C® ; P2, Protocolo europeo. Adaptado de **Campuzano-Maya G.** An optimized ¹³C-urea breath test for the diagnosis of H pylori infection. World J Gastroenterol 2007; 13: 5454-5464 [66]

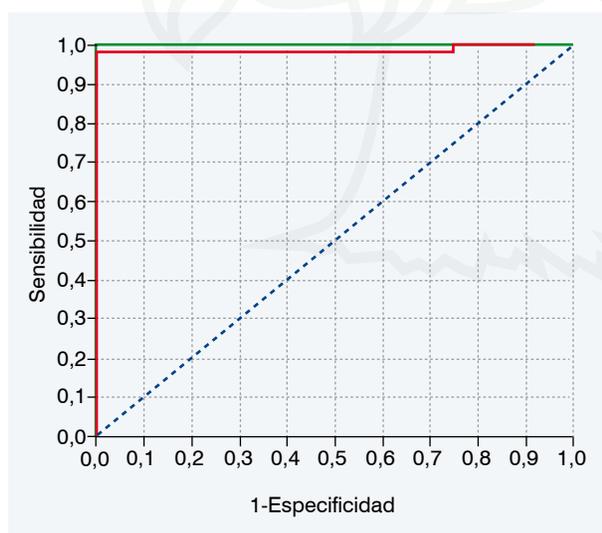


Figura 3. Curva ROC para el protocolo europeo y el protocolo de PAU-Hp¹³C® optimizada cuando se toma la muestra posurea a los 10 minutos. En ésta se observa que la prueba PAU-Hp¹³C optimizada (curva de color verde) presenta mayor especificidad que la del protocolo europeo (curva de color rojo). Tomado de [66].

aclarar que este es el único protocolo, hasta ahora referenciado en la literatura médica mundial, que utiliza el agua después de ingerir la ¹³C-urea para eliminar trazas de urea marcada en la cavidad oral, situación que podría dar origen a resultados falsos positivos, a la vez que disuelve la ¹³C-urea en la cavidad gástrica poniéndola en contacto con la totalidad de la mucosa gástrica, evitando de esta manera que se den resultados falsos negativos [66]. Mayor información sobre la PAU-Hp¹³C® puede ser consultado en www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17907288, en donde está disponible.

En resumen la nueva prueba resolvió los problemas que induje-

Tabla 3. Principales diferencias entre el protocolo europeo y el colombiano optimizado para la prueba de aliento con urea marcada con carbono 13

Características	Protocolo europeo	Protocolo colombiano PAU-Hp ¹³ C®	Comentario
Componentes	Un comprimido de 100 mg de ¹³ C-urea, 4,2 g de ácido cítrico, cuatro tubos de vidrio (2 basal y 2 post), dos pajitas y un prospecto	1 frasco con 50 mg de ¹³ C-urea, dos tubos de vidrio (1 basal y 1 post), dos pajitas y un prospecto	La urea suministrada se reduce al 50%, se elimina el ácido cítrico y los tubos utilizados para la toma de muestra se reducen de cuatro a dos
Empaque interior	Molde de plástico	Molde de plástico	No hay diferencia significativa
Empaque exterior	Caja de cartón	Caja plástica a prueba de golpes	Se aumenta la resistencia del empaque para mejor manejo por el correo
Protocolo	Previo un ayuno de más de 8 horas, (1) administrar 4,2 g de ácido cítrico disueltos en 100 mL de agua, (2) diez minutos después (a) toma de muestra de aliento basal (t ₀), (b), administrar 100 mg de urea disuelta en 30 mL y (3) toma de muestras posurea a los 30 (t ₃₀) minutos después	Previo un ayuno de más de 8 horas, (1) toma de muestra de aliento basal (t ₀), (2) administrar 50 mg de urea en un "trago" pasado con 200 mL de agua y (3) toma de muestras posurea a los 10 (t ₁₀)	Se reduce el tiempo de la prueba de 40 minutos a 10 minutos
Punto de corte	δ ¹³ CO ₂ : 2,5	δ ¹³ CO ₂ : 2,0	El suministro de ácido cítrico en el protocolo europeo eleva los valores de δ ¹³ CO ₂ en la muestra basal

ron al estudio: se tuvo una prueba más sencilla, totalmente inocua, fácil de tomar (aún por el paciente), con indicadores analíticos en el 100% y de menor costo, características que la hacen una buena candidata para el diagnóstico y manejo de la infección por *Helicobacter pylori* en el medio. En la **tabla 3** se muestran las principales diferencias entre las pruebas de aliento con ¹³C-urea de acuerdo con el protocolo europeo [65] y el desarrollado localmente, también conocido como protocolo colombiano [66].

Descripción, paso a paso, de la PAU-Hp¹³C®

La PAU-Hp¹³C® tiene dos componentes: la toma de las muestras y el análisis de las muestras, como se analizará en detalle en los siguientes subtítulos.

Toma de las muestras

En este subtítulo se incluyen la preparación del paciente, la toma propiamente dicha de las muestras de aire expirado basal (t₀) y pos ¹³C-urea (t₁₀), el manejo de las muestras y su remisión a la central de análisis.

Preparación del paciente

Con relación a la preparación del paciente para la prueba, es importante tener en cuenta algunos aspectos generales, tales como:

- Si bien, la falta de ayuno del paciente no parece interferir con el resultado final de la prueba [120], siempre que sea posible, para mejor estandarización, es preferible que se haga después un ayuno de 8 horas [120, 121];
- Si la prueba se realiza para evaluar la eficacia del tratamiento de erradicación, el paciente debe llevar como mínimo cuatro semanas de haber terminado la erradicación, ya que dará un resultado falso negativo [122];

- Si el paciente ha tomado antibióticos por otra razón diferente a la erradicación, como en el caso anterior, dependiendo del tipo de antibióticos, la dosis y el tiempo puede tener resultados falsos negativos y en este caso se recomienda posponer la prueba por dos semanas después de haber discontinuado la medicación;
- No haber tomado inhibidores de la bomba de protones (omeprazol y similares) o antagonistas del receptor H₂ (roxatidina y ranitidina) en las dos semanas anteriores a la toma de la muestra, ya, que similar a los antibióticos, puede dar un falso negativo [123-126]; y,
- La prueba no debe hacerse inmediatamente después de la endoscopia en pacientes con episodios hemorrágicos activos por úlcera péptica [127].

Componentes del estuche de la PAU-Hp¹³C®

Cada estuche (kit) de PAU-Hp¹³C® [116] contiene los elementos necesarios para hacer la prueba y se compone de:

1. Un recipiente que contiene 200 mL de agua estéril;
2. Un recipiente que contiene 50 mg de ¹³C-urea disuelta en 10 mL de agua estéril;
3. Un primer tubo, con tapa azul, para recoger una primera muestra de aliento (t₀), antes de recibir la ¹³C-urea;
4. Un segundo tubo, con tapa roja, para recoger una segunda muestra de aliento al final de la prueba de aliento (t₁₀), a los 10 minutos después de haber tomado la ¹³C-urea;
5. Un par de pitillos para recoger la primera muestra de aliento y la segunda muestra dentro del primer frasco (tapa azul) (t₀) y del segundo frasco (tapa roja) (t₁₀), respectivamente

Además, cada estuche (kit) contiene etiquetas para marcar los tubos, instrucciones para la toma de las muestras, cuestionario para remitir las muestra a la central de análisis y material de prevención y promoción en salud sobre la infección por *Helicobacter pylori* y el papel de la PAU-Hp¹³C® en el diagnóstico y el manejo de esta infección.

Instrucciones para la toma de la muestra y su remisión a la central de análisis

Para alcanzar las condiciones analíticas de la prueba, reflejadas en una sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo, valor predictivo negativo y exactitud de 100% que se puede esperar de la prueba [66], es indispensable que las condiciones de preparación del paciente sean las indicadas y que la prueba se haga siguiendo estricta y cuidadosamente los pasos sobre los cuales se desarrolló la prueba, como se describen a continuación:

Preparación para la toma de las muestras

De la calidad de las muestras dependen los resultados, de ahí la importancia de que siga estricta y cuidadosamente las siguientes instrucciones:

1. El paciente se debe presentar al laboratorio clínico o tomar las muestras con un ayuno previo de ocho horas.
2. La prueba no se puede iniciar hasta que el laboratorio clínico o el paciente no haya comprendido las instrucciones y hasta que no se tenga listo todo el material que se debe preparar para poder iniciar la toma de las muestras: antes y después de ingerir la ¹³C-urea.

