

Doctora

Alix Carmenza Céspedes de Vergel

Jefe de División de Nuevas Creaciones

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO -SIC-

E.

S.

D.

2450 N
SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 06-128821- -00015-0000

Fecha: 2010-10-29 12:59:54 Dep. 2020 DIR NUEVASCR
Tra. 2 PATENTES Eve: 1 REGDEPOSITO
Act. 444 RESPUESTAREQUE Folios: 84

Referencia: Solicitud de patente de invención No. 06-128821

Solicitante: GERMAN ANTONIO CAMPUZANO MAYA

Título de la invención: UN METODO MEDIANTE UNA PRUEBA
DE ALIENTO PARA LA DETECCION DE MICROORGANISMOS PATOGENOS

RESPUESTA AL OFICIO NO. 12504 NOTIFICADO POR FIJACION EN LISTA NO.328

DE FECHA 23 DE SEPTIEMBRE DE 2010

CLAUDIA DEL PILAR MONTOYA ARIAS, mayor de edad y vecina de Bogotá D.C., identificada tal como aparece al pie de mi firma, en mi carácter de apoderada del Solicitante, presento respuesta al Oficio No. 12504 dentro del término legal.

El Solicitante menciona que esta respuesta al Oficio No. 12504 en parte contiene lo presentado por el Solicitante en entrevista que se sostuvo con el Examinador en las instalaciones de la Superintendencia de Industria y Comercio, el día 27 de Octubre de 2010 a las 10 AM.

Esta respuesta sigue la numeración que el Examinador dio al Oficio 12504.

2762
261

OBSERVACION CON RELACION AL PUNTO:

2. OBJETO DE LA INVENCION

El Examinador, con respecto a la solución del problema técnico planteado, escribe: "Solución: un kit para realizar la prueba de aliento, para la detección de microorganismos patógenos, que no requiere soluciones de ácido cítrico y elimina la presencia de urea residual en la cavidad oral".

El Solicitante respetuosamente menciona dicha solución esta incompleta y que se debe extender como sigue:

Solución: un kit para realizar la prueba de aliento, para la detección de microorganismos patógenos, que no requiere soluciones de ácido cítrico y elimina la presencia de urea residual en la cavidad oral (eliminando así los falsos positivos para obtener una sensibilidad del 100%), al mismo tiempo que no se detectan falsos negativos para obtener también una especificidad del 100%.

OBSERVACIONES CON RELACION A LOS PUNTOS:

3. DE LA SOLICITUD DE PATENTE

3.1 Descripción (artículo 28 D. 486)

El Examinador escribe: "Por lo presentado en la tabla (I), se asume que el protocolo (I), es el del kit solicitado y el (II) el kit del estado de la técnica".

277 3
262

El Solicitante respetuosamente indica que el protocolo (I) corresponde a los pasos del método que se describe en la descripción de la solicitud en la sección titulada "DESCRIPCION DETALLADA DE LA INVENCION", párrafo 00011. EL Solicitante tiene claro que dicho método no fue reivindicado, pero si se reivindicó el kit que corresponde a dicho método.

3.2 Reivindicaciones (artículo 30 D 486)

El Examinador escribe: "La reivindicación 13, está caracterizada por el microorganismo *Helicobacter pylori*, el cual no hace parte de dicho kit".

EL Solicitante respetuosamente indica que el Examinador se está refiriendo a la reivindicación 13 de la traducción del documento de prioridad, que corresponde a la reivindicación 8 del documento de solicitud radicado en Colombia. EL Solicitante comenta que la reivindicación 8 del documento de solicitud radicado depende de la reivindicación 5 que depende de la reivindicación 1. Por lo tanto la reivindicación 8 entra a hacer parte de la reivindicación 1 que si contiene un kit, en donde la reivindicación 8 define la materia (el kit) de la reivindicación 1 al definir un detalle adicional cualitativo de dicha materia o kit, en donde el detalle adicional cualitativo se refiere a la intención de uso de dicho kit.

OBSERVACIONES EN RELACION AL PUNTO:

4. EXCEPCION A LA PATENTABILIDAD (artículo 20 D486 literal d)

El Examinador escribe: "Las reivindicaciones 1-5, no son patentables de acuerdo al presente artículo".

278 4
263

El Solicitante respetuosamente indica que el Examinador se refiere a las reivindicaciones 1-5 de la traducción del documento de prioridad en donde dichas reivindicaciones no se incluyeron en las reivindicaciones de la solicitud de patente radicada en Colombia. La solicitud de patente radicada en Colombia contiene solo las reivindicaciones 1 - 8, en donde las reivindicaciones 1 - 8 de la solicitud de patente radicada en Colombia corresponden a las reivindicaciones 6 - 13 del documento de prioridad.

OBSERVACIONES EN RELACION AL PUNTO:

5. ANALISIS DE LA OPOSICION: (articulo 43 D 486)

EL Examinador, con respecto al argumento de la oposición alega que el kit de la solicitud carece de novedad y nivel inventivo, concluye: "Esta oficina considera que el kit de la solicitud, es nuevo frente al patentado, porque incluye un recipiente con agua. No obstante no tiene nivel inventivo frente al ya divulgado, porque no se evidencia un efecto sorprendente logrado por esa diferencia. Por lo anterior se declara fundada la oposición".

En adición, El Examinador hace énfasis: ". . . el kit reclamado es diferente del divulgado, en que el primero contiene un recipiente con agua, por lo tanto se considera nuevo".

El Solicitante está de acuerdo con el Examinador con respecto a que el kit reivindicado tiene novedad. Sin embargo el Solicitante respetuosamente está en desacuerdo, en relación al nivel inventivo del kit, con la conclusión del Examinador. En esta respuesta el

279 5
264

Solicitante presenta argumentos que muestran que el kit reivindicado si tiene nivel inventivo.

Siguiendo con el punto 5.:

El Examinador escribe: Se aclara que las diferencias entre los dos kit se basan en las características esenciales que definen a cada uno y no en resultados a alcanzar: no obstante, se hacen las siguientes aclaraciones con respecto a las diferencias citadas por el Solicitante:"

El Solicitante respetuosamente responde que en el arte técnico del invento, "PRUEBAS DE DIAGNOSTICO MEDICO", kits para pruebas diagnosticas se comparan de acuerdo a la ventaja técnica de cada uno de los componentes de los kits comparados, en donde la ventaja técnica se mide en términos de que tan buena es la prueba diagnóstica que se haga con los kits comparados.

El Examinador, siguiendo con el punto 5, hace las aclaraciones a través de una tabla, en donde la aclaración del Examinador aparece en la tercera columna de dicha tabla. La primera columna de la tabla contiene el argumento del Solicitante, la segunda columna se refiere al Tau-Kit de ISOMED. Las filas de la tabla se presentan en forma fragmentada siguiendo el mismo orden del Examinador, en donde el Solicitante responde a cada fila o subgrupo de filas como sigue:

SOLICITANTE	Tau-Kit de Isomed (D1)	Respuesta del Examinador al Solicitante
-------------	------------------------	---

Utiliza baja dosis de urea marcada con C13 50 mg	Utiliza alta dosis de urea marcada con C 13 100 mg	La dosis de urea de D1 es 0.15% (reiv 12) y la del Kit reclamado es 0.33%, es más baja la de D1
--	--	---

En respuesta el Solicitante indica que según la reivindicación 12 de D1 las dosis de D1 es 75-100mg Urea/20-50ml mientras que la dosis del

2806
265

Kit de la solicitud es 15-50mg Urea/15-50ml (Reivindicación 2 del Solicitante). Respetuosamente, se le indica al Examinador que su apreciación no es correcta. El kit de la solicitud presenta rangos menores (del 50% o menos que D1) y diferentes a D1. El Solicitante manifiesta que el Examinador cometió un error de buena fe, ya que no es posible llegar a los porcentajes que él muestra de acuerdo a los números presentados en la reivindicación 12 de D1 y la reivindicación 2 del Solicitante.

Con respecto a las siguientes filas de la tabla:

No utiliza ácido cítrico	Utiliza 3,2g de ácido cítrico	La reiv. 6 de la solicitud dice, kit que comprende; de esta manera, puede comprender otro elemento como el ácido cítrico de D1; además en D1, se menciona que la ureasa producida por el Helicobacter Pylori, se degrada a bicarbonato y este a su vez a CO2 (que se recoge en el segundo recipiente para analizar y determinar la presencia del microorganismo) y agua en el medio ácido del estomago, lo cual puede sugerir la no presencia de este ácido (folio 260, pg3), D1, también menciona cual es el objetivo de la presencia del ácido cítrico en el Kit, divulgado (folio 255, columna 4, líneas 5-9), y no se observa una ventaja por la no presencia de este ácido en el kit reclamado
Riesgo para el paciente: absolutamente inocua	Riesgo para el paciente: Nauseas y vómito, sobre todo en niños y aumento de la hiperacidez gástrica en pacientes con síntomas de dispepsia y úlceras	A pesar de que no es una característica esencial del kit, ya D1, mencionaba las ventajas del mismo (folio 256, líneas 20-23).
No altera la fisiología gástrica		A pesar de que no es una característica esencial del kit, ya D1, mencionaba las ventajas del mismo (folio 256, líneas 20-23)

El Solicitante, establece en respuesta a lo escrito por el Examinador en la tercera columna y en respuesta al Examinador durante la entrevista que el Solicitante sostuvo con él, en relación al papel de Acido Cítrico en D1, o en otras pruebas de aliento con urea marcada para detectar Helicobacter pylori:

281 7
266

A) en relación a "no se observa una ventaja por la no presencia de este ácido en el kit reclamado" (por parte del Examinador), el Solicitante indica que las ventajas técnicas del kit del Solicitante son precisamente la carencia de riesgo debido a que la prueba que se hace con el kit del Solicitante es absolutamente inocua y que la prueba que se hace con el kit del Solicitante no altera la fisiología gástrica;

B) en relación a la pregunta del Examinador con respecto a la necesidad del ácido cítrico en las pruebas de aliento con urea marcada para detectar *Helicobacter pylori*, El Solicitante establece que en el estado de la técnica hay referencias posteriores a D1, que claramente recomiendan la omisión del uso del ácido cítrico en la prueba de aliento con urea marcada para la detección del *Helicobacter Pylori*. Específicamente, "Por lo tanto, para el diagnóstico de la infección por *Helicobacter Pylori* en pacientes no-tratados, solución de ácido cítrico en un protocolo de prueba de aliento con 13C-Urea puede ser omitido" (texto original en Inglés: "Therefore, for the diagnosis of *Helicobacter pylori* infection in untreated patients, citric acid solution in 13C-urea breath test protocol can be omitted".) (J.P. Gisbert et al. 13C-Urea Breath Test for the Diagnosis of *Helicobacter pylori* Infection Before Treatment: is Citric Acid Necessary?, Digestive and Liver Disease, 32:20-24, Abstracto, párrafo 5, 2000 - Se adjunta copia de esta referencia con citación resaltada). Otra referencia, posterior a D1, dice que estudios recientes han sugerido que el ácido cítrico, como comida de prueba, puede no ser necesario ("Citric acid has been proposed as the best test meal. However, recent studies have suggested a test meal may not be necessary".) (W.M. Wong et al., 13C-Urea Breath Test without a Test Meal is highly Accurate for the Detection of *Helicobacter pylori*

282
267 8

Infection in Chinese. Ailment Pharmacol Ther, 14:1353-1358, Abstracto, 2000 - Se adjunta copia de esta referencia con citaciones resaltadas). La misma referencia, W.M. Wong et al., tambien dice: "Se ha mostrado que la prueba de aliento con 13C-urea a los 10 minutos fueron no-afectados por el uso de una comida de prueba mientras los valores fueron significativamente mayores a los 30 minutos y más tarde en su estudio."

(It has been shown that 13C-UBTs at 10 min were unaffected by the use of test meal while values were significantly greater at 30 min and later in their study"). (ver W.M. Wong, pagina 1357, segunda columna, cuarta línea primer párrafo - resaltado con marcador). El Solicitante explica que esto quiere decir que si la comida de prueba (Acido cítrico) tiene algún efecto en mejorar los resultados de la prueba de aliento con Urea marcada, el efecto seria a los treinta minutos o después. Efecto del acido cítrico que sería completamente innecesario para la prueba con el kit reclamado Protocolo I) del Solicitante, ya que el efecto de la cantidad adecuada de agua del kit del Solicitante se da inmediatamente con resultados del 100% en todos los parámetros a los 10 minutos. El 100% en todos los parámetros es un resultado que no se puede mejorar. Por lo tanto, el acido cítrico no es de ninguna ayuda para la prueba con el kit del Solicitante, y menos, si el efecto del acido cítrico, además de ser nulo, se daría a los 30 minutos, 20 minutos después de que se han obtenido los mejores resultados con la prueba con el kit del Solicitante.

Ademas, la referencia de W.M. Wong et al., en su conclusión dice que "el protocolo de baja dosis sin una comida de prueba (citric acid) fue altamente precisa en el diagnostico de la infecci3n por H. pylori en la poblaci3n China". (This low dose protocol without a test meal was highly accurate in the diagnosis of H. pylori infection in a Chinese population".) (ver W.M. Wong, pagina 1357, segunda columna, quinta línea segundo párrafo - resaltado con marcador).

283 9
268

Con respecto a la siguiente fila de la tabla:

Con la forma de administrarla, como "un trago fuerte" que se "pasa rápidamente" con 200 mL de agua se eliminan los falsos positivos relacionados con bacterias productoras de ureasa en la boca y en la orofaringe	Falsos positivos por bacterias productoras de ureasa en la boca y en la orofaringe	A pesar de que no es una característica esencial del kit, ya, en el estado del arte D2 WO9614091, advertía la posibilidad de falsos positivos (folio 260, líneas 20-23).
--	--	--

El Solicitante afirma que el hecho de que el arte previo mencione la posibilidad de falsos positivos, no significa que el inmenso problema de los falsos positivos lo resuelva el arte previo, como solo se resuelve mediante el uso del recipiente con agua del kit de la solicitud, en donde el recipiente se usa específicamente para un paso específico que soluciona, al limpiar las bacterias residuales de la boca y orofaringe que tienen ureasa, la causa de dichos falsos positivos. Por lo tanto, se puede concluir, que si hay una ventaja técnica dada por dicho componente del kit (el recipiente con agua) lo que implicaría que la inclusión en el kit reivindicado del recipiente con agua, además de tener novedad, también tiene nivel inventivo.

