

## Las pruebas de aliento con isótopos marcados con carbono 13: una nueva herramienta de diagnóstico, costo-eficiente y con seguridad para el paciente

Breath tests isotopically labeled with carbon 13:  
a new diagnostic tool, cost-efficient and safe to patient

A la mayoría de las personas a las que se les menciona una prueba de aliento inmediatamente les viene a la mente la visión de un policía de tránsito en medio de un retén, comprobando con un instrumento si el conductor de un vehículo ha consumido bebidas alcohólicas. El conductor sospechoso debe soplar en un pequeño dispositivo manual que, al cabo de unos segundos, indica la cantidad de etanol que está circulando en su sangre. Esta visión es real pero sólo es una de las múltiples aplicaciones de las pruebas de aliento. El aliento, como objeto de análisis, similar a la sangre o la orina, no es nuevo: desde los tiempos de Hipócrates, los médicos han sabido que el aroma de la respiración humana puede proporcionar pistas para el diagnóstico de múltiples enfermedades. El buen clínico conoce el olor dulce y afrutado de la acetona en el aliento de pacientes con diabetes mellitus no controlada, el olor a humedad y a pescado en pacientes con enfermedad hepática avanzada, el olor a orina fermentada característico de las enfermedades renales terminales y, el hedor pútrido de un absceso pulmonar. La diferencia de aquellos médicos y los de hoy es el instrumento que tienen para leer el aliento: el olfato, finamente entrenado, en los primeros y los instrumentos, de alta tecnología y excelente desempeño analítico, en los segundos.

En relación con la incorporación de las pruebas basadas en muestras de aliento al laboratorio clínico convencional es un paso que se da adelante, que más temprano que tarde harán parte de la rutina de estos, como ya está aconteciendo en los laboratorios clínicos innovadores. Así como la hematología, por ejemplo, desde el hemograma, se fundamenta en el análisis de los componentes celulares de la sangre, los eritrocitos, los leucocitos y las plaquetas, en estado de normalidad o de enfermedad, a partir de muestras de sangre venosa, y la química sanguínea se fundamenta en la determinación de los componentes químicos presentes, en estado de normalidad o de enfermedad, en el suero sanguíneo u otros fluidos orgánicos, como el líquido cefalorraquídeo o la saliva, las pruebas de aliento se fundamentan en la identificación de componentes químicos presentes, en estado de normalidad o de enfermedad, en muestras de aire (aliento) procedente de los alveolos pulmonares.

Lo poco que se avanzó en el conocimiento de los componentes del aliento y la manera de estudiarlos por muchos años permanecieron en el ámbito de la investigación básica hasta 1987, cuando Graham y colaboradores describieron la primera prueba de aliento con isótopos naturales ( $^{13}\text{C}$ ) para el diagnóstico y manejo de *Helicobacter pylori* [1], descubierto cuatro años antes por Warren y Marshall como la causa de la gastritis y las enfermedades con ella asociadas, incluidas las úlceras pépticas y el cáncer gástrico [2]. Con la prueba de aliento con urea marcada con  $^{13}\text{C}$  se ha avanzado tanto que ha llegado a convertirse en el «estándar de referencia» de las pruebas no

invasivas en el diagnóstico y manejo de la infección por *Helicobacter pylori* [3-5], con más de un centenar de variaciones de la prueba original [1]. Con la incorporación al laboratorio clínico de las pruebas de aliento con sustratos marcados con  $^{13}\text{C}$ , además del estudio de la infección por *Helicobacter pylori* [3-5], se ponen a disposición de la salud nuevas herramientas de diagnóstico en múltiples áreas como el estudio de las enfermedades del páncreas [6-9], las alteraciones del funcionamiento del estómago y el vaciamiento gástrico (gastroparesia) [10, 11], el tiempo de tránsito orocecal [12], el sobrecrecimiento bacteriano (SIBO) [13], las enfermedades metabólicas como la intolerancia a la lactosa [14] y la intolerancia a la sucrosa [15], y las enfermedades endocrinas como la diabetes [16] y la resistencia a la insulina [17]. Además, se espera con los próximos años que no solo aumente su demanda, sino que se disponga de más sustratos marcados con  $^{13}\text{C}$  con nuevas indicaciones [18-20], como podría ser el diagnóstico y seguimiento de la tuberculosis [21-23], utilizando  $^{13}\text{C}$ -urea como trazador, ya que el bacilo de Koch es productor de ureasa [24, 25].