3. Abra el estuche que contiene el material necesario para la prueba y reconózcalo.
4. Además del material suministrado en el estuche, el laboratorio clínico o el paciente, deberá disponer de un vaso para transferir los 200 mL de la botella de agua e, idealmente, al momento de tomar las muestras deberá tener a su disposición un reloj con segundero o un cronómetro.
5. Antes de empezar la prueba, el laboratorio clínico o el paciente, deben marcar, pegar las etiquetas en los tubos y llenar la hoja de datos que remitirá a la central de análisis para el respectivo análisis de las muestras.

Durante el procedimiento, el paciente no debe realizar otra actividad diferente a la prueba. Se puede distraer y perder el material suministrado o la muestra no resultar adecuada para el estudio, dando resultados inesperados, con resultados falsos positivos o resultados falsos negativos.

Toma de las muestras para la PAU-Hp¹³C®

Preparación de la prueba

La prueba no debe iniciarse hasta que el laboratorio clínico o el paciente hayan comprendido y llenado todos los pasos preliminares en su totalidad y tenga todos los elementos necesarios (los que se incluyen y los que no se incluyen en el estuche) a mano. Se debe recordar que la calidad de los resultados depende de la calidad de la muestra y de la preparación del paciente.

1. Destapar el frasco que contiene la ¹³C-urea (50 mg) disuelta en 10 mL de agua estéril, lista para ser ingerida.
2. Transferir los 200 mL de agua que contiene la botella que se entrega con el estuche (kit) en un vaso limpio con capacidad suficiente para contenerla.

Toma de las muestras para la PAU-Hp¹³C®

La toma de la muestra para la PAU-Hp¹³C®, consta de tres pasos que deben seguirse al pie de la letra:

1. En el tubo de tapa azul se toma de la muestra basal (t_0). Para ello el laboratorio o el paciente si hace la prueba en forma independiente, toma aire profundamente y utilizando una de las pajillas suministradas en el estuche sopla lentamente hasta el final, tratando de sacar lentamente la pajilla del tubo en los últimos segundos de la espiración, como se muestra en la **figura 4**. Al retirar la pajilla tape herméticamente el tubo y póngalo en el estuche de la prueba.



Figura 4. Toma de muestra de aliento para la PAU-Hp¹³C®.

2. Como si fuese a tomar un “trago fuerte” tome el contenido del frasco marcado con ¹³C-urea e inmediatamente “pásela” con el agua suministrada (200 mL), de tal manera que en la cavidad oral no quede ningún rastro de ¹³C-urea. Al terminar, se empiezan a contar los 10 minutos.
3. Pasados los 10 minutos (t_{10}), en el tubo de tapa roja se toma la muestra pos ¹³C-urea. De la misma manera como se toma la muestra basal (t_0), se toma aire profundamente y utilizando la otra pajilla suministradas en el estuche se sopla lentamente hasta el final, tratando de sacar lentamente la pajilla del tubo en los últimos segundos de la espiración, como se muestra en la **figura 4**. Al retirar la pajilla se tapa herméticamente el tubo y se lo pone en el estuche de la prueba.

Para mayor seguridad, se puede remitir al video “toma de muestra para la PAU-Hp¹³C®” en la página www.13c.com.co en donde encontrará más información.

Embalaje y remisión de las muestras a la central de análisis

La PAU-Hp¹³C® está diseñada para que las muestras sean tomadas en las instituciones de salud, ya sea en los hospitales, los consultorios médicos o en los laboratorios clínicos, o directamente por el paciente en su local de origen y sean remitidas a un centro de procesamiento que disponga de un espectrómetro de masa de relación isotópica, en donde se hace el análisis respectivo de las muestras.

Una vez que se haya tomado la muestra, los tubos se depositan en el mismo sitio en donde originalmente se encontraban y se cierra el estuche (kit) para ser enviado a la central de análisis donde se analizarán las muestras. No se debe olvidar incluir en el envío todos los datos para la identificación del paciente, entre ellos el nombre completo, la edad, el número de identificación y la fecha de nacimiento.

Envío de las muestras por correo

Luego de tomar las muestras y de cerrar adecuadamente los tubos que contienen el aire exhalado, el estuche de PAU-Hp¹³C® se debe sellar y se debe enviar por correo certificado al centro de análisis. Para el transporte de las muestras, no se requieren condiciones especiales de temperatura ni de tiempo que tarda en la remisión; sin embargo, el estuche no debe sufrir golpes fuertes y se debe garantizar que los tubos contenedores de las muestras no se quiebren durante el transporte.

Estabilidad de las muestras de aire expirado

La muestra de aliento es estable a temperatura ambiente hasta por ocho meses [128]. Para garantizar la estabilidad de las muestras, el tubo se debe cerrar inmediatamente después de tomar las muestras, tal y como se describió en la sección “Toma de las muestras para la PAU-Hp¹³C®”, para evitar la pérdida del aire exhalado allí depositado.

Análisis de la prueba

Como se ha mencionado en el curso de este módulo la prueba debe ser analizada en un centro especializado en donde conozcan de la metodología y tengan los instrumentos necesarios para hacerlo.

Instrumento para medir el $^{13}\text{CO}_2$

El análisis de la prueba se hace con un espectrómetro de masas de relación isotópica. En nuestro medio se emplea un equipo de la marca *Automated Breath $^{13}\text{Carbon Analyser (ABCA)}$* [®] de *Europa Scientific*, instrumento especializado para medir carbono o nitrógeno en muestras gaseosas en un sistema automatizado y controlado mediante un software especializado que regula tanto la parte instrumental como los resultados.

En este instrumento se incorporan varios pasos y metodologías antes de medir específicamente la cantidad de $^{13}\text{CO}_2$ y $^{12}\text{CO}_2$. Se dan los siguientes pasos:

Transporte de la muestra y desecación

La muestra de aliento es tomada automáticamente por el instrumento del tubo Exteiner[®] que contiene dicha muestra previamente tomada al paciente. Una aguja concéntrica atraviesa el septum del tubo y por medio de un flujo de helio a 90 mL/min se arrastra el aire que es dirigido hacia la columna de desecación. La columna de desecación, compuesta por perclorato de manganeso (MnClO_4) como sustancia desecante, tiene la función de absorber el vapor de agua que contiene la muestra de aliento.

Separación de gases

A continuación, la muestra desecada, pasa a través de una columna cromatográfica de gases que trabaja a 100°C con un flujo de 0 a 100 mL/min, con el objeto de separar el CO_2 de otros gases presentes en la muestra que pueden intervenir en la medición. El nitrógeno y el oxígeno eluidos de la columna son desechados hacia el exterior y el CO_2 restante es transportado hacia el espectrómetro de masas para su análisis final.

Medición del $^{13}\text{CO}_2$ y del $^{12}\text{CO}_2$

Finalmente, la muestra de CO_2 purificada es analizada en el espectrómetro de masa de relación isotópica. La espectrometría de masas se fundamenta en la separación de partículas moleculares en función de su masa. En primer lugar, una fuente de ionización, constituida por un chorro de electrones acelerados, convierte la muestra gaseosa en un estrecho haz de moléculas ionizadas con una determinada energía. Este haz de moléculas penetra en un analizador magnético, de manera que las moléculas ionizadas son obligadas a describir una trayectoria semicircular, en donde el recorrido está en función de su peso molecular. De esta manera se separa el $^{13}\text{CO}_2$ del $^{12}\text{CO}_2$ según los pesos moleculares de ambos compuestos: para el $^{13}\text{CO}_2$ es de 45, en tanto que para el $^{12}\text{CO}_2$ es de 44. Las moléculas de CO_2 así separadas, van a parar a unos colectores en donde sus cargas provocan una corriente eléctrica que es amplificada y convertida en una señal, la cual es objeto de análisis final por un *software* especializado que controla todo el proceso.