Con respecto a la siguiente fila de la tabla:

Estimula el contacto de la urea marcada con C13 con la totalidad de la mucosa gástrica... en la solución acuosa que se forma en el estómago.	Falsos negativos por mala distribución de la urea en la mucosa gástrica	A pesar de que no es una característica esencial del kit, ya, en el estado del arte D2 WO9614091, advertía que reduce los falsos negativos (folio 261, líneas 28-29)
--	---	--

El Solicitante le indica respetuosamente al Examinador que en una referencia posterior a D2, se refuta completamente citación mencionada de D2 (1994-96), en donde D2 se refiere a tabletas.

Lo aceptado ahora en el arte previo es que las tabletas tienden a no permanecer por mucho tiempo en el estomago lo que no da tiempo para que se disuelvan, causando así falsos negativos (Ohara 2004, ver

28/10
269

abajo), lo que no sucede en el caso de la solicitud, gracias al uso del agua del recipiente de el kit reivindicado del Solicitante, lo que causa que la urea se disuelva inmediatamente en el estomago eliminando la posibilidad de falsos negativos. "números sugieren que las tabletas con 13C-urea (UBIT) pueden no haber permanecido por un periodo suficientemente largo en el estomago, pasando hacia el duodeno antes de disolverse, así causando el resultado falso negativo". ("These numbers suggest that the UBIT tablets may have not have remained for a sufficiently long period in the stomach, passing out into the duodenum before dissolving, thus causing the false-negative result".) Shuichi Ohara et al., Comparison between a new 13C-Urea Breath Test, using a Film-Coated Tablets, and the Conventional 13C-Urea Breath Test for the Detection of Helicobacter pylori Infection, J. Gastroenterol, 39:621-628, pagina 627, Columna 1, ultimo parrafo, 2004 - Referencia adjunta con citacion resaltada).

Con respecto a la siguiente fila de la tabla:

Es corta (10 minutos)	Es larga (30 minutos)	A pesar de que no es una característica esencial del Kit, en la descripción de la solicitud (folio 73) se muestra que ambas pruebas tiene duración de 30 minutos.
-----------------------	-----------------------	---

El Solicitante responde respetuosamente que la conclusión del Examinador no es correcta, ya que en el Folio 73 se puede observar que a los 10 minutos el protocolo I, en donde se usa el Kit reivindicado por el Solicitante se da un resultado del 100% cuando se analizan todos los parámetros. En cambio, en el protocolo II, aun a los 30 minutos se siguen obteniendo resultados por debajo del 100%. Esto indica que no hay problema si la prueba del protocolo I se hace en solo 10 minutos ya que el resultado es 100%. No se puede afirmar lo mismo de la prueba del protocolo II. Por lo tanto, el Solicitante

afirma que debido a que la prueba con el Kit reivindicado del Solicitante se puede hacer en menos tiempo que en las referencias citada por el Examinador, dicho kit tiene nivel inventivo.

Con respecto a la siguiente fila de la tabla:

Sensibilidad 100%	Sensibilidad 94.3%	A pesar de que no es una característica esencial del kit, en la tabla (I), folio 73, pg 12, se muestra una sensibilidad de 97,83% (folio 74, pg 13), y no se evidencia a que característica esencial diferente del kit divulgado, se debe esa pequeñísima diferencia.
Especificidad 100%	Especificidad 96,3%	A pesar de que no es una característica esencial del kit, en el folio 74, el Solicitante concluye que la sensibilidad del método conocido es de 97.83% frente al 100% con el kit solicitado, lo cual no muestra que el kit reivindicado dé un efecto sorprendente

El Solicitante indica que el Examinador no aprecia la inmensa diferencia cuando afirma que "A pesar de que no es una característica esencial del kit, en la tabla (I), folio 73, pg 12, se muestra una sensibilidad de 97,83% (folio 74, pg 13), y no se evidencia a que característica esencial diferente del kit divulgado, se debe esa pequeñísima diferencia" ya que el Examinador desconoce que la diferencia del 2.13% en sensibilidad entre la prueba con el kit del Solicitante y el protocolo II es una diferencia inmensa que se traduce en que de cada 100 pacientes que se someten a la prueba más de 2 van a ser diagnosticados falsamente como infectados con H. Pylori. La diferencia es inmensa si se tiene en cuenta que en Colombia mas 72% de la población está infectada con H Pylori (ver Campuzano Maya et al., Prevalencia en la Infeccion por Helicobacter pylori en Medicos de Medellin, Colombia, Acta Gastroenterol. LatinoAm. 37:99-103, Pagina 99, segunda columna, primer párrafo, línea 4 - se adjunta referencia con citación resaltada) (ver también

286 12
271

a: Bohorquez et al., Prevalencia de Helicobacter pylori en Escolares: Factores Nutricionales y Socioculturales. Bogotá., sin publicar, pagina 2, cuarto párrafo, primera línea - referencia que se adjunta con citación resaltada), lo que equivale a aproximadamente 32.765.907 de colombianos infectados (De acuerdo a Población proyectada según Dane de Aprox 45.5 millones para el 2010 - ver 2 páginas adjuntas con tablas de población proyectada por el Dane con cifra resaltada). Esto quiere decir que aproximadamente en el mejor de los casos, si se aplica la prueba del arte previo (protocolo II), 711.020 Colombianos se detectarían como falsos positivos; y según D1, 1.212.338 Colombianos se detectarían como falsos negativos.

Falsos positivos quiere decir que el paciente al que se le hace la prueba se le diagnostica falsamente estar infectado por H. pylori. Dicho paciente falsamente diagnosticado como infectado recibiría tratamiento innecesario. El tratamiento innecesario para H pylori es costoso (aproximadamente 400.000.00 pesos) lo que implicaría un sobrecosto innecesario para el sistema de salud Colombiano de aproximadamente 284.000 millones de pesos. Además, el paciente tratado innecesariamente sufriría todos los efectos negativos de los fármacos que eliminan el H. pylori. Aun mas, mas de 700.000 Colombianos innecesariamente tratados para H. Pylori, perderían tiempo para que se les diagnosticase la causa real que los obligó a consultar cuando se les hizo la prueba de aliento con urea marcada. Falsos negativos quiere decir que al paciente se le dice que no está infectado con H. Pylori, cuando de verdad lo está. Los pacientes en que no se detecto la infección con H. pylori a pesar de estar infectados no serian tratados para H. Pylori. Aproximadamente, el 5% de paciente infectados con H. Pylori que no son tratados desarrollarían cáncer gástrico. Esto equivale según D1, a más de 60.000 colombianos.

El uso del kit de la presente solicitud ofrece la ventaja técnica de

28713
272

resolver al mismo tiempo, tanto el inmenso problema de los falsos positivos (sensibilidad del 100%), al limpiar la cavidad oral y la orofaringe de urea residual con el agua del kit reivindicado (mas de 700.000 Colombianos que no serian mal diagnosticados), y de los falsos negativos (especificidad del 100%), al difundirse la urea en el estomago instantáneamente debido a la mezcla inmediata de la solución con urea marcada y el agua en cantidad adecuada del recipiente del kit reivindicado (mas de un 1.2 millones de Colombianos que están infectados y que se detectarían gracias al uso del kit). Por lo tanto, el Solicitante afirma, que debido a que la inclusión en el kit reivindicado del recipiente con agua, es responsable directamente de que en la prueba de aliento con urea marcada con dicho kit reivindicado del Solicitante se soluciona, al mismo tiempo, los falsos positivos y los falsos negativos (sensibilidad 100%, especificidad 100%, precisión 100%), lo que es una ventaja técnica no mencionada en el estado de la técnica, dicha inclusión del recipiente con agua en el kit reivindicado tiene nivel inventivo.

Con respecto a la siguiente fila de la tabla:

Es barata, lo cual permite masificarla	Es cara, lo cual restringe su masificación	A pesar de que no es una característica esencial del kit, no se muestran costos, no era el objeto de la invención, y el kit de D1 se utiliza ampliamente en humanos.
--	--	--

El Solicitante respetuosamente menciona que D1 solo se puede hacer en el laboratorio. En contraste la prueba con el kit de la solicitud permite la toma de las muestras en sitios remotos. El hecho de que el kit contiene el recipiente con agua (tipo reactivo medico) para la prueba, evita el uso de agua de los lugares donde se colecta la muestra de aliento, ya que dicha agua de tales lugares puede estar

288 11
273

contaminada con bacterias con ureasa que pueden dar falsos positivos (ver K Hulten et al. *Helicobacter pylori* in the Drinking Water in Peru, *Gastroenterology*, 110:1031-1035, titulo y abstracto, 1996; ver tambien Gallego et al., *Roseomonas aquatica* sp. Nov., Isolated from Drinking Water, *Int J Syst Evol Microbiol*, 56:2291-2295, titulo, pagina 2293, ultimo párrafo y pagina 2295, octava línea, 2006 - se adjuntan ambas referencias con citas resaltadas). Por lo tanto el kit de la solicitud, debido al recipiente con agua tipo reactivo medico (estéril) permite la masificación a lugares remotos.

El Examinador en el folio 267 del Oficio No. 12504, inmediatamente después de la tabla escribe: "Esta oficina aclara que, . . . la presente solicitud (kit) carece de nivel inventivo frente al kit Taukit (ES2120903). Asimismo, se aclara que dado que el kit de la reivindicación 6 (reivindicación 1 de la solicitud radicada en Colombia que corresponde a la reivindicación 6 del documento de prioridad) es general, puede contener otras cosas, como el acido cítrico, que se mencionan en D1. . . Se aclara que la diferencia con el kit de D1, es que el reclamado menciona específicamente que contiene un recipiente con agua, y que la no presencia del acido cítrico no muestra una ventaja sobre el kit divulgado (aclaración de la tabla de diferencias citada arriba por el Solicitante). Además, como no se evidencia un efecto logrado por contener un recipiente con agua, dado que igualmente se logra, la detección del *Helicobacter Pylori*, con la misma especificidad, confianza y la misma alta probabilidad para clasificar individuos infectados y cero probabilidad para clasificar individuos no infectados, se concluye que el kit reivindicado no presenta nivel inventivo".

El Solicitante respetuosamente responde que en este caso la afirmación del Examinador no es correcta. En los argumentos

289 45
274

presentados hasta ahora, el Solicitante muestra que el kit tiene ventajas técnicas no descritas en D1 y que otorgan a el kit del Solicitante multiples ventajas técnicas sobre D1, como son:

a) el kit del Solicitante tiene una dosis al menos por un 50% debajo de la dosis de D1, lo que implica un ahorro enorme para el sistema de salud en Colombia. La libra de C13 Urea cuesta aproximadamente 50 millones de pesos, lo que traduce en un ahorro en costo por prueba de 5.000.00 a 6.000.00 pesos, lo que equivaldría a un ahorro aproximadamente de 160 mil millones a 192 mil millones de pesos en caso de que se le hiciera al menos una prueba con el kit del Solicitante a cada uno de los más de 32 millones de Colombianos infectados con H. pylori;

b) la eliminación de los diagnósticos falsos positivos con el kit del Solicitante para más de 700,000 Colombianos con las enormes implicaciones ya explicadas en esta respuesta por el Solicitante;

c) la eliminación de falsos negativos para más de 1,2 millones de Colombianos cuando se compara con D1, con las enormes implicaciones ya explicadas en esta respuesta por el Solicitante; por lo tanto:

El Solicitante afirma que en base a los nuevos argumentos presentados hasta ahora en esta respuesta, que el Kit reivindicado tiene nivel inventivo cuando se compara a D1, y que por lo tanto la oposición no es fundada.

Además, el Solicitante de nuevo afirma que, el Examinador ignora en su análisis la sensibilidad (falsos positivos); a pesar de que la especificidad es la misma para los protocolos I y II, la sensibilidad no es la misma. Lo que resulta en un valor predictivo (-) por debajo del 100% y una eficacia por debajo del 100% para II. El Solicitante respetuosamente explica que para determinar que tan buena es una prueba diagnóstica medica (el arte de la técnica) es completamente errado evaluar la especificidad (variable que mide verdaderos negativos) sin evaluar al mismo tiempo la sensibilidad (variable que

275 16

mide verdaderos positivos), y sin ligar la una a la otra para determinar que tan exacta es la prueba diagnóstica. De igual manera también es un error el evaluar la sensibilidad sin al mismo tiempo evaluar la especificidad y sin ligar la una a la otra para determinar que tan exacta es la prueba diagnóstica. Es sabido en el arte de la técnica (Pruebas diagnosticas medicas) que la sensibilidad y especificidad son severamente dependientes la una de la otra, para así determinar exactitud de la prueba diagnóstica: "que tan buena es una prueba diagnóstica es una pregunta compleja que es usualmente estimada de acuerdo a tres criterios . . . (3) exactitud exactitud es sinónimo de validez, y puede ser definida como la habilidad de la prueba de mostrar cuales son los individuos que tienen la enfermedad cuestionada y cuales no . . . esta es generalmente evaluada por dos medidores en vez de uno, denominados sensibilidad y especificidad definidos como el chance de una prueba verdadera positiva y verdadera negativa. Un segundo problema es, que estos dos medidores son severamente dependientes el uno del otro". ("The goodness of a diagnostic test is a complex question that is usually estimated according to three criteria: . . . (3) accuracy. . . . Accuracy is synonymous to validity, and can be defined as a test's ability to show which individuals have the disease in question and which do not . . . it is generally assessed by two estimators rather than one, namely sensitivity and specificity defined as the chance of a true positive and true negative test respectively. A second problem is, that these two estimators are severely dependent on one another".)(Ver Cleophas et al., Statistics Applied to Clinical Trials, third edition, Capitulo 28, pagina 319, primer párrafo, Springer, 2006 - Referencia que se adjunta con la citación resaltada). Por lo tanto, el Solicitante indica que el análisis de nivel inventivo, y de la ventaja técnica, que no se había descrito en el estado de la técnica previa a la solicitud, del kit

29/17
276

reivindicado por parte del Examinador es incompleto e incorrecto al solo tener en cuenta la especificidad ignorando la sensibilidad. Dicho análisis debe hacerse teniendo en cuenta estos dos medidores y la exactitud resultante, que en el caso de la prueba con los elementos del kit del Solicitante es 100%, 100%, y 100%, lo que no se ha presentado previamente con otros kits para pruebas de aliento con C13-urea del arte de la técnica que contengan los mismos componentes. Por lo tanto, de nuevo el Solicitante afirma que el kit reivindicado tiene nivel inventivo.