La utilización de pruebas de aliento con sustratos marcados con  $^{13}\text{C}$  representa uno de los avances en el laboratorio clínico más prometedores en el campo de la hepatología. Para que una prueba de diagnóstico, incluidas las del laboratorio clínico, las histológicas y las radiológicas, sea de utilidad clínica, su desempeño analítico debe alcanzar indicadores de precisión y exactitud ideales, eso es, lo más cercano al 100%, cuando se utiliza en las diferentes etapas para las cuales se ha diseñado. En el caso de las enfermedades hepáticas, ninguna de las pruebas, hasta el momento disponibles, logra este objetivo [26-30] e incluso están lejos de alcanzarlo, aun cuando son críticas en el diagnóstico y manejo de estas enfermedades [31].

Desde el punto de vista clínico, las pruebas de aliento basadas en sustratos marcados con  $^{13}\text{C}$ , como la prueba de aliento con  $^{13}\text{C}$ -metacetina analizada en este módulo y todas las demás susceptibles de ser ofertadas en el futuro cercano, abren al clínico una nueva oportunidad de estudiar y seguir a los pacientes con enfermedades hepáticas. Las pruebas de aliento tienen aplicación prácticamente en todas las etapas de las enfermedades del hígado: en el seguimiento y pronóstico de la enfermedad hepática fulminante para predecir la evolución y sobre todo para determinar la necesidad y el momento de un trasplante hepático, en el seguimiento del paciente con enfermedad hepática como una herramienta para seguir paso a paso su evolución y la necesidad de un trasplante hepático, como una medida indirecta del grado de fibrosis hepática, para el seguimiento de las hepatitis virales, en particular las hepatitis por el virus B [32-34] y la hepatitis por el virus C [35-42], para el seguimiento de los pacientes con hígado graso de origen alcohólico [43] o no alcohólico [44-46] y para evaluar la reserva hepática en pacientes con hepatopatías colestásicas [47, 48], entre otras, para evaluar los tratamientos en los pacientes con enfermedades del hígado [49], para evaluar la reserva hepática antes de hepatectomía o de un trasplante hepático [50], en los pacientes sometidos a quimioterapia [49] y quimioembolizaciones [49] y, una indicación muy importante, en el seguimiento a corto, mediano y largo plazo de los pacientes sometidos a trasplante hepático [50], ya que es la prueba más sensible para determinar el éxito o rechazo del procedimiento [51, 52]. Finalmente, y algo que en el futuro será una realidad, es su aplicación en el estudio de la función hepática en población aparentemente «normal» o con pruebas clásicas de función hepática dentro de los límites de referencia [49].

Con la incorporación de las pruebas de aliento con sustratos marcados con  $^{13}\text{C}$  se añaden herramientas de diagnóstico con características muy valiosas que, además de ser costo-efectivas, tienen indicadores analíticos excelentes, con sensibilidad y especificidad por encima del 95% en relación con las pruebas que sustituyen o complementan, utilizando tecnología limpia e inocua para el paciente y el medio ambiente. Incluir este tipo de pruebas al diario que hacer médico es ir en la dirección correcta, teniendo en cuenta que aplicar la medicina centrada en el paciente, como claramente lo recomienda la Organización Mundial de la Salud [53], requiere inminentemente de la optimización y la racionalización [54] en medio de un mundo de inequidad y recursos limitados [55].