Cálculos y reporte de resultados

El resultado que entrega el instrumento está expresado en unidades delta de $^{13}\text{CO}_2$ y corresponde a la relación entre $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ de la muestra respecto a un patrón internacional, aplicando la siguiente fórmula:

$$\delta^{13}\text{C} = (\text{R}_{\text{muestra}} - \text{R}_{\text{patrón}} / \text{R}_{\text{patrón}}) \times (1.000)$$

en donde el patrón denominado PDB (*Pee Dee Belemnite*), un carbonato del sur de California [129], equivale a 1,1112328 átomos de ^{13}C por mil.

El resultado final corresponderá a la diferencia entre la muestra post-administración de la ¹³C-urea y la muestra basal antes de la ¹³C-urea y se expresa como “exceso de $\delta^{13}\text{CO}_2$ ” de manera que el paciente será positivo para la prueba de *Helicobacter pylori* cuando este exceso de $\delta^{13}\text{CO}_2$ esté por encima del punto de corte asignado para la prueba, como se analizará más adelante, en los valores de referencia.

En la **figura 5** se esquematiza el funcionamiento del espectrómetro de masas de relación isotópica utilizado en nuestro medio.

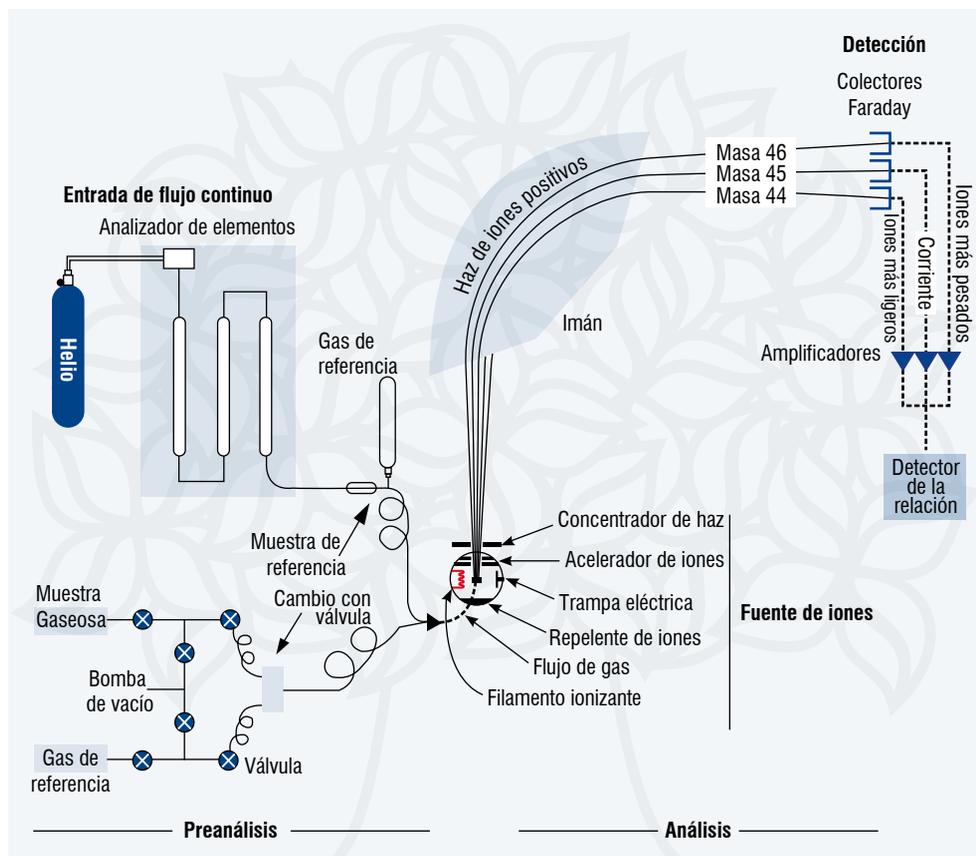


Figura 5. Diagrama de funcionamiento del espectrómetro de masas de relación isotópica. A la izquierda, los procesos de preparación (preanalíticos) de la muestra incorporados al instrumento, y a la derecha, los procesos de medición (analíticos) propiamente dichos. Tomado de **Campuzano-Maya G.** Pruebas de aliento basadas en sustratos marcados con carbono 13. *Medicina & Laboratorio* 2011; 17: 39-79.

Indicaciones de la PAU-Hp¹³C®

En términos generales las pruebas de aliento basadas en ¹³C-urea y por extensión, la PAU-Hp¹³C® está indicada en dos situaciones particulares: en el diagnóstico y el seguimiento pos tratamiento de la infección por *Helicobacter pylori*.

PAU-Hp¹³C® en el diagnóstico de la infección por *Helicobacter pylori*

La PAU-Hp¹³C® es la prueba con mejor desempeño analítico, con una sensibilidad, especificidad, un valor predictivo positivo, valor predictivo negativo y exactitud de 100% [66],

similares a los indicadores que también han logrado otros protocolos [100, 102, 104, 106, 130-136], cuando se requiere conocer el status de la infección por *Helicobacter pylori* y no está indicada la endoscopia digestiva alta, acorde con lo que hasta el momento se ha establecido en los diferentes consensos como el Consenso de Maastricht I [137] y ratificado por el Consenso de Maastricht II [138], el Consenso de Maastricht III [139] y el Consenso de Maastricht IV / Consenso de Florencia [140], el Consenso Latinoamericano para el manejo de *Helicobacter pylori* en Latinoamérica [141], el Consenso Asia-Pacífico en su primera [142] y segunda reunión [143] y la Guía de Manejo de la Infección por *Helicobacter pylori* en Japón [144] y organismos como la Asociación Americana de Gastroenterología [145] y Cochrane [146], entre otros.

PAU-Hp¹³C® en el seguimiento postratamiento de la infección por *Helicobacter pylori*

De acuerdo con los Consensos de Maastricht, I, II, III y IV, independiente del método utilizado para el diagnóstico de la infección por *Helicobacter pylori*, la mejor opción para evaluar los tratamientos de erradicación es la prueba de aliento con ¹³C-urea [139]. En la **figura 6** se representan las posibilidades que se pueden presentar en el seguimiento postratamiento de erradicación de la bacteria [147].

Contraindicaciones de la PAU-Hp¹³C®

En términos generales, las pruebas de aliento basadas en ¹³C-urea y por extensión, la PAU-Hp¹³C®, al utilizar como sustrato ¹³C-urea, un isótopo natural, inocuo y presente en el aire que se respira, estas pruebas no tienen ninguna contraindicación y se puede emplear en todos los grupos de edad a partir del momento en que los niños colaboren con la toma de la muestra [85, 148, 149].

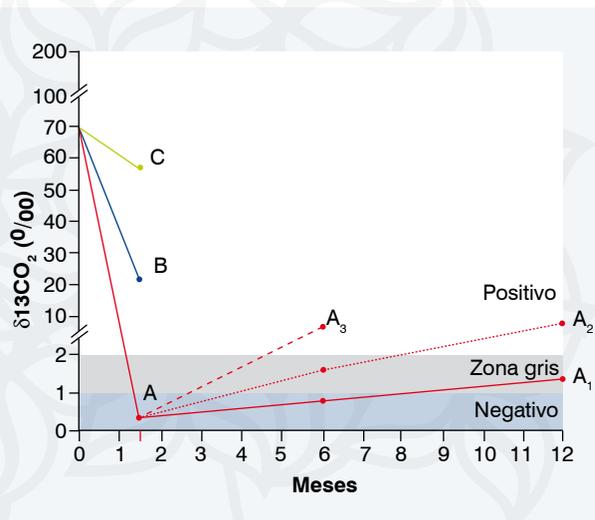


Figura 6. Seguimiento postratamiento de erradicación de la infección por *Helicobacter pylori* mediante PAU-Hp¹³C®. Se pueden obtener varios resultados: (A) que al mes y medio de haber terminado el tratamiento la prueba esté por debajo de 1,0 δ¹³CO₂ (negativa); (A1) que a los seis y doce meses continúe negativa, en cuyo caso se considera curación definitiva de la infección; (A2) que a los seis meses esté negativa y a los doce meses esté positiva, en cuyo caso se considera recaída tardía (o aclaramiento); (A3) que a los seis meses esté positiva, en cuyo caso se considera recaída temprana; (B) que el tratamiento redujo significativamente la cantidad de bacterias, pero no lo suficiente para que la prueba fuera negativa, en cuyo caso está indicado un nuevo tratamiento; (C) que el tratamiento no redujo significativamente la cantidad de bacterias, en cuyo caso está indicado un nuevo tratamiento. Tomado y modificado de Campuzano-Maya G. Diagnóstico no-invasivo de *Helicobacter pylori*: ¿serología, prueba de aliento con ¹³C-urea o antígenos de *Helicobacter pylori* en materia fecal? Medicina & Laboratorio 2007; 13:211-232 [147].