Siguiendo con el ultimo párrafo del punto 5. del Oficio No. 12504, el Examinador escribe: "El Solicitante presenta copias de un articulo (folio 185-195) sobre la aplicación del kit reclamado , en donde menciona que es una optimización del test de aliento con urea marcada con C13 para diagnostico del Helicobacter Pylori (folio 172, pg 8); de una prueba que se conoce desde 1924 (folio 170); es importante aclarar que para el experto en la materia es de su rutina, realizar optimizaciones o adaptaciones lo cual le permitió obtener el kit reivindicado sin que esto le confiera altura inventiva a dicho kit".

El Solicitante responde que el Hecho de que sea optimización o adaptación no define si tiene nivel inventivo o no. Por ejemplo, D1 puede también definirse como una adaptación o optimización, y D1 es una patente otorgada tanto en otros países como en Colombia.

La pregunta que se debe hacer es si la optimización o adaptación reúne los requisitos de patentabilidad entre los que está el nivel inventivo, además de novedad y aplicación industrial. En el caso del kit reivindicado por el Solicitante, ya se han expuesto en esta respuesta por parte de dicho Solicitante argumentos que muestran que

kit reivindicado tiene nivel inventivo además de que el Examinador que tiene novedad y en donde no se cuestiona que tenga

292-18
277

aplicación industrial.

OBSERVACIONES EN RELACION AL PUNTO:

6. DETERMINACION DEL ESTADO DE LA TECNICA

El Examinador encontró en el estado de la técnica como los documentos más relevantes los siguientes:

D1 ES2120903, Metodo y Kit para la detección de H. pylori, 01/11/1998; y

D2 W9614091, Diagnostic Preparation for Detection of H. Pylori, 05/17/96

OBSERVACIONES EN RELACION AL PUNTO:

7.1 NIVEL INVENTIVO (artículo 18 D 486)

En relación a la reivindicación 6 del documento de prioridad, que corresponde a la reivindicación 1 de la solicitud radicada en Colombia, El Examinador indica que el estado de la técnica mas cercano es D1, y que el kit de la solicitud se diferencia de D1, en que el kit de la solicitud contiene un recipiente con agua.

Luego el Examinador escribe: "No se evidencia un efecto técnico logrado, cuando el kit solicitado contiene un recipiente con agua; ya que los resultados de las pruebas aplicadas mediante el kit de referencia y el reclamado, le permiten al Solicitante llegar a las siguientes conclusiones (folio 74, pg 13): con ambos kit se obtiene la misma especificidad , la misma confianza del 95%, la misma alta probabilidad para clasificar individuos infectados y cero probabilidad para clasificar individuos no infectados; además el kit reivindicado sirve para lo mismo (detección de microorganismos

293 19
278

patógenos como el Helicobacter Pylori) que el kit del estado del arte".

El Solicitante respetuosamente responde que en este caso, de nuevo, la afirmación del Examinador no es correcta. En los argumentos presentados hasta ahora, el Solicitante muestra que el kit tiene ventajas técnicas no descritas en D1 y que otorgan a el kit del Solicitante múltiples ventajas técnicas sobre D1, entre las que esta El que se eliminan diagnósticos falsos positivos para más de 700,000 Colombianos con las enormes implicaciones ya explicadas en esta respuesta por el Solicitante. El Solicitante afirma que en base a este y los otros argumentos presentados hasta ahora en esta respuesta, que el Kit reivindicado tiene ventajas técnicas que le dan nivel inventivo cuando se compara a D1, Además, el Solicitante de nuevo afirma que, el Examinador ignora en su análisis la sensibilidad (falsos positivos); a pesar de que la especificidad es la misma para los protocolos I y II, la sensibilidad no es la misma. Lo que resulta en un valor predictivo (-) por debajo del 100% y una eficacia por debajo del 100% para II. El Solicitante respetuosamente explica de nuevo que para determinar que tan buena es una prueba diagnóstica medica (el arte de la técnica) es completamente errado evaluar la especificidad (variable que mide verdaderos negativos) sin evaluar al mismo tiempo la sensibilidad (variable que mide verdaderos positivos), y sin ligar la una a la otra para determinar que tan exacta es la prueba diagnóstica. De igual manera también es un error el evaluar la sensibilidad sin al mismo tiempo evaluar la especificad y sin ligar la una a la otra para determinar que tan exacta es la prueba diagnóstica. Es sabido en el arte de la técnica (Pruebas diagnosticas medicas) que la sensibilidad y especificidad son severamente dependientes la una de la otra, para así determinar la exactitud de la prueba diagnóstica: "que tan buena es una prueba

299 20
279

diagnóstica es una pregunta compleja que es usualmente estimada de acuerdo a tres criterios . . . (3) exactitud . . . exactitud es sinónimo de validez, y puede ser definida como la habilidad de la prueba de mostrar cuales son los individuos que tienen la enfermedad cuestionada y cuales no . . . esta es generalmente evaluada por dos medidores en vez de uno, denominados sensibilidad y especificidad definidos como el chance de una prueba verdadera positiva y verdadera negativa. Un segundo problema es, que estos dos medidores son severamente dependientes el uno del otro". (ver Cleophas et al. citación ya mencionada anteriormente en esta respuesta).

Por lo tanto, el Solicitante indica que el análisis de nivel inventivo, y de la ventaja técnica, que no se había descrito en el estado de la técnica previa a la solicitud, del kit reivindicado por parte del Examinador es incompleto e incorrecto al solo tener en cuenta la especificidad ignorando la sensibilidad. Dicho análisis debe hacerse teniendo en cuenta estos dos medidores y la exactitud resultante, que en el caso de la prueba con los elementos del kit del Solicitante es 100%, 100%, y 100%, lo que no se ha presentado previamente con otros kits para pruebas de aliento con C13-urea del arte de la técnica que contengan los mismos componentes. Por lo tanto, de nuevo el Solicitante afirma que el kit reivindicado tiene nivel inventivo.

Siguiendo con el punto 7.1:

El Examinador afirma: "Además, D1 (folio 258, columna 149, reivindicación 12), ya mencionaba la cantidad de urea entre 75 y 100mg en 20 a 50 mL de agua, (al 0.15%), que comparada con la cantidad de urea marcada en el kit reclamado, 50mg en 15mL (al 0.33%), se observa que tampoco hay ventaja sobre el kit divulgado".

280-21

El Solicitante presenta el texto de la reivindicación 12 de D1 que dice: "Un kit según la reivindicación 10, en el que el frasco que contiene la urea marcada con carbono-13 es un frasco de, al menos, 20 a 50 ml y contiene entre 75 y 100 mg de urea marcada con carbono-13".

Respetuosamente el Solicitante le indica al Examinador que el kit de la solicitud contiene de 15-50 mg de Urea en 15 a 50 ml de agua lo que disminuye marcadamente la cantidad de reactivos, haciendo mas económico la administración de esta prueba, esta es una diferencia con D1 que ofrece una ventaja técnica que se traduce en menor costo. La cuantía del ahorro en costo ya se explico en detalle en esta respuesta. El ahorro en costo de la prueba con el kit reivindicado en relación a D1, es una ventaja técnica que confiere al dicho kit reivindicado por el Solicitante nivel inventivo.

Siguiendo con el punto 7.1:

El Examinador escribe: "El Problema Técnico objetivo era "cómo obtener un kit, para la detección de microorganismos patógenos, Helicobacter Pylori, mediante pruebas de aliento, alternativo, al ya divulgado en D1".

El Solicitante respetuosamente le sugiere al examinador replantear la pregunta del problema técnico objetivo de la siguiente forma:

Como obtener un Kit para la detección de microorganismos patógenos en donde al mismo tiempo se resuelve los falsos positivos y los falsos negativos, ya que este es un problema inmenso para los colombianos y los millones de personas en el mundo infectados con H. pylori. El replantear la pregunta del problema como lo sugiere el Solicitante, y responder la pregunta replanteada como lo ha hecho el Solicitante a través de esta respuesta al Oficio No. 12504, muestra que el kit

298 29
281

reivindicado en la solicitud tiene nivel inventivo.

Siguiendo con el punto 7.1:

El Examinador escribe: "Por tanto, la solicitud, tal como se reivindica, es obvia, porque el Experto en la Materia enfrentado al problema de "como obtener un kit, para la detección de microorganismos patógenos mediante pruebas de aliento, alternativo, al divulgado en D1", que contenga un recipiente con agua (200mL) incluiría los 200mL de agua (D1, folio 258, columna 14, reiv 11), logrando de esta forma el kit objeto de esta solicitud; sin que la presente reivindicación presente altura inventiva, como tampoco sus dependientes, 7-12".

El Solicitante presenta el texto de la reivindicación 11 de D1: "Un kit según la reivindicación 10, en el que el dicho sobre contiene 4,3 g de ácido cítrico, opcionalmente junto con otros aditivos, para su disolución en 200 ml de agua".

El Solicitante respetuosamente responde que el agua mencionada en D1, reiv. 11 de D1 es para disolver el acido cítrico que se da antes de tomar las muestras y de dar la solución con 13C-urea, por lo tanto dicha agua no va a resolver los falsos positivos producidos por la ureasa de las bacterias alojadas en la cavidad oral y la orofaringe, en donde dichas bacterias procesan los residuos de 13C-Urea que quedan en dicha cavidad oral y orofaringe.

En contraste, el agua del kit de la solicitud, que se da durante un paso preciso inmediatamente despues de administrar la solucion con 13C-Urea, resuelve los falsos positivos al limpiar la urea residual que queda en la cavidad oral y orofaringe.

No es razonable pensar, ni hay ningún indicio que sugiera que el

29-23
28

experto en la técnica va a usar el agua en D1, reiv 11 en la misma forma que se usa el kit de la solicitud; además, el agua de D1 ya se habría usado para otro propósito que es el disolver el ácido cítrico que se daría mucho antes de administrarse la solución con 13C-urea. Más aun, el agua de D1 al no ser parte de un kit como reactivo médico pudiese contener (contaminación con) bacteria con Ureasas. En adición, el agua de la reiv. 11 de D1, al usarse para disolver el ácido cítrico, una comida de prueba, en D1, da una especificidad de 96.3%, lo que en el caso, por ejemplo de Colombia, resultaría en el 3.7% de falsos negativos, lo que representaría más de 1,2 millones de Colombianos diagnosticados falsamente como no-infectados con H. pylori, lo que dejaría a esta población sin tratamiento, lo que se podría traducir en más de 60,000 casos de cáncer gástrico. Por lo tanto, es errado concluir que el agua de la reiv. 11 de D1, la usaría el experto en el estado de la técnica como un componente del kit del Solicitante, en donde el recipiente con agua del kit del Solicitante se usa inmediatamente después de dar la solución de 13-C urea.

OBSERVACIONES EN RELACION AL PUNTO:

8. CONCLUSION

El Examinador concluye que los requisitos de patentabilidad de las reivindicaciones 1-7 (reivindicaciones 6-12 del documento de prioridad) de la solicitud radicada en Colombia por Germán Antonio Campuzano Maya están afectadas en su nivel inventivo por el documento D1 (ES2120903).

El Solicitante, basado en sus argumentos a través de esta respuesta al Oficio No. 12504, respetuosamente alega que los requisitos de

298 24
283

patentabilidad de las reivindicaciones 1-7 (reivindicaciones 6-12 del documento de prioridad) de la solicitud radicada en Colombia por dicho Solicitante tienen nivel inventivo el cual no está afectado por el documento D1 (ES2120903).

En conclusión, el Solicitante respetuosamente afirma que la invención cumple de esta manera con los requisitos formales y sustanciales para que la Patente correspondiente a su solicitud se otorgue.

Atentamente

Claudia Montoya A
CLAUDIA DEL PILAR MONTOYA ARIAS

CC 30233465 de Manizales

Octubre 29, 2010

29 25
284

INDICE DE REFERENCIAS CITADAS

- J.P. Gisbert. et, al. 13C-Urea Breath Test for the Diagnosis of Helicobacter Pylori Infection Before Treatment: is Citric Acid Necessary? Folio 26-27
- W.M. Wong. et, al. 13C-Urea Breath Test Without a Test Meal is Highly Accurate for the Detection of Helicobacter Pylori Infection in Chinese. Folio 28-33
- Shuichi. Ohara. 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. Folio 34-41
- Campuzano. Maya. German. et, al. Prevalencia de la Infeccion por Helicobacter Pylori en Médicos de Medellin, Colombia. Folio 42-46
- Bohorquez, Maria Silvia, et, al. Prevalencia de Helicobacter Pylori en Escolares: Factores Nutricionales y Socioculturales. Bogota. Folio 47-69
- Anexo A. Colombia. Proyecciones de Poblacion a Nivel Nacional y Departamental y Principales Indicadores Demográficos 2005-2010. folio 70-71
- K. Hulten, et, al. Helicobacter Pylori in the Drinking Water in Peru. Folio 72-73
- Gallego. Virginia. et, al. Roseomonas Aquatica sp. Nov., Isolated From Drinking Water. Folio 74-82
- T.J. Cleophas. et, al. Statistics Applied to Clinical Trials, Third Edition. Folio 83-84

300 28
285



Hub ScienceDirect Scopus

Register | Login | Go to SciVal Suite
You have Guest access to ScienceDirect
Find out more...

Home Browse Search My settings My alerts

Help

All fields Author
Journal/Book title Volume Issue Page

Search ScienceDirect

Advanced search
Search tips



Rerun your search for "h pylori breath test citric acid" on ScienceDirect. Search

Font Size: A⁺ A⁻

Purchase PDF (2125 K)

Export citation

Abstract References

Digestive and Liver Disease
Volume 32, Issue 1, January-February 2000, Pages 20-24

doi:10.1016/S1590-8658(00)80039-0 | How to Cite or Link Using DOI
Copyright © 2000 Published by Elsevier Science Ltd.

Permissions & Reprints

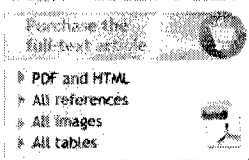
Cited By in Scopus (12)

¹³C-urea breath test for the diagnosis of *Helicobacter pylori* infection before treatment: is citric acid necessary?

J. P. Gisbert^a, M. A. Vazquez, I. Jimenez, A. I. Cruzado,
D. Carpio, E. Del Castillo, M. J. Martin, A. Morales, R.
Pajares, A. Rodriguez and J. M. Pajares

Department of Gastroenterology, University Hospital of La
Princess, Madrid, Spain

Received 22 June 1999; revised 4 October 1999; accepted 20
October 1999; Available online 19 November 2003.