**Germán Campuzano Maya. MD**  
Director-Editor  
Medicina & Laboratorio  
Medellín, Colombia, octubre 2015

## Bibliografía

- Graham DY, Klein PD, Evans DJ, Jr., Evans DG, Alpert LC, Opekun AR, et al. *Campylobacter pylori* detected noninvasively by the  $^{13}\text{C}$ -urea breath test. *Lancet* 1987; 1: 1174-1177.
- Warren J, Marshall B. Unidentified curved bacilli on gastric epithelium in active chronic gastritis. *Lancet* 1983; 1273-1275.
- Gisbert JP, Pajares JM. Review article:  $^{13}\text{C}$ -urea breath test in the diagnosis of *Helicobacter pylori* infection -- a critical review. *Aliment Pharmacol Ther* 2004; 20: 1001-1017.
- Campuzano-Maya G. An optimized  $^{13}\text{C}$ -urea breath test for the diagnosis of H pylori infection. *World J Gastroenterol* 2007; 13: 5454-5464.
- Malferteiner 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.
- Hiele M, Ghooys Y, Rutgeerts P, Vantrappen G. Starch digestion in normal subjects and patients with pancreatic disease, using a  $^{13}\text{C}$ CO<sub>2</sub> breath test. *Gastroenterology* 1989; 96: 503-509.
- Herzog DC, Delvin EE, Albert C, Marcotte JE, Pelletier VA, Seidman EG.  $^{13}\text{C}$ -labeled mixed triglyceride breath test ( $^{13}\text{C}$  MTG-BT) in healthy children and children with cystic fibrosis (CF) under pancreatic enzyme replacement therapy (PERT): a pilot study. *Clin Biochem* 2008; 41: 1489-1492.
- Nakamura H, Morifuji M, Murakami Y, Uemura K, Ohge H, Hayashidani Y, et al. Usefulness of a  $^{13}\text{C}$ -labeled mixed triglyceride breath test for assessing pancreatic exocrine function after pancreatic surgery. *Surgery* 2009; 145: 168-175.
- Hirono S, Murakami Y, Tani M, Kawai M, Okada K, Uemura K, et al. Identification of risk factors for pancreatic exocrine insufficiency after pancreaticoduodenectomy using a  $^{13}\text{C}$ -labeled mixed triglyceride breath test. *World J Surg* 2015; 39: 516-525.
- Hauser B, De Schepper J, Cavelliers V, Salvatore S, Salvatori A, Vandenplas Y. Variability of the  $^{13}\text{C}$ -acetate breath test for gastric emptying of liquids in healthy children. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2006; 42: 392-397.
- Hauser B, De Schepper J, Cavelliers V, Salvatore S, Salvatori A, Vandenplas Y. Variability of the  $^{13}\text{C}$ -octanoic acid breath test for gastric emptying of solids in healthy children. *Aliment Pharmacol Ther* 2006; 23: 1315-1319.
- Wutzke KD, Heine WE, Plath C, Leitzmann P, Radke M, Mohr C, et al. Evaluation of oro-coecal transit time: a comparison of the lactose- $^{13}\text{C}$ ,  $^{15}\text{N}$ ureide  $^{13}\text{CO}_2$ - and the lactulose H<sub>2</sub>-breath test in humans. *Eur J Clin Nutr* 1997; 51: 11-19.
- Dellert SF, Nowicki MJ, Farrell MK, Delente J, Heubi JE. The  $^{13}\text{C}$ -xylose breath test for the diagnosis of small bowel bacterial overgrowth in children. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1997; 25: 153-158.
- Hiele M, Ghooys Y, Rutgeerts P, Vantrappen G, Carchon H, Eggermont E.  $^{13}\text{C}$ CO<sub>2</sub> breath test using naturally  $^{13}\text{C}$ -enriched lactose for detection of lactase deficiency in patients with gastrointestinal symptoms. *J Lab Clin Med* 1988; 112: 193-200.
- Ritchie BK, Brewster DR, Davidson GP, Tran CD, McNeil Y, Hawkes JS, et al.  $^{13}\text{C}$ -sucrose breath test: novel use of a noninvasive biomarker of environmental gut health. *Pediatrics* 2009; 124: 620-626.
- Dillon EL, Janghorbani M, Angel JA, Casperson SL, Grady JJ, Urban RJ, et al. Novel noninvasive breath test method for screening individuals at risk for diabetes. *Diabetes Care* 2009; 32: 430-435.
- Mizrahi M, Lalazar G, Adar T, Raz I, Ilan Y. Assessment of insulin resistance by a  $^{13}\text{C}$ -glucose breath test: a new tool for early diagnosis and follow-up of high-risk patients. *Nutr J* 2010; 9: 25.
- Klein PD.  $^{13}\text{C}$  breath tests: visions and realities. *J Nutr* 2001; 131: 1637S-1642S.
- Ghooys Y, Geypens B, Rutgeerts P. Stable isotopes and  $^{13}\text{CO}_2$  breath tests for investigating gastrointestinal functions. *Food Nutr Bull* 2002; 23: 166-168.
- Cao W, Duan Y. Breath analysis: potential for clinical diagnosis

and exposure assessment. *Clinical chemistry* 2006; 52: 800-811.

21. Jassal MS, Nedelchev GG, Lee JH, Choi SW, Atudorei V, Sharp ZD, et al. <sup>13</sup>C-urea breath test as a novel point-of-care biomarker for tuberculosis treatment and diagnosis. *PLoS One* 2010; 5: e12451.