Interpretación de la PAU-Hp¹³C®

Valores esperados

Cuando se realiza una PAU-Hp¹³C®, hay tres resultados posibles:

- Valores menores a 1,00 $\delta^{13}\text{CO}_2$: prueba negativa. El paciente no tiene infección por *Helicobacter pylori*.
- Valores entre 1,00 y 1,99 $\delta^{13}\text{CO}_2$: zona gris. Los valores son altamente sospechosos de infección, se recomienda revisar los antecedentes de consumo de antibióticos y de inhibidores de bomba de protones que pueden reducir el delta y dar origen a falsos negativos. De acuerdo con el criterio del médico, la prueba se puede repetir para definir si es positiva o negativa.
- Valores mayores a 2,00 $\delta^{13}\text{CO}_2$: prueba positiva. Estos valores confirman la infección por *Helicobacter pylori* con una sensibilidad y una especificidad de 100%

Resultados falsos positivos

La prueba está diseñada para tener una sensibilidad de 100%, lo que significa ausencia de resultados falsos positivos, sin embargo, como toda prueba de laboratorio o procedimiento médico no está exenta de tener resultados falsos positivos.

La prueba puede resultar falsamente positiva debido a la presencia de otras bacterias productoras de ureasa en la cavidad gástrica como *Helicobacter helmannii*, aunque esta especie de *Helicobacter* rara vez es responsable de gastritis en humanos [150, 151], en cuyo caso no sería un problema mayor debido a que *Helicobacter helmannii* también es un patógeno que produce gastritis y en consecuencia debe ser erradicado con esquemas de antibióticos similares a los de *Helicobacter pylori* [152]. En los pacientes con aclorhidria (falta de ácido clorhídrico) [153] o en los pacientes tratados por largos periodos con antagonistas del receptor H₂, la bacteria *Proteus mirabilis*, productora de ureasa, al colonizar la cavidad gástrica, puede producir resultados *borderline* que dan origen a resultados falsos positivos [154]. Otras bacterias productoras de ureasa que se han reportado como responsables de resultados *borderline* en la prueba de aliento son *Citrobacter freundii*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter cloacae*, otros miembros de la familia Enterobacteriaceae y *Staphylococcus aureus*, ya sean aislados de cavidad oral o de mucosa gástrica [154].

También puede haber resultados falsos positivos cuando en la cavidad oral quedan restos de ¹³C-urea, ésta se descompone y se libera ¹³CO₂, como puede suceder con las bacterias productoras de ureasa como *Proteus mirabilis*, *Citrobacter freundii*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter cloacae* y *Staphylococcus aureus* [154], microorganismos que no tienen efecto alguno en la PAU-Hp¹³C®, ya que el paciente después de tomar la urea disuelta en agua, “la pasa” inmediatamente con 200 mL de agua para evitar que queden residuos de urea en la cavidad oral [66].

Resultados falsos negativos

La prueba está diseñada para tener una especificidad de 100%, lo que significa ausencia de resultados falsos negativos; sin embargo, como toda prueba de laboratorio o procedimiento médico no está exenta de tener resultados falsos negativos. La prueba puede resultar falsamente negativa si no se tienen en cuenta las interacciones que se mencionaron previamente, en particular el antecedente del consumo de antibióticos en las cuatro semanas anteriores a la prueba o de medicamentos para controlar la acidez gástrica, como los inhibidores de la bomba de protones (omeprazol y similares) y de algunos antagonistas del receptor H₂ (roxatidina y ranitidina) en las dos semanas anteriores [119, 122-124, 155]. También puede haber resultados falsos negativos en los pacientes que se han sometido previamente a una gastrectomía parcial [156, 157], en donde la ¹³C-urea pasa rauda por el muñón gástrico.

Bibliografía

- Warren J, Marshall B. Unidentified curved bacilli on gastric epithelium in active chronic gastritis. *Lancet* 1983; 1273-1275.
- Piazuelo MB, Epplein M, Correa P. Gastric cancer: an infectious disease. *Infectious disease clinics of North America* 2010; 24: 853-869, vii.
- Pandey R, Misra V, Misra S, Dwivedi M, Kumar A, Tiwari BK. *Helicobacter pylori* and gastric cancer. *Asian Pac J Cancer Prev* 2010; 11: 583-588.
- Stolte M, Bayerdorffer E, Morgner A, Alpen B, Wundisch T, Thiede C, et al. *Helicobacter* and gastric MALT lymphoma. *Gut* 2002; 50 Suppl 3: III19-24.
- Blaser MJ. *Helicobacter pylori* phenotypes associated with peptic ulceration. *Scand J Gastroenterol Suppl* 1994; 205: 1-5.
- Qu XH, Huang XL, Xiong P, Zhu CY, Huang YL, Lu LG, et al. Does *Helicobacter pylori* infection play a role in iron deficiency anemia? A meta-analysis. *World J Gastroenterol* 2010; 16: 886-896.
- Stopeck A. Links between *Helicobacter pylori* infection, cobalamin deficiency, and pernicious anemia. *Arch Intern Med* 2000; 160: 1229-1230.
- Serin E, Gümürdülü Y, Ozer B, Kayaselcuk F, Yilmaz U, Kocak R. Impact of *Helicobacter pylori* on the development of vitamin B12 deficiency in the absence of gastric atrophy. *Helicobacter* 2002; 7: 337-341.
- Marino MC, de Oliveira CA, Rocha AM, Rocha GA, Clementino NC, Antunes LE, et al. Long-term effect of *Helicobacter pylori* eradication on plasma homocysteine in elderly patients with cobalamin deficiency. *Gut* 2007; 56: 469-474.
- Gupta V, Eden AJ, Mills MJ. *Helicobacter pylori* and autoimmune neutropenia. *Clin Lab Haematol* 2002; 24: 183-185.
- Malik AA, Ganti AK, Potti A, Levitt R, Hanley JF. Role of *Helicobacter pylori* infection in the incidence and clinical course of monoclonal gammopathy of undetermined significance. *Am J Gastroenterol* 2002; 97: 1371-1374.
- Campuzano-Maya G. Proof of an association between *Helicobacter pylori* and idiopathic thrombocytopenic purpura in Latin America. *Helicobacter* 2007; 12: 265-273.
- Hoshino C. Adult onset Schönlein-Henoch purpura associated with *Helicobacter pylori* infection. *Intern Med* 2009; 48: 847-851.
- Yadav MK, Rishi JP, Nijawan S. Chronic urticaria and *Helicobacter pylori*. *Indian J Med Sci* 2008; 62: 157-162.
- Boixeda de Miquel D, Vazquez Romero M, Vazquez Sequeiros E, Foruny Olcina JR, Boixeda de Miquel B, Lopez San Roman A, et al. Effect of *Helicobacter pylori* eradication therapy in rosacea patients. *Rev Esp Enferm Dig* 2006; 98: 501-509.
- Qayoom S, Ahmad QM. Psoriasis and *Helicobacter pylori*. *Indian J Dermatol Venereol Leprol* 2003; 69: 133-134.
- Daudén E, Vázquez-Carrasco MA, Peñas PE, Pajares JM, García-Díez A. Association of *Helicobacter pylori* infection with psoriasis and lichen planus: prevalence and effect of eradication therapy. *Arch Dermatol* 2000; 136: 1275-1276.
- Campuzano-Maya G. Cure of alopecia areata after eradication of *Helicobacter pylori*: A new association? *WJG* 2011; *in process*.
- El Miedany YM, Baddour M, Ahmed I, Fahmy H. Sjögren's syndrome: concomitant *H. pylori* infection and possible correlation with clinical parameters. *Joint Bone Spine* 2005; 72: 135-141.
- Zentilin P, Serio B, Dulbecco P, Caratto E, Iiritano E, Fasciolo D, et al. Eradication of *Helicobacter pylori* may reduce disease severity in rheumatoid arthritis. *Aliment Pharmacol Ther* 2002; 16: 1291-1299.
- Longo-Mbenza B. *Helicobacter pylori* and atherosclerosis: can current data be useful for clinical practice? *Int J Cardiol* 2009; 135: e76-77.
- Migneco A, Ojetti V, Specchia L, Franceschi F, Candelli M, Mettimano M, et al. Eradication of *Helicobacter pylori* infection improves blood pressure values in patients affected by hypertension. *Helicobacter* 2003; 8: 585-589.
- Rechcinski T, Kasprzak JD, Chmiela M, Krzeminska-Pakula M, Rudnicka W. Patients with unstable angina pectoris present increased humoral response against *Helicobacter pylori* in comparison with patients with aggravated dyspepsia. *Acta Microbiol Pol* 2002; 51: 339-344.
- Franceschi F, Leo D, Fini L, Santoliquido A, Flore R, Tondi P, et al. *Helicobacter pylori* infection and ischaemic heart disease: an overview of the general literature. *Dig Liver Dis* 2005; 37: 301-308.
- Gasbarrini A, De Luca A, Fiore G, Gabrielli M, Franceschi F, Ojetti V, et al. Beneficial effects of *Helicobacter pylori* eradication on migraine. *Hepatogastroenterology* 1998; 45: 765-770.
- Radic M, Martinovic Kaliterna D, Bonacin D, Morovic Vergles J, Radic J. Correlation between *Helicobacter pylori* infection and systemic sclerosis activity. *Rheumatology (Oxford)* 2010; 49: 1784-1785.
- Whincup PH, Mendall MA, Perry IJ, Strachan DP, Walker M. Prospective relations between *Helicobacter pylori* infection, coronary heart disease, and stroke in middle aged men. *Heart* 1996; 75: 568-572.
- Kountouras J, Gavalas E, Zavos C, Stergiopoulos C, Chatzopoulos D, Kapetanakis N, et al. Alzheimer's disease and *Helicobacter pylori* infection: Defective immune regulation and apoptosis as proposed common links. *Med Hypotheses* 2007; 68: 378-388.
- Berrutti M, Pellicano R, Fagoonee S, Saracco G, Rizzetto M. *Helicobacter pylori* and dementia. Which consistency for an association? *Panminerva Med* 2007; 49: 227-230.
- Seshadri S, Beiser A, Selhub J, Jacques PE, Rosenberg IH, D'Agostino RB, et al. Plasma homocysteine