Abstract

Aim. ¹³C-urea breath test is one of the best methods for the diagnosis of *Helicobacter pylori* infection. Although a citric acid solution is generally used prior to urea intake, the superiority of this strategy has not been sufficiently demonstrated. Thus, our aim was to compare ¹³C-urea breath test with and without citric acid solution, to evaluate whether ¹³C-urea breath test can also achieve favourable results when the test meal is omitted.

Methods. ¹³C-urea breath test with and without citric acid were compared prospectively in 53 subjects without prior *Helicobacter pylori* eradication therapy prescription. Basal samples and at 15', 30', and 45' after taking 100 mg of ¹³C-urea were obtained. The gold standard for *Helicobacter pylori* diagnosis was the ¹³C-urea breath test result with citric acid at 30', and "Delta Over Baseline" values >5 at that time were considered positive.

Results. The prevalence of *Helicobacter pylori* infection was 68%. Mean Delta Over Baseline values with citric acid at 15', 30' and 45' were: 29.6±39, 30.8±37 and 24.6±27; whereas respective values without citric acid were lower: 14.9±22, 12.2±07 and 10±13 (p<0.001 for all comparisons, Wilcoxon test for paired data). Thus, the area under the curve (constructed with Delta Over Baseline values at different times) with citric acid was 85±102, and 37±50 without citric acid (p<0.001). Correlation coefficient between Delta Over Baseline values with and without citric acid at 30' was 0.73 (p<0.0001). The percentage of subjects achieving the highest Delta Over Baseline value at 15', 30' and 45' with citric acid was 51/916, 30% and 19%, whereas without citric acid it was 51%, 26% and 23% (non significant differences). The area under receiver operating characteristic curve for ¹³C-urea breath test without citric acid was: 0.98 at 15', 1 at 30', and 0.97 at 45'. The best cut-off point for ¹³C-urea breath test without citric acid at 30' was anywhere between 3.3 and 3.9 (that is, a lower value than that usually considered with citric acid), with 100% (95% confidence interval, 90–100%) sensitivity and 100% (82–100%) specificity.

Conclusions. ¹³C-urea breath test values with citric acid are higher than those obtained without

Related Articles

- Clinical validation of the Helikit(TM): a 13C urea brea...
Clinical Biochemistry
- The [14-C]urea breath test is not sensitive for detecti...
Gastroenterology
- Cut-off point, timing and pitfalls of the 13C-urea brea...
Digestive and Liver Disease
- M1082 Validation of a Low Dose Tablet Formulation 13C U...
Gastroenterology
- Validity of a modified 13C-urea breath test for pre-an...
The American Journal of Gastroenterology

View more related articles

Related reference work articles e.g. encyclopedias

- Gastritis and *Helicobacter pylori*, Pediatric
Encyclopedia of Gastroenterology
- STOMACH Disorders
Encyclopedia of Human Nutrition
- Ulcers
xPharm: The Comprehensive Pharmacology Reference
- *Helicobacter pylori*
Encyclopedia of Gastroenterology
- Breath Tests
Encyclopedia of Gastroenterology

More related reference work articles

View Record in Scopus

201 27
286

citric acid, although this difference does not imply a diagnostic superiority in untreated patients when considering ^{13}C -urea breath test without citric acid at 30'. Therefore, for the diagnosis of *Helicobacter pylori* infection in untreated patients, citric acid solution in ^{13}C -urea breath test protocol can be omitted.

Author Keywords: breath test; citric acid; diagnosis; *Helicobacter pylori*; urea

Article Outline

• References

Corresponding author. Dr. J. P. Gisbert, Playa de Mojácar 29, Urb. Bonanza, 28669 Boadilla del Monte, , Madrid, , Spain. Fax: +34-914137208.

Digestive and Liver Disease
Volume 32, Issue 1, January-February 2000, Pages 20-24

[Home](#) [Browse](#) [Search](#) [My settings](#) [My alerts](#)

[Help](#)

About ScienceDirect

[What is ScienceDirect](#)
[Content details](#)
[Set up](#)
[How to use](#)
[Subscriptions](#)

Contact and Support

[Contact and Support](#)

About Elsevier

[About Elsevier](#)
[About SciVerse](#)
[About SciVal](#)
[Terms and Conditions](#)
[Privacy policy](#)
[Information for advertisers](#)



Copyright © 2010 Elsevier B.V. All rights reserved. SciVerse® is a registered trademark of Elsevier Properties S.A., used under license. ScienceDirect® is a registered trademark of Elsevier B.V.

303-28
287

¹³C-urea breath test without a test meal is highly accurate for the detection of *Helicobacter pylori* infection in Chinese

W. M. WONG*, B. C. Y. WONG*, K. W. WONG, F. M. Y. FUNG, K. C. LAI, W. H. C. HU, S. T. YUEN†, S. Y. LEUNG†, G. K. K. LAU, C. L. LAI, C. K. CHAN, R. GO & S. K. LAM

Departments of Medicine and †Pathology, University of Hong Kong, Queen Mary Hospital, Hong Kong

Accepted for publication 20 May 2000

SUMMARY

Background: Conventional ¹³C-urea breath testing (¹³C-UBT) includes a test meal to delay gastric emptying, which, theoretically, improves the accuracy of the test. Citric acid has been proposed as the best test meal. However, recent studies have suggested that a test meal may not be necessary.

Aim: To investigate a new ¹³C-UBT protocol without a test meal in a Chinese population.

Methods: Consecutive dyspeptic patients referred for upper endoscopy were recruited. ¹³C-UBT was performed on two separate days with or without a test meal (2.4 Gm citric acid) and compared with the 'gold standard' (CLO test and histology).

Results: Two hundred and two patients were tested. Using receiver operating characteristics (ROC) analysis, the optimal delta-value and optimal measurement interval for UBT were 5% and 30 min, respectively, both with or without a test meal. The sensitivity, specificity, positive predictive value, negative predictive value and accuracy of ¹³C-UBT with citric acid (96.5%, 97.7%, 98.2%, 95.6%, 97.0%) were similar to ¹³C-UBT without a test meal (94.7%, 97.7%, 98.2%, 93.5%, 96.0%).

Conclusion: This simplified ¹³C-UBT protocol without a test meal produced highly accurate and reliable results in the Chinese population.

INTRODUCTION

The ¹³C-urea breath test (¹³C-UBT) is a technically simple and noninvasive means of diagnosing *Helicobacter pylori* infection. It has been increasingly used in both hospital based and office based settings.^{1–5} The reliability of the ¹³C-UBT in diagnosing *H. pylori* infection is very high, with a sensitivity of 90–98% and a specificity of 92–100%, respectively.^{6–10} Since the first description of the ¹³C-UBT by Graham *et al.*, several modifications have been published to simplify and optimize the test.⁵ The amount of substrate used,

type of test meal, number of samples and the sampling time were the key variables being investigated.

The dose of ¹³C-urea varies among different investigators, from 75 mg to 350 mg. A dose of 125 mg ¹³C-urea was used in the validated US protocol¹¹ and 100 mg ¹³C-urea was used in the standard European protocol.² However, the 75 mg low dose protocol has been shown to be equally reliable.^{3, 7, 12–17} The chief advantage is a lower cost of the test. The most commonly used cut-off value for the 75 mg ¹³C-UBT protocol between *H. pylori* infected subjects and *H. pylori* uninfected subjects was 4%.¹² Although a lower cut-off value has been suggested by various studies, there is no universal agreement on the use of a lower cut-off value.^{2, 18} The commonly adopted sampling time is before and 30 min after the ingestion of ¹³C-urea, although the initial description of the test took breath

Correspondence to: Dr B. C. Y. Wong, Department of Medicine, University of Hong Kong, Queen Mary Hospital, Hong Kong.
E-mail: beywong@hku.hk

*These authors contributed equally to this work.

303 29
288

samples every 10 min for 3 h.⁵ Conventional ¹³C-UBT uses a test meal to decrease gastric emptying and maximize the distribution of ¹³C-urea within the stomach. It allows a better and longer contact time between the bacteria and the substrate, and may improve the diagnostic accuracy of ¹³C-UBT by reflecting the urease activity of the whole stomach.⁵ Various liquid test meals have been proposed by several studies.^{1, 2, 8, 19} A citric acid drink has been recently proposed as the best liquid test meal. It delays gastric emptying and lowers the intragastric pH. It has better accuracy, palatability, and a lower cost when compared to other conventional test meals.^{12, 20, 21} However, recent studies suggested that ¹³C-UBT without a test meal may be equally reliable for the diagnosis of *H. pylori* infection.^{22, 23} Most of the published data about ¹³C-UBT have come from the Western population. Relatively few reports have been published assessing the use of ¹³C-UBT in a Chinese population. Thus the aims of this study were: (i) to investigate whether the low dose 75 mg ¹³C-urea protocol is useful in a Chinese population; (ii) to investigate the most reliable delta over baseline (DOB) cut-off value for Chinese population; (iii) to determine the optimal measurement interval for this low dose ¹³C-urea protocol; (iv) to investigate whether the same accuracy of ¹³C-urea breath can be achieved without a test meal.

METHODS

Patient population

Two hundred and thirty patients referred to the endoscopy unit of the Department of Medicine, Queen Mary Hospital, for investigation of dyspepsia were recruited. Dyspepsia was defined as persistent or recurrent upper abdominal pain or discomfort over the preceding 3-month period. Informed written consent was obtained from all patients participating in the trial. Exclusion criteria included patients with previous gastric surgery or previous *H. pylori* eradication therapy and patients taking antibiotics, H₂ receptor antagonists, bismuth compounds or proton pump inhibitors in the preceding 4 weeks before endoscopy.

Gastric biopsies

During upper endoscopy, three antral biopsies and two corpus biopsies were taken. One antral biopsy was used for rapid urease test (CLO test) and the rest were sent for

histological examination of *Helicobacter pylori* status by haematoxylin and eosin stains and modified Giemsa staining if necessary. Specimens were examined by a pathologist specializing in gastroenterology who was blinded to all clinical information, including the CLO test results. The definition of *H. pylori* infection in this study required both CLO test and histology to be positive and was used as the 'gold standard' in this study. The absence of *H. pylori* infection required both tests to be negative. Equivocal cases (one test positive and the other test negative) were excluded from our analysis.

C¹³-urea breath test (¹³C-UBT) procedure

The ¹³C-UBTs, with or without a test meal, were performed in all patients after an overnight fast on two consecutive days. The test meal used was 200 mL 0.1 N (2.4 Gm) citric acid solution. Ten minutes after ingestion of the test meal, a baseline exhaled breath sample was collected in a vacutainer. Then 75 mg ¹³C-urea powder dissolved in 50 mL of water was given orally. Further breath samples were taken at 15, 30, 45 and 60 min (106 patients with baseline, 15 and 30 min only). All patients were kept in sitting position over the whole study period. Collected samples were analysed by the purpose built isotope ratio mass spectrometer in Simon KY Lee Digestive Disease Laboratory, Queen Mary Hospital, Hong Kong.

Results were expressed as the delta over baseline (DOB). The sensitivities, specificities, positive predictive values, negative predictive values and accuracies of the ¹³C-UBT with variation of the DOB cut-off levels were evaluated at different measurement intervals at 15, 30, 45 and 60 min. The appropriate cut-off points were obtained using receiver operating characteristics (ROC) curves for the ¹³C-UBT with test meal and ¹³C-UBT without test meal. The mean DOB with or without test meals at different time intervals was plotted to determine the peak DOB. The mean peak DOB and mean time to peak DOB with or without test meal were also determined. The sensitivity, specificity, positive predictive value, negative predictive value and accuracy of the ¹³C-UBT using the best cut-off values with different sampling time were calculated.

Statistical analysis

The statistics used included a χ^2 -test and Fisher's exact test when appropriate. A *P*-value of 0.05 or less was

considered statistically significant. The sensitivity, specificity, positive predictive value, negative predictive value and overall accuracy were calculated.

RESULTS

Two hundred and thirty patients were recruited into the study. Twenty-eight cases were excluded from the analysis. Five cases lacked histology data. Thirteen cases could not be classified according to our gold standard for the diagnosis of *H. pylori* infection, i.e. only one positive test out of the two. Ten cases had incomplete data during the breath test analysis. Thus, a total of 202 patients were available for analysis. The mean age of the 202 patients was 49 years (range 18–80) years. There were 90 males and 112 females. All the patients were ethnic Chinese. One hundred and fourteen patients (56%) were diagnosed as *H. pylori* positive by the gold standard. Among these 114 *H. pylori* positive patients, seven (6.1%) had gastric ulcer, 16 (14.0%) had duodenal ulcer, 10 had gastric and duodenal ulcers (8.8%), one had duodenitis (0.9%) and two had gastric polyps (1.8%).

Eighty-eight patients were *H. pylori* negative by our gold standard. Among these 88 patients, six had duodenal ulcer (6.8%), two had gastric and duodenal ulcers (2.3%), one had duodenitis (1.1%), one had gastric carcinoma (1.1%), one had oesophageal carcinoma (1.1%) and one had gastric polyps (1.1%). *H. pylori* status correlated strongly with the presence of peptic ulcer diseases ($P < 0.001$).

Citric acid as a test meal for ¹³C-UBT was well tolerated by all the patients. The accuracy of the ¹³C-UBT with

variations in the DOB cut-off levels at 15, 30, 45 and 60 min are shown in Table 1. The cut-off values with the highest accuracy, including those both with and without test meals at 15, 30, 45 and 60 min were 6%, 5%, 3.5% and 3%, respectively. The best cut-off values were confirmed by ROC analysis (data not shown). The cut-off values with the highest accuracy were then used to calculate the sensitivity, specificity, positive predictive value and negative predictive value of the ¹³C-UBT at 15, 30, 45 and 60 min (Table 2). The 30 min measurement interval with the test meal gave the highest specificity, positive predictive value and accuracy for ¹³C-UBT at the cut-off value of 5%, and highest sensitivity and negative predictive value at a cut-off value of 4.5%. The 30 min measurement without a test meal gave the highest specificity and positive predictive value at both cut-off values of 4.5 and 5% (Table 2). The highest accuracy at 30 min measurement interval

Table 1. Accuracies of the ¹³C-urea breath tests (with/without test meal) with different cut-off values at 15, 30, 45 and 60 min

Cut-off value (δ)	15 min		30 min		45 min		60 min	
	+	–	+	–	+	–	+	–
3	91.6	82.2	94.1	91.6	94.8	95.8	95.8	95.9
3.5	91.6	86.6	95.5	93.6	95.9	96.9	93.7	94.8
4	92.6	89.6	96.0	96.0	94.8	96.9	94.7	93.8
4.5	92.6	91.1	96.0	96.0	93.8	94.8	93.7	93.8
5	92.6	91.1	97.0	96.0	93.8	94.8	92.6	91.8
5.5	94.1	91.6	96.5	95.5	92.8	94.8	92.6	85.6
6	95.5	92.6	97.0	94.6	92.7	93.8	91.6	82.5
6.5	95.5	92.6	96.5	93.6	93.8	89.6	88.4	81.4

+: with test meal; –: without test meal.