22. Maiga M, Abaza A, Bishai WR. Current tuberculosis diagnostic tools & role of urease breath test. *Indian J Med Res* 2012; 135: 731-736.

23. Beste DJ, Noh K, Niedenfuhr S, Mendum TA, Hawkins ND, Ward JL, et al. <sup>13</sup>C-flux spectral analysis of host-pathogen metabolism reveals a mixed diet for intracellular *Mycobacterium tuberculosis*. *Chem Biol* 2013; 20: 1012-1021.

24. Clemens DL, Lee BY, Horwitz MA. Purification, characterization, and genetic analysis of *Mycobacterium tuberculosis* urease, a potentially critical determinant of host-pathogen interaction. *J Bacteriol* 1995; 177: 5644-5652.

25. Lin W, Mathys V, Ang EL, Koh VH, Martinez Gomez JM, Ang ML, et al. Urease activity represents an alternative pathway for *Mycobacterium tuberculosis* nitrogen metabolism. *Infect Immun* 2012; 80: 2771-2779.

26. Johnson PJ. Role of the standard 'liver function tests' in current clinical practice. *Ann Clin Biochem* 1989; 26 ( Pt 6): 463-471.

27. Shaheen AA, Wan AF, Myers RP. FibroTest and FibroScan for the prediction of hepatitis C-related fibrosis: a systematic review of diagnostic test accuracy. *Am J Gastroenterol* 2007; 102: 2589-2600.

28. Fernández-Daza E, Fernández JE, Moreno-Mejía I, Moreno-Mejía M. Aproximación al diagnóstico de enfermedades hepáticas por el laboratorio clínico. *Medicina & Laboratorio* 2008; 14: 533-546.

29. Smith JO, Sterling RK. Systematic review: non-invasive methods of fibrosis analysis in chronic hepatitis C. *Alimentary pharmacology & therapeutics* 2009; 30: 557-576.

30. Pais R, Lupsor M, Poanta L, Silaghi A, Rusu ML, Badea R, et al. Liver biopsy versus noninvasive methods—fibroscan and fibrotest in the diagnosis of non-alcoholic fatty liver disease: a review of the literature. *Rom J Intern Med* 2009; 47: 331-340.

31. Tytgstrup N. Assessment of liver function: principles and practice. *J Gastroenterol Hepatol* 1990; 5: 468-482.

32. Park GJ, Katelaris PH, Jones DB, Seow F, Le Couteur DG, Ngu MC. Validity of the <sup>13</sup>C-caffeine breath test as a noninvasive, quantitative test of liver function. *Hepatology* 2003; 38: 1227-1236.

33. Park GJ, Katelaris PH, Jones DB, Seow F, Lin BP, Le Couteur DG, et al. The C-caffeine breath test distinguishes significant fibrosis in chronic hepatitis B and reflects response to lamivudine therapy. *Aliment Pharmacol Ther* 2005; 22: 395-403.

34. Zhang GS, Bao ZJ, Zou J, Yin SM, Huang YQ, Huang H, et al. Clinical research on liver reserve function by <sup>13</sup>C-phenylalanine breath test in aged patients with chronic liver diseases. *BMC Geriatr* 2010; 10: 23.

35. Mion F, Rousseau M, Scoazec JY, Berger F, Minaire Y. <sup>13</sup>C-galactose breath test: correlation with liver fibrosis in chronic hepatitis C. *Eur J Clin Invest* 1999; 29: 624-629.

36. Giannini E, Fasoli A, Chiarbonello B, Malfatti F, Romagnoli P, Botta F, et al. <sup>13</sup>C-aminopyrine breath test to evaluate severity of disease in patients with chronic hepatitis C virus infection. *Aliment Pharmacol Ther* 2002; 16: 717-725.

37. Braden B, Faust D, Sarrazin U, Zeuzem S, Dietrich CF, Caspary WF, et al. <sup>13</sup>C-methacetin breath test as liver function test in patients with chronic hepatitis C virus infection. *Aliment Pharmacol Ther* 2005; 21: 179-185.

38. Schneider AR, Teuber G, Paul K, Nikodem A, Duesterhoeft M, Caspary WF, et al. Patient age is a strong independent predictor of <sup>13</sup>C-aminopyrine breath test results: a comparative study with histology, duplex-Doppler and a laboratory index in patients with

chronic hepatitis C virus infection. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 2006; 33: 300-304.