- as a risk factor for dementia and Alzheimer's disease. *N Engl J Med* 2002; 346: 476-483.
31. Dobbs RJ, Dobbs SM, Weller C, Charlett A, Bjarnason IT, Curry A, et al. Helicobacter hypothesis for idiopathic parkinsonism: before and beyond. *Helicobacter* 2008; 13: 309-322.
 32. Kountouras J, Mylopoulos N, Boura P, Bessas C, Chatzopoulos D, Venizelos J, et al. Relationship between *Helicobacter pylori* infection and glaucoma. *Ophthalmology* 2001; 108: 599-604.
 33. Giusti C. Association of *Helicobacter pylori* with central serous chorioretinopathy: hypotheses regarding pathogenesis. *Med Hypotheses* 2004; 63: 524-527.
 34. Lee SB, Yang JW, Kim CS. The association between conjunctival MALT lymphoma and *Helicobacter pylori*. *Br J Ophthalmol* 2008; 92: 534-536.
 35. De Luis DA, Varela C, de La Calle H, Canton R, de Argila CM, San Roman AL, et al. *Helicobacter pylori* infection is markedly increased in patients with autoimmune atrophic thyroiditis. *J Clin Gastroenterol* 1998; 26: 259-263.
 36. Franceschi F, Satta MA, Mentella MC, Penland R, Candelli M, Grillo RL, et al. *Helicobacter pylori* infection in patients with Hashimoto's thyroiditis. *Helicobacter* 2004; 9: 369.
 37. Kountouras J, Zavos C, Chatzopoulos D. A concept on the role of *Helicobacter pylori* infection in autoimmune pancreatitis. *J Cell Mol Med* 2005; 9: 196-207.
 38. Bravo LE, Mera R, Reina JC, Pradilla A, Alzate A, Fonham E, et al. Impact of *Helicobacter pylori* infection on growth of children: a prospective cohort study. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2003; 37: 614-619.
 39. Mera RM, Correa P, Fonham EE, Reina JC, Pradilla A, Alzate A, et al. Effects of a new *Helicobacter pylori* infection on height and weight in Colombian children. *Ann Epidemiol* 2006; 16: 347-351.
 40. Mera RM, Bravo LE, Goodman KJ, Yopez MC, Correa P. Long-term effects of clearing *Helicobacter pylori* on growth in school-age children. *Pediatr Infect Dis J* 2012; 31: 263-266.
 41. Dubois S, Kearney DJ. Iron-deficiency anemia and *Helicobacter pylori* Infection: a review of the evidence. *Am J Gastroenterol* 2005;100:453-459.
 42. Kerr JR, Al-Khattaf A, Barson AJ, Burnie JP. An association between sudden infant death syndrome (SIDS) and *Helicobacter pylori* infection. *Arch Dis Child* 2000; 83: 429-434.
 43. Malaty HM, Abudayyeh S, Graham DY, Gilger MA, Rabeneck L, O'Malley K. A prospective study for the association of *Helicobacter pylori* infection to a multidimensional measure for recurrent abdominal pain in children. *Helicobacter* 2006; 11: 250-257.
 44. Golberg D, Szilagyi A, Graves L. Hyperemesis gravidarum and *Helicobacter pylori* infection: a systematic review. *Obstet Gynecol* 2007; 110: 695-703.
 45. Yavasoglu I, Kucuk M, Cildag B, Arslan E, Gok M, Kafkas S. A novel association between polycystic ovary syndrome and *Helicobacter pylori*. *Am J Med Sci* 2009.
 46. Eslick GD, Yan P, Xia HH, Murray H, Spurrett B, Talley NJ. Foetal intrauterine growth restrictions with *Helicobacter pylori* infection. *Aliment Pharmacol Ther* 2002; 16: 1677-1682.
 47. Ponzetto A, Cardaropoli S, Piccoli E, Rolfo A, Gennero L, Kanduc D, et al. Pre-eclampsia is associated with *Helicobacter pylori* seropositivity in Italy. *J Hypertens* 2006; 24: 2445-2449.
 48. UstUn Y, Engin-UstUn Y, Ozkaplan E, Otlu B, Sait TekerekoGlu M. Association of *Helicobacter pylori* infection with systemic inflammation in preeclampsia. *J Matern Fetal Neonatal Med* 2010; 23: 311-314.
 49. Jesnowski R, Isaksson B, Mohrcke C, Bertsch C, Bulajic M, Schneider-Brachert W, et al. *Helicobacter pylori* in autoimmune pancreatitis and pancreatic carcinoma. *Pancreatol* 2010; 10: 462-466.
 50. Trikudanathan G, Philip A, Dasanu CA, Baker WL. Association between *Helicobacter pylori* infection and pancreatic cancer. A cumulative meta-analysis. *JOP* 2011; 12: 26-31.
 51. Zhang Y, Hoffmeister M, Weck MN, Chang-Claude J, Brenner H. *Helicobacter pylori* infection and colorectal cancer risk: evidence from a large population-based case-control study in Germany. *Am J Epidemiol* 2012; 175: 441-450.
 52. Minasian MC, Sharma A, Richman PI, Olver JM. Conjunctival MALT lymphoma: an usual cause of red eye. *Postgrad Med J* 1999; 75: 423-424.
 53. Sjo NC, Foegh P, Juhl BR, Nilsson HO, Prause JU, Ralfkiaer E, et al. Role of *Helicobacter pylori* in conjunctival mucosa-associated lymphoid tissue lymphoma. *Ophthalmology* 2007; 114: 182-186.
 54. Gopal S, Awasthi S, Elghetany MT. Bilateral breast MALT lymphoma: a case report and review of the literature. *Ann Hematol* 2000; 79: 86-89.
 55. Gupta D, Shidham V, Zemba-Palko V, Keshgegian A. Primary bilateral mucosa-associated lymphoid tissue lymphoma of the breast with atypical ductal hyperplasia and localized amyloidosis. A case report and review of the literature. *Arch Pathol Lab Med* 2000; 124: 1233-1236.
 56. Tiomny E, Arber N, Moshkowitz M, Peled Y, Gilat T. Halitosis and *Helicobacter pylori*. A possible link? *J Clin Gastroenterol* 1992; 15: 236-237.
 57. Kolho KL, Holtta P, Alaluu S, Lindahl H, Savilahti E, Rautelin H. Dental caries is common in Finnish children infected with *Helicobacter pylori*. *Scand J Infect Dis* 2001; 33: 815-817.
 58. Tsang KW, Lam SK, Lam WK, Karlberg J, Wong BC, Hu WH, et al. High seroprevalence of *Helicobacter pylori* in active bronchiectasis. *Am J Respir Crit Care Med* 1998; 158: 1047-1051.
 59. Unal M, Ozturk L, Ozturk C, Kabal A. The seroprevalence of *Helicobacter pylori* infection in patients with obstructive sleep apnoea: a preliminary study. *Clin Otolaryngol* 2003; 28: 100-102.
 60. Ozdek A, Cirak MY, Samim E, Bayiz U, Safak MA, Turet S. A possible role of *Helicobacter pylori* in chronic rhinosinusitis: a preliminary report. *Laryngoscope* 2003; 113: 679-682.