Figures in bold denote the highest score within each column.

Table 2. Sensitivities, specificities, positive and negative predictive values, and accuracies of ¹³C-urea breath test with or without test meals at different sampling time with the cut-off values determined by ROC analysis and the highest accuracy obtained from Table 1

Minutes	Cut-off Value (δ)	Sensitivity (%)		Specificity (%)		Positive predictive value (%)		Negative predictive value (%)		Accuracy (%)	
		+	–	+	–	+	–	+	–	+	–
15	6	96.5	95.6	94.3	88.6	95.7	91.6	95.4	94.0	95.5	92.6
30	5	96.5	94.7	97.7	97.7	98.2	98.2	95.6	93.5	97.0	96.0
	4.5	97.4	94.7	94.3	97.7	95.7	98.2	96.5	93.5	96.0	96.0
	4	97.3	95.6	94.3	96.6	95.7	97.3	96.5	94.4	96.0	96.0
45	3.5	94.4	96.2	97.7	97.7	98.1	98.1	93.3	95.5	95.9	96.9
60	3	94.2	96.3	97.7	95.3	98.0	96.3	93.3	95.3	95.8	95.9

+: with test meal; –: without test meal.

Figures in bold denote the highest score within each column.

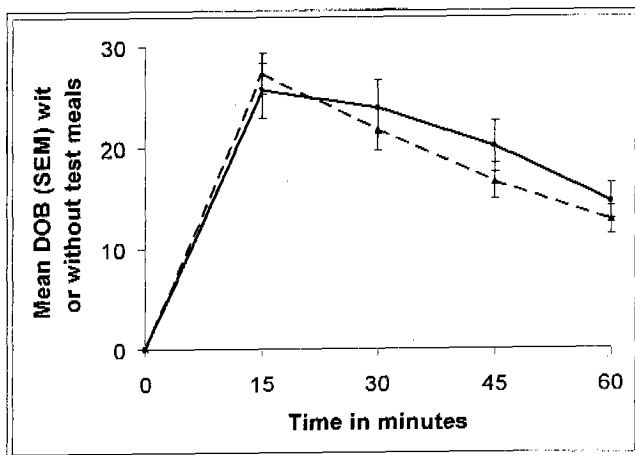


Figure 1. Mean delta over baseline (DOB) with or without test meals in *Helicobacter pylori* positive subjects over 60 min. Solid line represents ^{13}C -UBT with test meal and dotted line represents ^{13}C -UBT without test meal.

without test meal was 96% at cut-off values of 4%, 4.5% and 5%.

The mean DOB with or without a test meal in *H. pylori* positive patients at different sampling times is plotted in Figure 1. There was no difference in the mean DOB at different sampling times with respect to the use of test meal or not. Furthermore, there was no difference in the mean peak DOB either with or without a test meal in *H. pylori* positive patients as well as in *H. pylori* negative patients. The mean time to peak DOB with or without test meal is shown in Figure 2. The mean time to peak DOB was significantly longer in *H. pylori* positive patients using citric acid as the test meal for ^{13}C -UBT (25.3 min vs. 19.4 min, $P = 0.018$). The use of a citric acid drink shifted the mean peak DOB towards the 30 min measurement interval.

DISCUSSION

The ^{13}C -UBT is one of the most important noninvasive methods for the detection of *H. pylori* infection. Since it was first described by Graham *et al.*, the test has been extensively modified, including variations in the dose of ^{13}C -urea, sampling time, test meal and cut-off values. The ^{13}C -urea breath test has been studied extensively in Western populations. However, relatively few reports have been published which have studied the optimal ^{13}C -UBT protocol in a Chinese population. Since *H. pylori* infection has a strong association with peptic

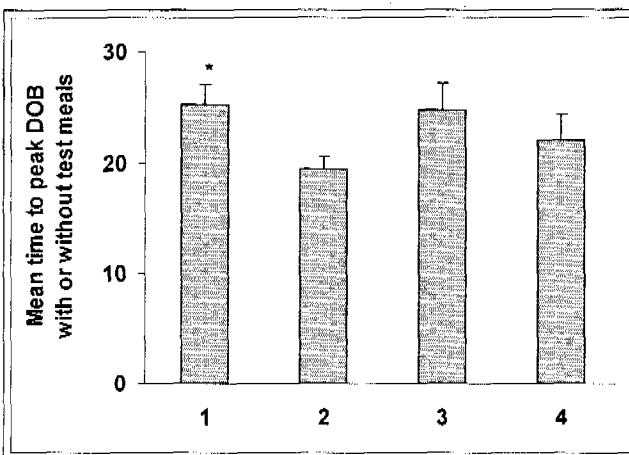


Figure 2. Mean time to peak delta over baseline (DOB) of ^{13}C -UBT with or without test meals in *Helicobacter pylori* positive and negative subjects. (Column 1, ^{13}C -UBTs with test meal in *H. pylori* positive subjects; 2, ^{13}C -UBTs without test meal in *H. pylori* positive subjects; 3, ^{13}C -UBTs with test meal in *H. pylori* negative subjects; and 4, ^{13}C -UBTs without test meal in *H. pylori* negative subjects.) * $P = 0.018$ for the comparison of time to peak DOB for ^{13}C -UBT with test meal vs. without test meal in *H. pylori* positive subjects.

ulcer diseases, gastric lymphoma and gastric cancer, which has a high prevalence in Asian populations, the establishment of an optimal ^{13}C -UBT protocol becomes an important issue in this regard.²⁴

Decreasing the dose of ^{13}C -urea permits a reduction in the cost of the test. This is particularly important for developing countries like China which has a high prevalence of *H. pylori* infection. This potentially permits a wider application of this noninvasive test for the diagnosis of *H. pylori* infection in such a high-risk region.

The sampling time of the ^{13}C -UBT has been progressively simplified since the first report by Graham *et al.* At present, there is universal agreement that two samples should be taken: one collected before, and another 30 min after the ingestion of ^{13}C -urea. We have taken a breath sample every 15 min after the intake of ^{13}C -urea for 97 patients. The best measurement period appears to be at 30 min and was well correlated with the published data (Table 2). The use of a citric acid test meal shifted the peak DOB towards the 30 min interval (Figure 2) but there was no statistical difference between the mean DOB with or without test meal at 15, 30, 45 and 60 min (Figure 1).

A commonly used cut off value between *H. pylori* infected subjects and *H. pylori* uninfected subjects for this low dose 75 mg ¹³C-urea protocol is 4%.¹² In the present study, the highest accuracy at 30 min measurement interval was 97% (cut-off values of 5% and 6%) for ¹³C-UBT with the test meal and 96% (cut-off values of 4%, 4.5% and 5%) for ¹³C-UBT without the test meal. The highest accuracy for UBT without the test meal was 96.9% at the 45 min interval, using a cut off value of 3.5%. This has to be balanced against practicality, operator time and patient convenience. We therefore conclude that in our Chinese population, the best cut off value for a low dose 75 mg ¹³C-urea protocol with a test meal at 30 min is 5%, while the best cut off value for that without a test meal at 30 min is the same, from 4 to 5%. For simplicity, we advocate that the cut off value for breath tests with or without a test meal should be 5%.

The use of a test meal in the ¹³C-UBT was employed to increase the residence time of the ¹³C-urea in the stomach and to improve the contact between urease produced by *H. pylori* and the substrate. A number of different test meals have been suggested. Recently, citric acid has been suggested as the best liquid test meal.^{12, 25} Graham *et al.* evaluated the effect of citric acid as a test meal for the ¹³C-UBT and found a dose-response relationship between the mean DOB and the amount of citrate used.²¹ The optimal dose of citric acid suggested by their study was around 1–2 Gm. A further modification of the ¹³C-UBT, such as the omission of a test meal has also been suggested. ¹³C-UBT in the fasting state produced comparable sensitivity and specificity with other ¹³C-UBT protocols using a test meal.^{22, 23} The dose of ¹³C-urea used in the two published ¹³C-UBT studies which did not use a test meal were 100 mg and 125 mg. Our study is the first to evaluate and compare the low dose 75 mg ¹³C-urea breath test protocol without a test meal vs. citric acid (2.4 Gm), which has been proposed as the best test meal. Our findings suggested that the ¹³C-UBT in a fasting state has equally reliable and excellent results in the diagnosis of *H. pylori* infection in a Chinese population. Atherton *et al.* evaluated the effect of test meals on intragastric distribution of urea and suggested that ¹³C-UBT without a test meal may mainly reflect antral urease activity.²⁶ Although the use of a test meal allowed a better delivery of urea solution to the gastric body and fundus, the contribution of urease in the body and fundus appeared to be small in their study.

Furthermore, simplifying the ¹⁴C-urea breath test studies by others have already shown that omitting the test meal was a feasible option and gave a satisfactory sensitivity and specificity.^{27, 28} It has been shown that ¹³C-UBTs at 10 min were unaffected by the use of test meal while values were significantly greater at 30 min and later in their study.²⁶ However, the mean DOB was similar between ¹³C-UBTs with or without a test meal at all time intervals in our study. It appears that the distribution, delivery and emptying of ¹³C-urea may be different in Chinese populations. An analogous situation was observed in the acid secretory pattern in an earlier study reported by us, in which acid output was significantly greater in the Scottish population compared to Chinese, both in normal controls and duodenal ulcer patients.²⁹ It will be interesting to perform an isotope-labelled urea study in the Chinese population to study the distribution, delivery and emptying of ¹³C-urea as described by Atherton *et al.*²⁶

In conclusion, we have shown that for a low dose 75 mg ¹³C-urea breath test protocol with or without a test meal, the optimal measurement interval was 30 min and the optimal DOB cut-off value was 5%. This low dose protocol without a test meal was highly accurate in the diagnosis of *H. pylori* infection in a Chinese population. This simplified protocol is more practical and economical in Asia and may become the standard protocol in Chinese populations and other parts of Asia.

ACKNOWLEDGEMENT

This study was supported by the Peptic Ulcer Research Fund and the Simon KY Lee Gastroenterology Research Fund, University of Hong Kong, Queen Mary Hospital, Hong Kong. We would like to thank Nurse Specialist M. Chong, and Endoscopy Nurses Y. C. Fan, V. S. Y. Tang, M. Y. Lee, K. K. Chang and H. S. Lee for their nursing assistance and providing care to the patients and senior technician Ms E. Kwok for technical assistance.

REFERENCES

- 1 Logan RPH, Polson RJ, Misiewicz JJ, *et al.* Simplified single sample ¹⁴Carbon urea breath test for *Helicobacter pylori*: comparison with histology, culture, and ELISA serology. Gut 1991; 32: 1461–4.
- 2 Logan RPH, Dill S, Bauer FE, *et al.* The European ¹³C-urea breath test for the detection of *Helicobacter pylori*. Eur J Gastroenterol Hepatol 1991; 3: 915–21.