39. Goetze O, Selzner N, Fruehau H, Fried M, Gerlach T, Mulla-haupt B. <sup>13</sup>C-methacetin breath test as a quantitative liver function test in patients with chronic hepatitis C infection: continuous automatic molecular correlation spectroscopy compared to isotopic ratio mass spectrometry. *Aliment Pharmacol Ther* 2007; 26: 305-311.

40. Dinesen L, Caspary WF, Chapman RW, Dietrich CF, Sarrazin C, Braden B. <sup>13</sup>C-methacetin-breath test compared to also noninvasive biochemical blood tests in predicting hepatic fibrosis and cirrhosis in chronic hepatitis C. *Dig Liver Dis* 2008; 40: 743-748.

41. Rocco A, de Nucci G, Valente G, Compare D, D'Arienzo A, Cimino L, et al. <sup>13</sup>C-aminopyrine breath test accurately predicts long-term outcome of chronic hepatitis C. *J Hepatol* 2012; 56: 782-787.

42. Fierbinteanu-Braticevici C, Papacocea R, Tribus L, Cristian B. The role of <sup>13</sup>C-methacetin breath test for non invasive staging of liver fibrosis in patients with chronic hepatitis C. *Indian J Med Res* 2014; 140: 123-129.

43. Spahr L, Negro F, Leandro G, Marinescu O, Goodman KJ, Rubbia-Brandt L, et al. Impaired hepatic mitochondrial oxidation using the <sup>13</sup>C-methionine breath test in patients with macrovesicular steatosis and patients with cirrhosis. *Med Sci Monit* 2003; 9: CR6-11.

44. Miele L, Grieco A, Armuzzi A, Candelli M, Forgione A, Gasbarrini A, et al. Hepatic mitochondrial beta-oxidation in patients with nonalcoholic steatohepatitis assessed by <sup>13</sup>C-octanoate breath test. *Am J Gastroenterol* 2003; 98: 2335-2336.

45. Schmilovitz-Weiss H, Niv Y, Pappo O, Halpern M, Sulkes J, Braun M, et al. The <sup>13</sup>C-caffeine breath test detects significant fibrosis in patients with nonalcoholic steatohepatitis. *J Clin Gastroenterol* 2008; 42: 408-412.

46. Mawatari H, Inamori M, Fujita K, Yoneda M, Iida H, Endo H, et al. The continuous real-time <sup>13</sup>C-octanoate breath test for patients with nonalcoholic steatohepatitis using the BreathID system. *Hepato-gastroenterology* 2009; 56: 1436-1438.

47. Duro D, Fitzgibbons S, Valim C, Yang CF, Zurakowski D, Dolan M, et al. <sup>13</sup>C-Methionine breath test to assess intestinal failure-associated liver disease. *Pediatr Res* 2010; 68: 349-354.

48. Shteyer E, Lalazar G, Hemed N, Pappo O, Granot E, Yerushalmi B, et al. Continuous <sup>13</sup>C-methacetin breath test differentiates biliary atresia from other causes of neonatal cholestasis. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2013; 56: 60-65.

49. Ilan Y. Review article: the assessment of liver function using breath tests. *Aliment Pharmacol Ther* 2007; 26: 1293-1302.

50. Petrolati A, Festi D, De Berardinis G, Colaiocco-Ferrante L, Di Paolo D, Tisone G, et al. <sup>13</sup>C-methacetin breath test for monitoring hepatic function in cirrhotic patients before and after liver transplantation. *Aliment Pharmacol Ther* 2003; 18: 785-790.

51. Ishii Y, Asai S, Kohno T, Takahashi Y, Nagata T, Suzuki S, et al. Evaluation of liver regeneration using the L-<sup>13</sup>C-methionine breath test. *J Surg Res* 2001; 95: 195-199.

52. Ishii Y, Asai S, Kohno T, Ito A, Iwai S, Ishikawa K. Recovery of liver function in two-third partial hepatectomized rats evaluated by L-<sup>13</sup>C-phenylalanine breath test. *Surgery* 2002; 132: 849-856.

53. Eisenberg JM. The Agency for Healthcare Research and Quality: new challenges, new opportunities. *Health services research* 2000;35:xi-xvi.

54. Plebani M, Lippi G. Improving diagnosis and reducing diagnostic errors: the next frontier of laboratory medicine. *Clin Chem Lab Med* 2016; 54: 1117-1118.

55. Lippi G, Plebani M. Improving accuracy of diagnostic studies in a world of limited resources: a road ahead. *Ann Transl Med* 2016; 4: 43.