61. Fancy T, Mathers PH, Ramadan HH. Otitis media with effusion: a possible role for *Helicobacter pylori*? *Otolaryngol Head Neck Surg* 2009;140:256-258.
62. Figura N, Piomboni P, Ponzetto A, Gambera L, Lenzi C, Vaira D, et al. *Helicobacter pylori* infection and infertility. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2002; 14: 663-669.
63. World Health Organization, International Agency for Research on Cancer (IARC), Working Group on the evaluation of carcinogenic risks to humans. *Helicobacter pylori*. Schistomes, liver flukes, and *Helicobacter pylori*: views and expert opinions of an IARC Working group on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Lyon. IARC Monogr Eval Carcinog Risks Hum 1994; 61: 177-240.
64. World Health Organization. International Statistical Classification of Diseases and Related Health Problems. Ginebra, 2003.
65. Logan RP, Dill S, Bauer FE, Walker MM, Hirschl AM, Gummert PA, et al. The European ¹³C-urea breath test for the detection of *Helicobacter pylori*. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 1991; 3: 915-921.
66. Campuzano-Maya G. An optimized ¹³C-urea breath test for the diagnosis of *H pylori* infection. *World J Gastroenterol* 2007; 13: 5454-5464.
67. Gisbert JP, Pajares JM. ¹³C-urea breath test in the management of *Helicobacter pylori* infection. *Dig Liver Dis* 2005; 37: 899-906.
68. República de Colombia, Comisión de Regulación en Salud. Acuerdo número 029 de diciembre 2011 "Por el cual se sustituye el Acuerdo 028 de 2010 que define, aclara y actualiza integralmente el Plan Obligatorio de Salud
69. Bytzer P. Cost-effectiveness of gastroscopy. *Ital J Gastroenterol Hepatol* 1999; 31: 749-760.
70. Nelson DB. Infectious disease complications of GI endoscopy: Part I, endogenous infections. *Gastrointest Endosc* 2003; 57: 546-556.
71. Nelson DB. Infectious disease complications of GI endoscopy: part II, exogenous infections. *Gastrointest Endosc* 2003; 57: 695-711.
72. McCloy R. Asleep on the job: sedation and monitoring during endoscopy. *Scand J Gastroenterol Suppl* 1992; 192: 97-101.
73. Quine MA, Bell GD, McCloy RE, Charlton JE, Devlin HB, Hopkins A. Prospective audit of upper gastrointestinal endoscopy in two regions of England: safety, staffing, and sedation methods. *Gut* 1995; 36: 462-467.
74. Vinette KM, Gibney KM, Proujansky R, Fawcett PT. Comparison of PCR and clinical laboratory tests for diagnosing *H. pylori* infection in pediatric patients. *BMC Microbiol* 2004; 4: 5.
75. Lin TT, Yeh CT, Yang E, Chen PC. Detection of *Helicobacter pylori* by polymerase chain reaction assay using gastric biopsy specimens taken for CLOtest. *J Gastroenterol* 1996;31:329-332.
76. Thijs JC, van Zwet AA, Thijs WJ, Oey HB, Karrenbeld A, Stellaard F, et al. Diagnostic tests for *Helicobacter pylori*: a prospective evaluation of their accuracy, without selecting a single test as the gold standard. *Am J Gastroenterol* 1996; 91: 2125-2129.
77. Gisbert JP, Pajares JM. Review article: C-urea breath test in the diagnosis of *Helicobacter pylori* infection, a critical review. *Aliment Pharmacol Ther* 2004; 20: 1001-1017.
78. Gisbert JP, Pajares JM. Stool antigen test for the diagnosis of *Helicobacter pylori* infection: a systematic review. *Helicobacter* 2004; 9: 347-368.
79. Ricci C, Holton J, Vaira D. Diagnosis of *Helicobacter pylori*: invasive and non-invasive tests. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2007; 21: 299-313.
80. Chey WD, Wong BC. American College of Gastroenterology guideline on the management of *Helicobacter pylori* infection. *Am J Gastroenterol* 2007; 102: 1808-1825.
81. Luck JM, Seth TN. Gastric Urease. *Biochem J* 1924; 18: 1227-1231.
82. Luck JM. Ammonia Production by Animal Tissues in vitro: The use of Mixed Tissue Extracts. *Biochem J* 1924; 18: 814-824.
83. Leifer E, Roth LJ, Hempelmann LH. Metabolism of C14-labeled Urea. *Science* 1948; 108: 748.
84. Komberg HL, Davis RE, Wood DR. The activity and function of gastric urease in the cat. *Biochem J* 1954; 56: 363-372.
85. Graham DY, Klein PD, Evans DJ, Jr., Evans DG, Alpert LC, Opekun AR, et al. *Campylobacter pylori* detected noninvasively by the ¹³C-urea breath test. *Lancet* 1987; 1: 1174-1177.
86. Dill S, Payne-James JJ, Misiewicz JJ, Grimble GK, McSwiggan D, Pathak K, et al. Evaluation of ¹³C-urea breath test in the detection of *Helicobacter pylori* and in monitoring the effect of tripotassium dicitratobismuthate in non-ulcer dyspepsia. *Gut* 1990; 31: 1237-1241.
87. Bell GD, Powell K, Weil J, Harrison G, Brookes S, Prosser S. ¹³C-urea breath test for *Helicobacter pylori* infection. *Gut* 1991; 32: 551-552.
88. Logan RP, Polson RJ, Misiewicz JJ, Rao G, Karim NQ, Newell D, et al. Simplified single sample ¹³Carbon urea breath test for *Helicobacter pylori*: comparison with histology, culture, and ELISA serology. *Gut* 1991; 32: 1461-1464.
89. Lotterer E, Ramaker J, Ludtke FE, Tegeler R, Geletneký JV, Bauer FE. The simplified ¹³C-urea breath test--one point analysis for detection of *Helicobacter pylori* infection. *Z Gastroenterol* 1991; 29: 590-594.
90. Prosser SJ, Brookes ST, Linton A, Preston T. Rapid, automated analysis of ¹³C and ¹⁸O of CO₂ in gas samples by continuous-flow, isotope ratio mass spectrometry. *Biol Mass Spectrom* 1991; 20: 724-730.
91. Klein PD, Graham DY. Minimum analysis requirements for the detection of *Helicobacter pylori* infection by the ¹³C-urea breath test. *Am J Gastroenterol* 1993; 88: 1865-1869.
92. Blecker U, Vandenplas Y, Lanciers S, Mehta DI. Concordance between serology and ¹³C-urea breath