- 3 Eggers RH, Kulp A, Tegeler R, *et al.* A methodological analysis of the ^{13}C -urea breath test for detection of *Helicobacter pylori* infections: high sensitivity and specificity within 30 min using 75 mg of ^{13}C -urea. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 1990; 2: 437-44.
- 4 Lotterer E, Ramaker J, Ludtke FE, Tegeler R, Geletneky JV, Bauer FE. The simplified ^{13}C -urea breath test - one point analysis for detection of *Helicobacter pylori* infection. *Z Gastroenterol* 1991; 29: 590-4.
- 5 Graham DY, Klein PD, Evans DJ Jr., *et al.* *Campylobacter pylori* detected noninvasively by the ^{13}C -urea breath test. *Lancet* 1987; 1: 1174-7.
- 6 Goddard AF, Logan RPH. Review article: urea breath tests for detecting *Helicobacter pylori*. *Aliment Pharmacol Ther* 1997; 11: 641-9.
- 7 Savarino V, Mela GS, Zentilin P, *et al.* Comparison of isotope ratio mass spectrometry and nondispersive isotope-selective infrared spectroscopy for ^{13}C -urea breath test. *Am J Gastroenterol* 1999; 94: 1203-8.
- 8 Klein PD, Graham DY. Minimum analysis requirements for the detection of *Helicobacter pylori* infection by the ^{13}C -urea breath test. *Am J Gastroenterol* 1993; 88: 1865-9.
- 9 Cutler AF, Havstad S, Ma CK, Blaser MJ, Perez-Perez GI, Schubert TT. Accuracy of invasive and noninvasive tests to diagnose *Helicobacter pylori* infection. *Gastroenterology* 1995; 109: 136-41.
- 10 Savarino V, Vigneri S, Celle G. The ^{13}C urea breath test in the diagnosis of *Helicobacter pylori* infection. *Gut* 1999; 45 (Suppl. 1): I18-22.
- 11 Klein PD, Malaty HM, Martin RF, Graham KS, Genta RM, Graham DY. Non-invasive detection of *Helicobacter pylori* infection in clinical practice: the ^{13}C urea breath test. *Am J Gastroenterol* 1996; 91: 690-4.
- 12 Dominguez-Muñoz JE, Leodolter A, Sauerbruch T, Malfertheiner P. A citric acid solution is an optimal test drink in the ^{13}C -urea breath test for the diagnosis of *Helicobacter pylori* infection. *Gut* 1997; 40: 459-62.
- 13 Kasho VN, Cheng S, Jensen DM, Ajie H, Lee WN, Faller LD. Feasibility of analysing ^{13}C urea breath tests for *Helicobacter pylori* by gas chromatography-mass spectrometry in the selected ion monitoring mode. *Aliment Pharmacol Ther* 1996; 10: 985-95.
- 14 Lotterer E, Ramaker J, Ludtke FE, Tegeler R, Geletneky JV, Bauer FE. The simplified ^{13}C -urea breath test - one point analysis for detection of *Helicobacter pylori* infection. *Z Gastroenterol* 1991; 29: 590-4.
- 15 Perri F, Maes B, Geypens B, Ghooys Y, Hiele M, Rutgeerts P. The influence of isolated doses of drugs, feeding and colonic bacterial ureolysis on urea breath test results. *Aliment Pharmacol Ther* 1995; 9: 705-9.
- 16 Ellenrieder V, Glasbrenner B, Stoffels C, *et al.* Qualitative and semi-quantitative value of a modified ^{13}C -urea breath test for identification of *Helicobacter pylori* infection. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 1997; 9: 1085-9.
- 17 Epple HJ, Kirstein FW, Bojarski C, *et al.* ^{13}C -urea breath test in *Helicobacter pylori* diagnosis and eradication. Correlation to histology, origin of 'false' results, and influence of food intake. *Scand J Gastroenterol* 1997; 32: 308-14.
- 18 Mion F, Rosner G, Rousseau M, Minaire Y. ^{13}C -urea breath test for *Helicobacter pylori*: cut-off point determination by cluster analysis. *Clin Sci (Colch)* 1997; 93: 3-6.
- 19 Dill S, Payne-James JJ, Misiewicz JJ, *et al.* Evaluation of ^{13}C -urea breath test in the detection of *Helicobacter pylori* and in monitoring the effect of tripotassium dicitratobismuthate in non-ulcer dyspepsia. *Gut* 1990; 31: 1237-41.
- 20 Braden B, Duan LP, Caspary WF, Lembcke B. More convenient ^{13}C -urea breath test modifications still meet the criteria for valid diagnosis of *Helicobacter pylori* infection. *Z Gastroenterol* 1994; 32: 198-202.
- 21 Graham DY, Runke D, Anderson SY, Malaty HM, Klein PD. Citric acid as the test meal for the ^{13}C -urea breath test. *Am J Gastroenterol* 1999; 94: 1214-7.
- 22 Miwa H, Murai T, Ohkura R, *et al.* Usefulness of the ^{13}C -urea breath test for the detection of *Helicobacter pylori* infection in fasting patients. *J Gastroenterol Hepatol* 1998; 13: 1039-43.
- 23 Malaty HM, El-Zimaity HMT, Genta RM, Klein PD, Graham DY. Twenty-minute fasting, Version of the US ^{13}C -urea breath test for the diagnosis of *H. pylori* infection. *Helicobacter* 1996; 1: 165-7.
- 24 Wong BC, Ching CK, Lam SK, *et al.* Differential north to south gastric cancer-duodenal ulcer gradient in China. China Ulcer Study Group. *J Gastroenterol Hepatol* 1998; 13: 1050-7.
- 25 Axon A, Moayyedi P, Sahay P. Whom, how and when to test for *Helicobacter pylori* infection. In: Hunt RH, Tytgat GNJ, eds. *Helicobacter pylori* basic mechanisms to clinical cure. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 1996: 269-85.
- 26 Atherton JC, Washington N, Blackshaw PE, *et al.* Effect of a test meal on the intragastric distribution of urea in the ^{13}C -urea breath test for *Helicobacter pylori*. *Gut* 1995; 36: 337-40.
- 27 Marshall BJ, Plankey MW, Hoffman SR, *et al.* A 20-minute breath test for *Helicobacter pylori*. *Am J Gastroenterol* 1991; 86: 438-45.
- 28 Debonnie JC, Pauwels S, Raat A, *et al.* Quantification of *Helicobacter pylori* infection in gastritis and ulcer disease using a simple and rapid carbon-14-urea breath test. *J Nucl Med* 1991; 32: 1192-8.
- 29 Lam SK, Hasan M, Sircus W, Wong J, Ong GB, Prescott RJ. Comparison of maximal acid output and gastrin response to meals in Chinese and Scottish normal and duodenal ulcer subjects. *Gut* 1980; 21: 324-8.

Comparison between a new ^{13}C -urea breath test, using a film-coated tablet, and the conventional ^{13}C -urea breath test for the detection of *Helicobacter pylori* infection

SHUICHI OHARA¹, MOTOTSUGU KATO², MASAO SAITO³, SHINSAKU FUKUDA⁴, CHIEKO KATO⁵, SHIRO HAMADA⁶, RYUICHI NAGASHIMA⁷, KATSUTOSHI OBARA⁸, MASAYUKI SUZUKI⁹, HIROHITO HONDA¹⁰, MASAHIRO ASAKA¹¹, and TAKAYOSHI TOYOTA¹²

¹Health Administration Center, Tohoku University, Division of Gastroenterology, Tohoku University School of Medicine, 1-1 Seiryō-cho, Aoba-ku, Sendai 980-8574, Japan

²Division of Endoscopy, Hokkaido University Hospital, Sapporo, Japan

³Department of Gastroenterology, Sapporo Hokuyu Hospital, Sapporo, Japan

⁴Department of Endoscopy, Hirosaki University School of Medicine, Hirosaki, Japan

⁵First Department of Internal Medicine, Iwate Medical University School of Medicine, Morioka, Japan

⁶Department of Gastroenterology, Tohoku Rosai Hospital, Sendai, Japan

⁷Second Department of Internal Medicine, Yamagata University School of Medicine, Yamagata, Japan

⁸Second Department of Internal Medicine, Fukushima Medical College, Fukushima, Japan

⁹Department of Gastroenterology, Tokyo Medical Center of the National Hospital, Tokyo, Japan

¹⁰Second Department of Internal Medicine, Tokushima University School of Medicine, Tokushima, Japan

¹¹Department of Gastroenterology, Hokkaido University Graduate School of Medicine, Sapporo, Japan

¹²Tohoku Rosai Hospital, Sendai, Japan

Background. In Japan, urea breath-testing includes mouth rinsing with water immediately after the ingestion of ^{13}C -urea solution, to prevent false-positive results that are caused by oral bacteria with urease activity. Our objective was to evaluate the diagnostic performance of a urea breath test using a film-coated ^{13}C -urea tablet and omitting mouth rinsing. **Methods.** The study was a multicenter trial comparing the solution- and tablet-based urea breath tests (UBTs). *Helicobacter pylori* status was determined by histology, culture, and rapid urease testing. **Results.** Of the 255 subjects who completed the study, evaluation of the tablet-based UBT was possible in 254, and comparison of the tablet-based UBT and the solution-based UBT was possible in 250 patients. When the assessment achieved by a combination of biopsy-based methods was used as a reference standard, the sensitivity, specificity, and accuracy of the tablet-based method were determined to be 97.7%, 98.4%, and 98.0%, respectively. When the results of the solution-based UBT were used as a reference standard, the sensitivity, specificity, and accuracy of the tablet-based UBT were determined to be 96.9%, 97.6%, and 97.2%, respectively. **Conclusions.** The ^{13}C -urea tablet-based method proved to be a simple and accurate test for the diagnosis of *H. Pylori* infection. Mouth rinsing was not required.

Key words: *Helicobacter pylori*, ^{13}C -urea breath test, ^{13}C -urea, tablet

Introduction

The ^{13}C -urea breath test (^{13}C -UBT), first described by Graham et al.¹ in 1987, is currently considered the most reliable noninvasive test for *Helicobacter pylori* infection^{2–6} and has been promoted as a “gold standard” for confirming eradication.^{7–9} However, although the ^{13}C -UBT is currently performed in a variety of ways, there have been few investigations to evaluate the diagnostic performance of the ^{13}C -UBT in a large number of subjects using a combination of other diagnostic methods as a reference standard.

In certain people, indigenous bacteria with urease activity exist in the oral cavity. If residual ^{13}C -urea is present in the oral cavity, a nonspecific peak of $^{13}\text{CO}_2$ ($\Delta^{13}\text{C}$) will appear in the initial phase and may then lead to false-positive results.^{3,10,11} On the other hand, it has been reported that encapsulated or tableted ^{14}C -urea and ^{13}C -urea enabled urea breath-testing within 10 min after administration, without any effect from urease-producing bacteria.^{3,10,12} However, of these reports, only the report by Hamlet et al.¹² stated the results of a comparison of the breath response time-course between urea breath tests using encapsulated or tableted ^{14}C -urea and ^{13}C -urea and the conventional solution-based UBT. Compared with the solution-based UBT, the breath tests using encapsulated or tableted ^{14}C -urea and

309 35
294

^{13}C -urea may have disadvantageous features, in that: (i) the encapsulated or tableted urea may take some time to dissolve and react to urease, and (ii) these formulations of urea may be passed out into the duodenum before dissolving. Therefore, it is important to compare the breath response time-course between the two types of UBTs.

Our previous study demonstrated that reliable diagnostic performance of a breath test was attained by mouth rinsing two to three times immediately after the ingestion of a ^{13}C -urea solution, to remove the residual ^{13}C -urea in the oral cavity.¹³ A newly developed ^{13}C -urea tablet (the UBIT tablet) is a film-coated tablet, containing 100 mg of ^{13}C -urea, and is designed to be insoluble in the oral cavity after oral administration, but readily soluble in the stomach. The present multicenter study was designed (i) to clarify the characteristics of the tablet-based UBT, by comparing the time-course of the breath-response curve for a UBT using film-coated UBIT tablets with that of the conventional solution-based UBT, and (ii) to evaluate the diagnostic performance of the tablet-based UBT, using a combination of biopsy-based methods and the solution-based UBT as reference standards.

Methods

Subjects

This multicenter, open-label study was performed at ten study sites, with 260 patients aged 20 years or over who were scheduled to undergo upper endoscopic examinations. All patients had submitted their written consent to participate in the study. It was designed as a two-period, two way crossover comparative study in which the tablet-based UBT and the solution-based UBT were conducted in a fixed order as assigned for each study site. The period-I ^{13}C -UBT and the upper endoscopic examination (assessment of *H. pylori* infection using combined biopsy-based methods) were performed within 17 days after predose examination. After a washout period of 3–17 days, the period-II test was conducted. The postdose examination was performed within 1–17 days after the period-II test. When not performed on the same day as the period-I ^{13}C -UBT, the upper endoscopic examination was performed prior to the subject's coming to the hospital for the period-II test (on the day of the visit in some cases). Patients who had undergone antibacterial therapy for the eradication of *H. pylori*, those who had taken proton pump inhibitors, and those who had taken antibacterial drugs, bismuth preparations, or ecabet sodium preparations within 4 weeks before the start of the study, were excluded from the study population. All patients participated in the study between June 2000 and February 2001.

Biopsy-based methods

During the endoscopic examination, samples for biopsy were collected from the greater curvature of the antrum and the corpus of the stomach. For each of the samples, a culture (Mitsubishi Kagaku Bio-Clinical Laboratories; MBCL, Tokyo, Japan), histological examination (Professor Hidenobu Watanabe, First Department of Pathology, Faculty of Medicine, Niigata University), and rapid urease test (Helicocheck; Otsuka Pharmaceuticals, Tokyo, Japan) were performed. For the assessment by histological examination, hematoxylin-eosin-stained, Giemsa-stained, and immunohistochemically stained (anti-*H. pylori* antibody; D417, Dako, Copenhagen, Denmark) specimens were used. On the overall biopsy assessment, subjects who showed a positive test result at either one of the two biopsy sites were assessed as *H. pylori*-positive, and those who showed negative results at both of the sites were assessed as *H. pylori*-negative.

Criteria for assessment of *H. pylori* infection and noninfection in biopsy-based methods

Assessment of *H. pylori* infection in each subject was performed according to the FDA assessment standard for pre-eradication of *H. pylori*.¹⁴ In brief, subjects who tested positive on the culture test or positive on both the rapid urease test and the histological examination were assessed as *H. pylori*-infected. On the other hand, subjects who tested negative on the culture test and on at least one of the other biopsy methods (histological examination, rapid urease test) were assessed as *H. pylori*-noninfected.

^{13}C -UBT

The solution-based UBT was performed according to the method previously reported.¹³ In brief, one sachet of UBIT (containing 100 mg of ^{13}C -urea; developed by Otsuka Pharmaceuticals) was dissolved in 100 ml of water and given to the subjects while they were in a fasting condition. The subjects rinsed their mouths two to three times with water immediately after administration to remove the residual ^{13}C -urea in the oral cavity. Subsequently, they remained in the left lateral decubitus position for 5 min and in a sitting position thereafter. Breath sampling was performed with natural breathing, six times in total, i.e., at the predosing stage, and 5, 10, 15, 20, and 30 min after administration, using a breath bag designed exclusively for sampling. For the tablet-based UBT, a single UBIT tablet (containing 100 mg of ^{13}C -urea) was ingested with 100 ml of water. The test was performed in the same way as the solution-based UBT, except for the omission of mouth-rinsing with water after administration. The $^{13}\text{CO}_2$ level ($^{13}\text{CO}_2/\text{CO}_2$)

$^{12}\text{CO}_2$) in the breath was measured before and after administration of the tablet, using a mass spectrometric analyzer (ABCA-G; Europa Scientific, Crewe, UK) and the change from the preadministration value ($\Delta^{13}\text{C}$: ‰) was calculated.

Assessment of *H. pylori* infection by the ^{13}C -UBT

Assessment of *H. pylori* infection was performed according to the criteria reported previously, i.e., when the $\Delta^{13}\text{C}$ at 20 min after administration of urea was 2.5‰ or more, the patient was assessed as *H. pylori*-positive. When it was below 2.5‰, the patient was assessed as *H. pylori*-negative.¹³

Safety examination

To examine the safety of ^{13}C -urea, the subjects' physical signs and symptoms were examined before and after the breath test on the days of the predose and postdose examinations in both period I and period II. In addition, clinical laboratory tests were performed during the predose and postdose examinations. Subsequently, 259 patients were included for safety evaluation.

Results

Among the 260 subjects included in this study, there were a number in whom assessment of *H. pylori* infection by biopsy could not be performed, or for whom errors were made in the conducting of the ^{13}C -UBT. As a result, 255 subjects were included in the efficacy analysis. Of these 255 subjects, 254 were included in the evaluation of the diagnostic performance of the tablet-based UBT, using the results of biopsy-based methods as a reference standard; 251 subjects were included in the evaluation of the solution-based UBT; and 250 subjects were included in the evaluation of both the tablet-based UBT and the solution-based UBT.

Patients' backgrounds

The 255 patients subjected to efficacy analysis included 122 men and 133 women, aged 20–80 years (mean age, 48.4 years). The endoscopic diagnosis revealed gastritis (135 cases), gastric ulcer (64 cases), duodenal ulcer (44 cases), gastric cancer (3 cases), endoscopic normality (45 cases), and other conditions (38 cases; Table 1). Some patients had more than one disease.

Table 1. Patients' backgrounds

		Patients for efficacy analysis
Item	Classification	No. of patients (%)
Number of patients		255
Age (years)	20-29	52 (20.4)
	30-39	26 (10.2)
	40-49	45 (17.6)
	50-59	62 (24.3)
	60-64	19 (7.5)
	65-80	51 (20.0)
	Min.-Max.	20-80
	Mean $\pm$ SD	48.4 $\pm$ 16.3
Sex	Male	122 (47.8)
	Female	133 (52.2)
Disease ^a	Gastritis	135 (52.9)
	Gastric ulcer	64 (25.1)
	Duodenal ulcer	44 (17.3)
	Gastric cancer	3 (1.2)
	Endoscopically normal	45 (17.6)
	Other	38 (14.9)

Note: All the patients were Asian

^aSome patients had more than one disease

Assessment of *H. pylori* infection using biopsy-based methods or the solution-based UBT in the subjects who were included in the evaluation of the diagnostic performance of the tablet-based UBT

Based on the results of the biopsy-based methods, 130 subjects were assessed as *H. pylori*-infected and 124 as noninfected, whereas with the solution-based UBT, 127 subjects were assessed as *H. pylori*-infected and 123 as noninfected.

Comparison of the tablet-based UBT and the solution-based UBT, using the breath-response curve

The subjects were categorized into two groups, the *H. pylori*-infected group and the *H. pylori*-noninfected group, based on the results of diagnosis using the combined biopsy-based methods. Figure 1 shows the box plot of changes in the $\Delta^{13}\text{C}$ over time (breath response) for the tablet-based UBT and the solution-based UBT. In the *H. pylori*-infected group, the $\Delta^{13}\text{C}$ for the tablet-based UBT was lower than that for the solution-based UBT at 5 min ($6.92 \pm 9.55\%$ versus $20.17 \pm 14.67\%$) and 10 min ($21.74 \pm 19.08\%$ versus $30.84 \pm 22.04\%$), but almost equivalent at 15 min ($30.88 \pm 24.59\%$ versus $35.23 \pm 27.35\%$). The $\Delta^{13}\text{C}$ peaked at 20 min for both methods ($35.76 \pm 29.96\%$ versus $36.38 \pm 31.47\%$).

In the *H. pylori*-non-infected group, there was no subject in whom the $\Delta^{13}\text{C}$ exceeded the cutoff level (2.5‰) within 10 min after administration of the UBT

311 37
296

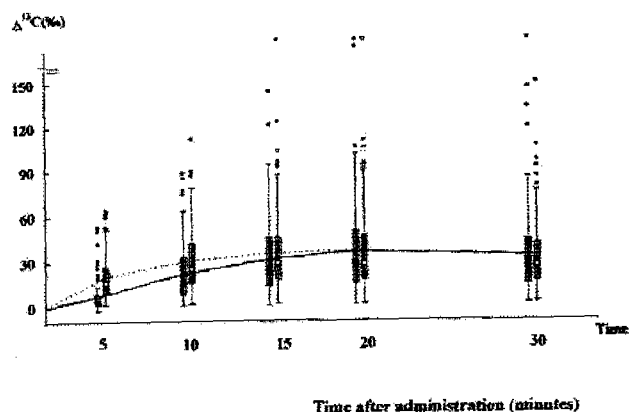


Fig. 1. Comparison of tablet-based urea breath test (UBT) and solution-based UBT, using the breath-response curve in *Helicobacter pylori*-infected subjects. Solid line, tablet-based UBT; dotted line, solution-based UBT. The lines attached to the boxes connect the mean values, at each time after administration. The medians of data are denoted by marks (closed and open circles) within each box, whose lower and upper boundaries are the 25th and 75th percentiles. The two hairlines extend from the top and the bottom of each box to the farthest values within the bounds of not more than 1.5 times the box lengths. The values beyond 1.5 times the box length are plotted as outliers

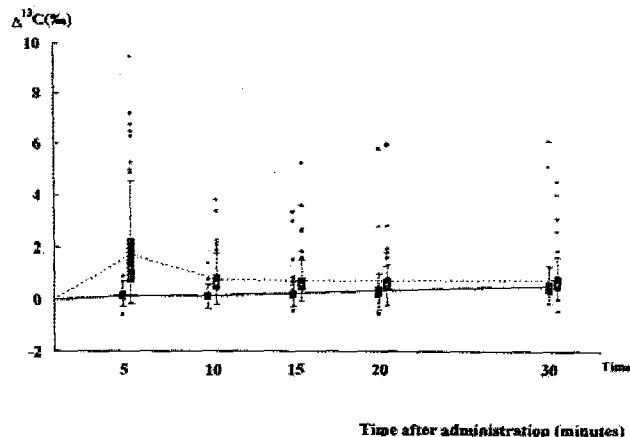


Fig. 2. Comparison of tablet-based UBT and solution-based UBT, using the breath-response curve in *H. pylori*-noninfected subjects. Solid line, tablet-based UBT; dotted line, solution-based UBT. The lines attached to the boxes connect the mean values at each time after administration. The medians of data are denoted by marks (closed and open diamonds) within each box, whose lower and upper boundaries are the 25th and 75th percentiles. The two hairlines extend from the top and the bottom of each box to the farthest values within the bounds of not more than 1.5 times the box lengths. The values beyond 1.5 times the box length are plotted as outliers

tablets (Fig. 2). However, after administration of the ^{13}C -urea in solution, there were 28 subjects in whom the $\Delta^{13}\text{C}$ exceeded 2.5‰ at 5 min, in spite of the mouth rinsing immediately after administration. The $\Delta^{13}\text{C}$ at 20 min (the assessment time) was $0.35 \pm 0.60\text{‰}$ for the tablet-based UBT and $0.72 \pm 0.79\text{‰}$ for the solution-based UBT.

Evaluation of the diagnostic performance of the tablet-based UBT for the detection of *H. pylori* infection

The diagnostic performance of the tablet-based UBT for the detection of *H. pylori* infection, which was evaluated at each breath-sampling time, using the diagnosis by the combined biopsy-based methods as a reference standard and a cutoff value of 2.5‰, is shown in Table 2. At 5 min after ingestion, of the 130 patients diagnosed as *H. pylori*-positive, there were 52 false-negative cases (sensitivity, 60.0%). Of the 124 patients diagnosed as *H. pylori*-negative, there were no cases that exceeded the cutoff value of 2.5‰ (specificity, 100%), with accuracy at 79.5%. At 10 min after ingestion there were 10 false-negative cases among the *H. pylori*-infected patients (sensitivity, 92.3%), and all of the 124 *H. pylori*-negative patients showed $\Delta^{13}\text{C}$ values below 2.5‰ (specificity, 100%), with accuracy at 96.1%. At 15 min, sensitivity, specificity, and accuracy were, respectively, 96.9%, 98.4%, and 97.6%. At 20 min, sensitivity, specificity, and accuracy were, respectively, 97.7%, 98.4%, and 98.0%.

At 30 min, sensitivity, specificity, and accuracy were, respectively, 97.7%, 98.4%, and 98.0%.

Evaluation of the diagnostic performance of the solution-based UBT for detection of *H. pylori* infection

The diagnostic performance of the solution-based UBT for detection of *H. pylori* infection, which was evaluated using the diagnosis by the combined biopsy-based methods as a reference standard, is shown in Table 3. Of the 128 patients who were assessed as *H. pylori*-positive by the combined biopsy-based methods, 125 were assessed as *H. pylori*-positive by the solution-based UBT. On the other hand, of 123 patients who were assessed as *H. pylori*-negative by the combined biopsy-based methods, 120 were assessed as *H. pylori*-negative by the solution-based UBT. The diagnostic performance of the solution-based UBT was 97.7% for sensitivity, 97.6% for specificity, and 97.6% for accuracy.

Evaluation of the diagnostic performance of the tablet-based UBT for *H. pylori* infection based on the results of the solution-based UBT

Table 4 shows the diagnostic performance of the tablet-based UBT for detection of *H. pylori* infection, based on the results of the conventional solution-based UBT. Of the 127 patients who were assessed as *H. pylori*-

3238
297**Table 2.** Diagnostic performance of the table-based urea breath test (UBT) in assessment of *Helicobacter pylori* infection at each breath-sampling time

Tablet-based UBT	Biopsy-based methods		Total	Sensitivity; % (95% CI) Specificity; % (95% CI) Accuracy; % (95% CI)
	Infected	Noninfected		
5 Min				
Positive	78	0	78	60.0 (51.1–68.5)
Negative	52	124	176	100.0 (97.1–100.0)
Total	130	124	254	79.5 (74.0–84.3)
10 Min				
Positive	120	0	120	92.3 (86.3–96.3)
Negative	10	124	134	100.0 (97.1–100.0)
Total	130	124	254	96.1 (92.9–98.1)
15 Min				
Positive	126	2	128	96.9 (92.3–99.2)
Negative	4	122	126	98.4 (94.3–99.8)
Total	130	124	254	97.6 (94.9–99.1)
20 Min				
Positive	127	2	129	97.7 (93.4–99.5)
Negative	3	122	125	98.4 (94.3–99.8)
Total	130	124	254	98.0 (95.5–99.4)
30 Min				
Positive	127	2	129	97.7 (93.4–99.5)
Negative	3	122	125	98.4 (94.3–99.8)
Total	130	124	254	98.0 (95.5–99.4)

CI, confidence interval

Table 3. Diagnostic performance of solution-based UBT for detection of *H. pylori* infection

Solution-based UBT	Biopsy-based methods		Total
	Infected	Noninfected	
Positive	125	3	128
Negative	3	120	123
Total	128	123	251

Sensitivity, 97.7% (95% CI, 93.3–99.5); specificity, 97.6% (95% CI, 93.0–99.5); accuracy, 97.6% (95% CI, 94.9–99.1)

Table 4. Diagnostic performance of the tablet-based UBT for detection of *H. pylori* infection, based on the results from the solution-based UBT

Tablet-based UBT	Solution-based UBT		Total
	Positive	Negative	
Positive	123	3	126
Negative	4	120	124
Total	127	123	250

Sensitivity, 96.9% (95% CI, 92.1–99.1); specificity, 97.6% (95% CI, 93.0–99.5); accuracy, 97.2% (95% CI, 94.3–98.9)

positive by the solution-based UBT, 123 were also assessed as positive by the tablet-based UBT. On other hand, of the 123 patients who were assessed as *H. pylori*-negative by the solution-based UBT, 120 were assessed as negative by the tablet-based UBT. The diagnostic performance of the tablet-based UBT was 96.9% for sensitivity, 97.6% for specificity, and 97.2% for accuracy.

Discrepant results

There were nine patients in whom either the results of the tablet-based UBT differed from those of the solution-based UBT or the results of the tablet-based

UBT differed from those of the biopsy-based methods (Table 5). There were three false-positive cases for the solution-based UBT and two false-positive cases for the tablet-based UBT. It is of note that one of the two patients showing false-positive results in both UBTs showed a positive result on histological examination of the sample collected from the corpus. The remaining patients with false-positive results showed a $\Delta^{13}\text{C}$ of 2.83‰ in the solution-based UBT, very near the cutoff value, and a $\Delta^{13}\text{C}$ of 0.2‰ in the tablet-based UBT. There were three false-negative cases in both the tablet-based UBT and the solution-based UBT.

Table 5. Patients with discrepant results, where results of either or both UBTs differed from those of biopsy-based methods

Case no.	S-UBT ($\Delta^{13}\text{C}\text{‰}$)	T-UBT ($\Delta^{13}\text{C}\text{‰}$)	Culture			Histology			RUT			Infection status
			Ant	Cor	Assess	Ant	Cor	Assess	Ant	Cor	Assess	
1	+(5.90)	+(2.79)	—	—	—	—	+	+	—	—	—	Noninfected
2	+(5.97)	+(5.76)	—	—	—	—	—	—	—	UA	UA	Noninfected
3	+(2.83)	—(0.20)	—	—	—	—	—	—	—	—	—	Noninfected
4	+(8.87)	—(2.02)	+	—	+	+	+	+	—	—	—	Infected
5	+(15.27)	—(2.03)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	Infected
6	+(27.71)	—(0.90)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	Infected
7	—(2.13)	+(10.72)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	Infected
8	—(1.36)	+(2.72)	+	+	+	+	—	+	—	—	—	Infected
9	—(2.35)	+(4.09)	+	+	+	+	+	+	—	+	+	Infected

+, *H. pylori*-positive; —, *H. pylori*-negative; S-UBT, solution-based UBT; T-UBT, tablet-based UBT; RUT, rapid urease test; infection status, diagnosis using combined biopsy-based methods; UA, unassessable; Ant, antrum; Cor, corpus; Assess, overall assessment; $\Delta^{13}\text{C}$, value at 20 min after administration of the study drug

Safety evaluation

The adverse reactions observed in a total of 259 subjects were abdominal distension (2 cases), an increase in blood potassium (2 cases), diarrhea (1 case), loose stools (1 case), an increase in white blood cells (WBC; 1 case), and a decrease in WBC (1 case). However, none of these reactions require any special treatment.

Discussion

There have been reports stating urease-producing bacteria are present in the oral cavity,^{15–17} which may lead to false-positive results if breath samples are collected soon after administration of ^{13}C -urea in solution.^{2,3,18} Therefore, in with most ^{13}C -urea breath-testing, a study meal is given to patients to delay the excretion of ^{13}C -urea from the stomach,^{2,6} and an interval of 20–30 min is allowed to elapse between the administration and the breath-sampling time. Furthermore, mouth-rinsing is performed by the subject immediately after administration to remove the residual urea.^{11,13} On the other hand, it has also been reported that new approaches in drug formulation (encapsulated or tableted urea) have successfully overcome the effect of the urease activity of oral bacteria, enabling the successful implementation of the UBT within 10 min after drug administration, without the need for a study meal.^{3,10,12} These approaches require a drug with the pharmaceutical properties of being insoluble in the oral cavity but readily soluble in the stomach. To confirm these pharmaceutical properties in such urea products, the time-course of the breath-response curve after ingestion of the products needs to be examined.