- test in the diagnosis of *Helicobacter pylori* infection. Am J Gastroenterol 1994; 89: 459.
93. Braden B, Haisch M, Duan LP, Lembcke B, Caspary WF, Hering P. Clinically feasible stable isotope technique at a reasonable price: analysis of ¹³CO₂/¹²CO₂-abundance in breath samples with a new isotope selective-nondispersive infrared spectrometer. Z Gastroenterol 1994; 32: 675-678.
 94. Vandenplas Y, Blecker U, Devreker T, Keppens E, Nijs J, Cadranet S, et al. Contribution of the ¹³C-urea breath test to the detection of *Helicobacter pylori* gastritis in children. Pediatrics 1992; 90: 608-611.
 95. Eggers R, Kulp A, Tegeler R, et al. A methodological analysis of the ¹³C-urea breath test for detection of *Helicobacter pylori* infections: high sensitivity and specificity within 30 min using 75 mg of ¹³C-urea. Eur J Gastroenterol Hepatol 1990; 2: 434-444.
 96. Kato M, Asaka M, Ohara S, Toyota T. Clinical studies of ¹³C-urea breath test in Japan. J Gastroenterol 1998; 33 Suppl 10: 36-39.
 97. Wang WM, Lee SC, Wu DC, Chen LT, Liu CS, Peng CF, et al. Simplified ¹³C-urea breath test for the diagnosis of *Helicobacter pylori* infection--the availability of without fasting and without test meal. Kaohsiung J Med Sci 2000; 16: 607-613.
 98. Klein PD, Malaty HM, Martin RE, Graham KS, Genta RM, Graham DY. Noninvasive detection of *Helicobacter pylori* infection in clinical practice: the ¹³C urea breath test. Am J Gastroenterol 1996; 91: 690-694.
 99. Pantoflickova D, Scott DR, Sachs G, Dorta G, Blum AL. ¹³C urea breath test (UBT) in the diagnosis of *Helicobacter pylori*: why does it work better with acid test meals? Gut 2003; 52: 933-937.
 100. Leodolter A, Dominguez-Munoz JE, Von Arnim U, Malfetheriner P. Citric acid or orange juice for the ¹³C-urea breath test: the impact of pH and gastric emptying. Aliment Pharmacol Ther 1999; 13: 1057-1062.
 101. Malaty HM, el-Zimaity HM, Genta RM, Klein PD, Graham DY. Twenty-minute fasting version of the US ¹³C-urea breath test for the diagnosis of *H. pylori* infection. Helicobacter 1996; 1: 165-167.
 102. Gisbert JP, Vazquez MA, Jimenez I, Cruzado AI, Carpio D, Del Castillo E, et al. ¹³C-urea breath test for the diagnosis of *Helicobacter pylori* infection before treatment: is citric acid necessary? Dig Liver Dis 2000; 32: 20-24.
 103. Wong WM, Wong BC, Wong KW, Fung FM, Lai KC, Hu WH, et al. ¹³C-urea breath test without a test meal is highly accurate for the detection of *Helicobacter pylori* infection in Chinese. Aliment Pharmacol Ther 2000; 14: 1353-1358.
 104. Wong WM, Wong BC, Li TM, Wong KW, Cheung KL, Fung FM, et al. Twenty-minute 50 mg ¹³C-urea breath test without test meal for the diagnosis of *Helicobacter pylori* infection in Chinese. Aliment Pharmacol Ther 2001; 15: 1499-1504.
 105. Ng FH, Lai KC, Wong BC, Wong WM, Wong SY, Chow KC, et al. [¹³C]-urea breath test without prior fasting and without test meal is accurate for the detection of *Helicobacter pylori* infection in Chinese. J Gastroenterol Hepatol 2002; 17: 834-838.
 106. Koletzko S, Haisch M, Seeboth I, Braden B, Hengels K, Koletzko B, et al. Isotope-selective non-dispersive infrared spectrometry for detection of *Helicobacter pylori* infection with ¹³C-urea breath test. Lancet 1995; 345: 961-962.
 107. Yong CS, Kim YI, Park SM, Kwon R, Han HH, Park JG, et al. Trials of novel ¹³C-urea-containing capsule for more economic and sensitive diagnosis of *Helicobacter pylori* infection in human subjects. Arch Pharm Res 2006; 29: 879-883.
 108. Ohara S, Kato M, Saito M, Fukuda S, Kato C, Hamada S, et al. Comparison between a new ¹³C-urea breath test, using a film-coated tablet, and the conventional ¹³C-urea breath test for the detection of *Helicobacter pylori* infection. J Gastroenterol 2004; 39: 621-628.
 109. Levine A, Shevah O, Miloh T, Wine E, Niv Y, Bujanover Y, et al. Validation of a novel real time ¹³C urea breath test for rapid evaluation of *Helicobacter pylori* in children and adolescents. J Pediatr 2004; 145: 112-114.
 110. Mauro M, Radovic V, Wolfe M, Kamath M, Bercik P, Armstrong D. ¹³C urea breath test for (*Helicobacter pylori*): evaluation of 10-minute breath collection. Can J Gastroenterol 2006; 20: 775-778.
 111. Campuzano-Maya G, Hoyos-Castaño D, Calvo-Bentancur VD, Suárez-Ramírez OA, Lizcano-Cardona D, Rojas-Arbeláez CA. Prevalencia de la infección por *Helicobacter pylori* en médicos de Medellín, Colombia. Acta Gastroenterol Latinoam 2007; 37: 99-103.
 112. Saad RJ, Chey WD. Breath tests for gastrointestinal disease: the real deal or just a lot of hot air? Gastroenterology 2007; 133: 1763-1766.
 113. Granstrom M, Lehours P, Bengtsson C, Megraud F. Diagnosis of *Helicobacter pylori*. Helicobacter 2008; 13 Suppl 1: 7-12.
 114. Lim S, kim D, Jeon H, Sohn M. Comparison of the quantitative values of C-14 and C-13 to reflect the presence and degree of ongoing *Helicobacter pylori* infection. Nucl Med Mol Imaging 2008; 42: 229-234.
 115. Japan. Patent No. 4988857, 11 may 2012. Campuzano-Maya, G.A.: A method based on a breath test for the detection of pathogen microorganisms.
 116. República de Colombia, Superintendencia de Industria y Comercio. Resolución No. 30189. Por la cual se otorga una patente de invención: "Kit para prueba de aliento que detecta ureasa producida por *Helicobacter pylori*". Bogotá, Colombia 15 de mayo de 2012.
 117. Ferrero RL, Hazell SL, Lee A. The urease enzymes of *Campylobacter pylori* and a related bacterium. J Med Microbiol 1988; 27: 33-40.
 118. el Nujumi AM, Dorrián CA, Chittajallu RS, Neithercut WD, McColl KE. Effect of inhibition of *Helicobacter pylori* urease activity by acetohydroxamic

- acid on serum gastrin in duodenal ulcer subjects. *Gut* 1991; 32: 866-870.
119. Logan RP. Urea breath tests in the management of *Helicobacter pylori* infection. *Gut* 1998;43 Suppl 1: S47-50.
 120. Moayyedi P, Axon ATR. Validation of non-fasting ¹³C-urea breath test to diagnose *Helicobacter pylori* infection. *Gut* 1995;37 (Suppl. 1): A12.
 121. Buckley M, Hamilton H, Beattie S, et als. A simplified, reliable urea breath test. *Gut* 1995; 37: A61.
 122. Savarino V, Vigneri S, Celle G. The ¹³C urea breath test in the diagnosis of *Helicobacter pylori* infection. *Gut* 1999; 45 Suppl 1: I18-22.
 123. Laine L, Estrada R, Trujillo M, Knigge K, Fennerty MB. Effect of proton-pump inhibitor therapy on diagnostic testing for *Helicobacter pylori*. *Ann Intern Med* 1998; 129: 547-550.
 124. Adachi K, Fujishiro H, Mihara T, Komazawa Y, Kinoshita Y. Influence of lansoprazole, famotidine, roxatidine and rebamipide administration on the urea breath test for the diagnosis of *Helicobacter pylori* infection. *J Gastroenterol Hepatol* 2003; 18: 168-171.
 125. Savarino V, Tracci D, Dulbecco P, Mele MR, Zentilin P, Mansi C, et al. Negative effect of ranitidine on the results of urea breath test for the diagnosis of *Helicobacter pylori*. *Am J Gastroenterol* 2001; 96: 348-352.
 126. Graham DY, Opekun AR, Hammoud F, Yamaoka Y, Reddy R, Osato MS, et al. Studies regarding the mechanism of false negative urea breath tests with proton pump inhibitors. *Am J Gastroenterol* 2003; 98: 1005-1009.
 127. Velayos B, Fernandez-Salazar L, Pons-Renedo F, Munoz ME, Almaraz A, Aller R, et al. Accuracy of urea breath test performed immediately after emergency endoscopy in peptic ulcer bleeding. *Dig Dis Sci* 2012; 57: 1880-1886.
 128. Colaiocco Ferrante L, Papponetti M, Marcuccitti J, Neri M, Festi D. ¹³C-urea breath test for helicobacter pylori infection: stability of samples over time. *Scand J Gastroenterol* 1999; 34: 942-943.
 129. Craig H. Isotopic standards for carbon and oxygen and correction factors for mass-spectrometric analysis of carbon dioxide. *Geochim Cosmochin Acta* 1957; 12: 133-149.
 130. Domínguez-Muñoz JE, Leodolter A, Sauerbruch T, Malfertheiner P. A citric acid solution is an optimal test drink in the ¹³C-urea breath test for the diagnosis of *Helicobacter pylori* infection. *Gut* 1997; 40: 459-462.
 131. Savarino V, Mela GS, Zentilin P, Bisso G, Pivari M, Mansi C, et al. Comparison of isotope ratio mass spectrometry and nondispersive isotope-selective infrared spectroscopy for ¹³C-urea breath test. *Am J Gastroenterol* 1999; 94: 1203-1208.
 132. Gatta L, Vakil N, Ricci C, Osborn JE, Tampieri A, Perna F, et al. A rapid, low-dose, ¹³C-urea tablet for the detection of *Helicobacter pylori* infection before and after treatment. *Aliment Pharmacol Ther* 2003; 17: 793-798.
 133. Wong WM, Lam SK, Lai KC, Chu KM, Xia HH, Wong KW, et al. A rapid-release 50-mg tablet-based ¹³C-urea breath test for the diagnosis of *Helicobacter pylori* infection. *Aliment Pharmacol Ther* 2003; 17: 253-257.
 134. Urita Y, Hike K, Torii N, Kikuchi Y, Kanda E, Kurakata H, et al. Breath sample collection through the nostril reduces false-positive results of ¹³C-urea breath test for the diagnosis of *Helicobacter pylori* infection. *Dig Liver Dis* 2004; 36: 661-665.
 135. Peng NJ, Lai KH, Liu RS, Lee SC, Tsay DG, Lo CC, et al. Capsule ¹³C-urea breath test for the diagnosis of *Helicobacter pylori* infection. *World J Gastroenterol* 2005; 11: 1361-1364.
 136. Gatta L, Ricci C, Tampieri A, Osborn J, Perna F, Bernabucci V, et al. Accuracy of breath tests using low doses of ¹³C-urea to diagnose *Helicobacter pylori* infection: a randomised controlled trial. *Gut* 2006; 55: 457-462.
 137. Current European concepts in the management of *Helicobacter pylori* infection. The Maastricht Consensus Report. European *Helicobacter Pylori* Study Group. *Gut* 1997; 41: 8-13.
 138. Malfertheiner P, Mégraud F, O'Morain C, Hungin AP, Jones R, Axon A, et al. Current concepts in the management of *Helicobacter pylori* infection--the Maastricht 2-2000 Consensus Report. *Aliment Pharmacol Ther* 2002; 16: 167-180.
 139. Malfertheiner P, Megraud F, O'Morain C, Bazzoli F, El-Omar E, Graham D, et al. Current concepts in the management of *Helicobacter pylori* infection: the Maastricht III Consensus Report. *Gut* 2007; 56: 772-781.
 140. Malfertheiner P, Megraud F, O'Morain CA, Atherton J, Axon AT, Bazzoli F, et al. Management of *Helicobacter pylori* infection--the Maastricht IV/ Florence Consensus Report. *Gut* 2012; 61: 646-664.
 141. Coelho LG, Leon-Barua R, Quigley EM. Latin-American Consensus Conference on *Helicobacter pylori* infection. Latin-American National Gastroenterological Societies affiliated with the Inter-American Association of Gastroenterology (AIGE). *Am J Gastroenterol* 2000; 95: 2688-2691.
 142. Lam SK, Talley NJ. Report of the 1997 Asia Pacific Consensus Conference on the management of *Helicobacter pylori* infection. *J Gastroenterol Hepatol* 1998; 13: 1-12.
 143. Fock KM, Katelaris P, Sugano K, Ang TL, Hunt R, Talley NJ, et al. Second Asia-Pacific Consensus Guidelines for *Helicobacter pylori* infection. *J Gastroenterol Hepatol* 2009; 24: 1587-1600.
 144. Asaka M, Kato M, Takahashi S, Fukuda Y, Sugiyama T, Ota H, et al. Guidelines for the management of *Helicobacter pylori* infection in Japan: 2009 revised edition. *Helicobacter* 2010; 15: 1-20.
 145. Talley NJ, Silverstein MD, Agreus L, Nyren O, Sonnenberg A, Holtmann G. AGA technical review: evaluation of dyspepsia. *American Gastroenterological Association. Gastroenterology* 1998; 114: 582-595.

146. Zagari RM, Fuccio L, Bazzoli F. Investigating dyspepsia. *BMJ* 2008; 337: a 1400.
147. Campuzano-Maya G. Diagnóstico no-invasivo de *Helicobacter pylori*: íserología, prueba de aliento con ¹³C-urea o antígenos de *Helicobacter pylori* en materia fecal? *Medicina & Laboratorio* 2007; 13: 211-231.
148. De Korwin JD. Avantages et inconvénients des différentes méthodes diagnostiques de l'infection à *H. pylori*. *Gastroenterol Clin Biol* 2003; 27: 380-390.
149. Pathak CM, Bhasin DK, Khanduja KL. Urea breath test for *Helicobacter pylori* detection: present status. *Trop Gastroenterol* 2004; 25: 156-161.
150. Stolte M, Kroher G, Meining A, Morgner A, Bayerdorffer E, Bethke B. A comparison of *Helicobacter pylori* and *H. heilmannii* gastritis. A matched control study involving 404 patients. *Scand J Gastroenterol* 1997; 32: 28-33.
151. Okiyama Y, Matsuzawa K, Hidaka E, Sano K, Akamatsu T, Ota H. *Helicobacter heilmannii* infection: clinical, endoscopic and histopathological features in Japanese patients. *Pathol Int* 2005; 55: 398-404.
152. Michaud L, Ategbro S, Gottrand F, Vincent P, Martin de Lasalle E, Turck D. Nodular gastritis associated with *Helicobacter heilmannii* infection. *Lancet* 1995; 346: 1499.
153. Borriello SP, Reed PJ, Dolby JM, Barclay FE, Webster AD. Microbial and metabolic profile of achlorhydric stomach: comparison of pernicious anaemia and hypogammaglobulinaemia. *J Clin Pathol* 1985; 38: 946-953.
154. Osaki T, Mabe K, Hanawa T, Kamiya S. Urease-positive bacteria in the stomach induce a false-positive reaction in a urea breath test for diagnosis of *Helicobacter pylori* infection. *J Med Microbiol* 2008; 57: 814-819.
155. Peeters M. Urea breath test: a diagnostic tool in the management of *Helicobacter pylori*-related gastrointestinal diseases. *Acta Gastroenterol Belg* 1998; 61: 332-335.
156. Schilling D, Jakobs R, Peitz U, Sulliga M, Stolte M, Riemann J, et al. Diagnostic accuracy of (¹³C)-urea breath test in the diagnosis of *Helicobacter pylori* infection in patients with partial gastric resection due to peptic ulcer disease: a prospective multicenter study. *Digestion* 2001; 63: 8-13.
157. Urita Y, Maeda T, Ishihara S, Sugimoto M, Watanabe T, Domon K, et al. Endoscopic ¹³C-urea breath test for detection of *Helicobacter pylori* infection after partial gastrectomy. *Hepatogastroenterology* 2007; 54: 1891-1894.



Piquero de patas azules, *Sula nebouxii*
Islas Galápagos, Ecuador
Alejandro Campuzano Zuluaga