In this study, when the solution-based UBT was conducted, many cases in which the $\Delta^{13}\text{C}$ level exceeded 2.5‰ (the cutoff value) at 5 min after administration

were observed in *H. pylori*-noninfected subjects, in spite of the mouth-rinsing they performed immediately after the UBT administration to remove residual ^{13}C -urea. This finding suggests the possibility that, at certain sampling times, false-positive results may be obtained from a UBT in which urea is administered as a solution. Another possibility, especially in actual clinical settings, is that mouth-rinsing may be delayed or may not be performed properly. The use of citric acid enhances the urease activity of *H. pylori*, and reduces the effect of oral bacteria.^{19–21} However, citric acid solution is bitter and therefore unpleasant to take.²²

The newly developed UBT tablet is a film-coated tablet designed to be insoluble in the oral cavity after oral administration, but readily soluble in the stomach. In our 124 *H. pylori*-noninfected subjects who were administered this product, a maximum $\Delta^{13}\text{C}$ of 0.92‰ was obtained at 5 min after administration, without the patients performing mouth rinsing. Accordingly, there seems to be no possibility that false-positive results could be brought about through the influence of oral bacteria.

Unlike our tablets, the ^{13}C -urea tablets that Hamlet et al.¹² used in their study were not coated with a thin film to achieve quick dissolving in the stomach, and their tablets contained citric acid, both of which features led to the early occurrence of a peak $\Delta^{13}\text{C}$ value (10 min after administration) in *H. pylori*-infected subjects. However, $\Delta^{13}\text{C}$ values around 5‰ were also observed at 5, 10, and 20 min after administration in some *H. pylori*-noninfected subjects.¹² The appearance of the high $\Delta^{13}\text{C}$ values was considered to be due to the use of non-film-coated tables, which may have led to the result that urease-producing bacteria existing in the oral cavity or pharynx affected the breath-test result. Thus, the use of non-film-coated tablets may lead to false-positive results, just as the conventional solution-based UBT may.

31339
298

3440
299

In *H. pylori*-infected subjects, the $\Delta^{13}\text{C}$ level for the tablet-based UBT was lower than that for the solution-based UBT until 10 min after administration, due to the film coating on the tablet surface. However, the difference in $\Delta^{13}\text{C}$ had lessened by 15 min after administration. The $\Delta^{13}\text{C}$ levels for both the tablet-based UBT and the solution-based UBT peaked at 20 min.

Based on these results, it is believed that the UBIT tablets (which are film-coated) can completely overcome the influence of urease produced by oral bacteria and are readily soluble in the stomach. The effect of urease activity of organisms ingested with the water used to prepare the ^{13}C -urea solution is one of the causes of false-positive results,²⁰ but this is considered to have only a minor effect on the test.

Consequently, UBIT tablets are expected to be especially useful in efficacy assessment of bacteria eradication therapy, for which false-positive results are currently causing a serious problem.

In the total of 254 subjects in whom the tablet-based UBT was assessable, 127 of 130 *H. pylori*-infected subjects and 122 of 124 *H. pylori*-noninfected subjects were confirmed to have been correctly assessed by the tablet-based UBT, based on the assessment made from the combined biopsy-based methods. The diagnostic performance of the tablet-based UBT, which was 97.7% for sensitivity, 98.4% for specificity, and 98.0% for accuracy, was, in each area (sensitivity, specificity, accuracy), equivalent to or higher than the diagnostic performance reported for the solution-based ^{13}C -UBT.^{4,23}

As the estimated accuracy of the tablet-based UBT was higher than 97.6% for breath samples taken beginning from 15 min after ingestion of UBIT tablets, it is considered possible to perform a simple and rapid ^{13}C -UBT, using UBIT tablets, without the need for mouth rinsing. For the three cases that were falsely assessed as negative by the tablet-based UBT, the result given by two or more kinds of biopsy-based methods, including a culture, as well as the results of the conventional solution-based UBT, were positive. In these three cases, which were considered to be true false-negatives, the $\Delta^{13}\text{C}$ values at 20 min after administration of the UBIT tablets were comparatively low, at 2.02‰, 2.03‰, and 0.90‰, respectively. These numbers suggest that the UBIT tablets may have not have remained for a sufficiently long period in the stomach, passing out into the duodenum before dissolving, thus causing the false-negative result. In addition, as a possible disadvantage of the UBIT tablets, it has been considered that the breath response may be lower than that produced by the ^{13}C -urea solution, due to the tablet's film-coated surface. However, based on the diagnosis using combined biopsy-based methods, as far as the results of this study are concerned, there was no difference in the incidence of false-negative results of this study are con-

cerned, there was no difference in the incidence of false-negative results between the tablet-based UBT and the solution-based UBT (three cases each). Therefore, it is presumed that the occurrence of false-negative results does not depend on the formulation of this agent.

Regarding the necessity for the subject to have a study meal to retain the UBIT tablet in the stomach, it may be that false-negative cases could be prevented by a study meal; however, if the UBT with a tablet can be performed simply, without the use of a study meal, with the same accuracy as that of other UBTs, including the solution-based UBIT, its advantages will outweigh the possible disadvantage of a tablet formulation hastening the excretion of urea from the stomach. It should also be noted that the use of a study meal will lead both to an increase in the study cost and to prolongation of the study period. In addition, it has been reported that the $\Delta^{13}\text{C}$ value may actually be decreased by the use of a study meal.³

Based on our assessment criteria, there were also two false-positive tablet-based UBT results. The two false-positive results with the tablet formulation were also positive with the solution-based UBT, with similar $\Delta^{13}\text{C}$ values, of 5.90‰ and 5.97‰, respectively. In one of the two patients, the histological examination of the corpus was positive but the case was assessed as negative according to the present study criteria. Therefore, it is strongly suggested that both patients were actually *H. pylori*-positive.

It has been reported that *H. pylori* may be patchily distributed in the stomach²⁴ and unable to inhabit a site with advanced intestinal metaplasia.²⁵ Consequently, it cannot be ruled out that the two patients may have been diagnosed as *H. pylori*-noninfected because of the sites from which the sample tissues were collected.

With respect to factors that may cause false-positive results, the influence of urease-producing bacteria should be taken into account.²⁶ It is possible that urease-producing bacteria, which do not generally grow in the stomach, may be overgrown in achlorhydric patients,²⁷ and that bacteria of some *Helicobacter* species other than *H. pylori*, such as *H. heilmannii*, may proliferate.^{28,29} These possibilities, which are remote in ulcer patients, may, nevertheless, be rather problematic in patients with intestinal metaplasia or gastric cancer.³

In summary, the diagnostic performance of the tablet-based UBT, for which mouth-rinsing after administration of the ^{13}C -urea can be omitted, was 97.7% for sensitivity, 98.4% for specificity, and 98.0% for accuracy. Based on these results, the tablet-based UBT is expected to be a promising rapid and simple test for the diagnosis of *H. pylori* infection and it will be as useful as the solution-based UBT.

315 41
300

References

- Graham DY, Klein PD, Evans DJ, Evans DG, Alpert LC, Opekun AR, et al. *Campylobacter pylori* detected noninvasively by the ¹³C-urea breath test. *Lancet* 1987;i:1174-7.
- Atherton JC, Spiller RC. The urea breath test for *Helicobacter pylori*. *Gut* 1994;35:723-5.
- Hamlet AK, Erlandsson KIM, Olbe L, Svennerholm AM, Backman VEM, Pettersson AB. A simple, rapid, and highly reliable capsule-based ¹⁴C urea breath test for diagnosis of *Helicobacter pylori* infection. *Scand J Gastroenterol* 1995;30:1058-63.
- Cutler AF, Havstad S, Ma CK, Blaser MJ, Perez-Perez GI, Schubert TT. Accuracy of invasive and noninvasive tests to diagnose *Helicobacter pylori* infection. *Gastroenterology* 1995;109:136-41.
- Faigel DO, Childs M, Furth EE, Alavi A, Metz DC. New noninvasive tests for *Helicobacter pylori* gastritis: comparison with tissue-based gold standard. *Dig Dis Sci* 1996;41:740-8.
- Goddard AF, Logan RPH. Urea breath tests for detecting *Helicobacter pylori*. *Aliment Pharmacol Ther* 1997;11:641-9.
- Logan RPH, Gummert PA, Misiewicz JJ, Karim QN, Walker MM, Baron JH. One week eradication regimen for *Helicobacter pylori*. *Lancet* 1991;338:1249-52.
- Slomianski A, Schubert T, Cutler AF. [¹³C]Urea breath test to confirm eradication of *Helicobacter pylori*. *Am J Gastroenterol* 1995;90:224-6.
- The European *Helicobacter pylori* Study Group (EHPSG). Current European concepts in the management of *Helicobacter pylori* infection. The Maastricht Consensus Report. *Gut* 1997;41:8-13.
- Peura DA, Pambianco DJ, Dye KR, Lind C, Frierson HF, Hoffman SR, et al. Microdose ¹⁴C-urea breath test offers diagnosis of *Helicobacter pylori* in 10 minutes. *Am J Gastroenterol* 1996;91:233-8.
- Lee TH, Yang JC, Lee SC, Farn SS, Wang TH. Effect of mouth washing on the [¹³C]-urea breath test. *J Gastroenterol Hepatol* 2001;16:261-3.
- Hamlet A, Stage L, Lönnroth H, Cahlin C, Nyström C, Pettersson A. A novel tablet-based ¹³C urea breath test for *Helicobacter pylori* with enhanced performance during acid suppression therapy. *Scand J Gastroenterol* 1999;34:367-74.
- Ohara S, Kato M, Asaka M, Toyota T. Studies of ¹³C-urea breath test for diagnosis of *Helicobacter pylori* infection in Japan. *J Gastroenterol* 1998;33:6-13.
- FDA: Division of Anti-Infective Drug Products. Points to consider: clinical development and labeling of anti-infective drug products. March 1995 Addendum (draft). *Helicobacter pylori* associated peptic ulcer disease, indication no. 25. Rockville: Center for Drug Evaluation and Research; 1995. p. 1-8.
- Pytko-Polonczyk J, Konturek SJ, Karczewska E, Bielanski W, Kaczmarczyk-Stachowska A. Oral cavity as permanent reservoir of *Helicobacter pylori* and potential source of reinfection. *J Physiol Pharmacol* 1996;47:121-9.
- Hine MK, O'Donnell JF. Incidence of urease producing bacteria in saliva. *J Dent Res* 1943;22:103-6.
- Hillman JD, Socransky SS, Shivers M. The relationships between streptococcal species and periodontopathic bacteria in human dental plaque. *Arch Oral Biol* 1985;30:791-5.
- Klein PD, Graham DY. Minimum analysis requirements for the detection of *Helicobacter pylori* infection by the ¹³C-urea breath test. *Am J Gastroenterol* 1993;88:1865-9.
- Graham DY, Runke MD, Anderson S, Malaty HM, Klein PD. Citric acid as the test meal for the ¹³C-urea breath test. *Am J Gastroenterol* 1999;94:1214-7.
- Graham DY, Malaty HM, Cole RA, Matin RF, Klein PD. Simplified ¹³C-urea breath test for detection of *Helicobacter pylori* infection. *Am J Gastroenterol* 2001;96:1741-5.
- Wong WM, Lam SK, Lai KC, Chu KM, Xia HHX, 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;17:253-7.
- Liao CC, Lee CL, Chiang TC, Lee SC, Huang SH, Tu TC, et al. The ¹³C-urea breath test to detect *Helicobacter pylori* infection: a validated simple methodology with 50 mg ¹³C-urea. *Aliment Pharmacol Ther* 2002;16:787-92.
- Bazzoli F, Zagari M, Fossi S, Pozzato P, Ricciardiello L, Mwangemi C, et al. Urea breath tests for the detection of *Helicobacter pylori* infection. *Helicobacter* 1997;2(Suppl 1):S34-7.
- Kohli Y, Kato T, Iwaki M, Yamazaki Y, Hata M, Suzuki K, et al. The distribution of *Helicobacter pylori* in human gastric mucosa in vivo. *Dig Endosc* 1991;3:457-60.
- Genta RM, Robason GO, Graham DY. Simultaneous visualization of *Helicobacter pylori* and gastric morphology: a new stain. *Hum Pathol* 1994;25:221-6.
- Drasar BS. The bacterial flora of the stomach. In: Rathbone BJ, Heatly VR, editors. *Campylobacter pylori* and gastroduodenal disease. Oxford: Blackwell Scientific; 1989. p. 5-11.
- Borriello SP, Reed PJ, Dolby JM, Barclay FE, Webster A. Microbial and metabolic profile of achlorhydric stomach: comparison of pernicious anaemia and hypogammaglobulinaemia. *J Clin Pathol* 1985;38:946-53.
- McNulty CAM, Dent JC, Curry A, Uff JS, Ford GA, Gear MWL, et al. New spiral bacterium in gastric mucosa. *J Clin Pathol* 1989;42:585-91.
- Vaira D, Holton J, Cairns S, Polydorou A, Falzon M, Dowsett J, et al. Urease tests for *Campylobacter pylori*: care in interpretation. *J Clin Pathol* 1988;41:812-3.

318 42
301

Prevalencia de la infección por *Helicobacter pylori* en médicos de Medellín, Colombia

Germán Campuzano-Maya,¹ Daniel Hoyos-Castaño,² Víctor D Calvo-Betancur,³ Oscar A Suárez-Ramírez,³ Douglas Lizcano-Cardona,³ Carlos A Rojas-Arbeláez⁴

Acta Gastroenterol Latinoam 2007;37:99-103

Resumen

La infección por *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) y las complicaciones asociadas, como el cáncer gástrico, representan un verdadero problema de salud pública porque lideran las tasas de morbilidad y mortalidad en Colombia y Latinoamérica, en donde es altamente prevalente. **Objetivo:** caracterizar la prevalencia de la infección por *H. pylori* en la población médica de Medellín, Colombia. **Métodos:** se realizó un estudio epidemiológico observacional transversal donde se incluyeron 342 médicos. Se evaluó la presencia de la infección por *H. pylori* mediante la prueba de aliento con urea marcada con carbono 13 y su asociación con aspectos personales, antecedentes de enfermedad gástrica y manifestaciones clínicas. **Resultados:** se encontró una prevalencia general de infección por *H. pylori* de 77.2% (IC 95%: 72.4% a 81.5%), que discriminada por género representa una prevalencia de 78.4% en hombres y 72.6% en mujeres, sin asociación significativa (Chi-cuadrado $p=0.37$). Del total de los 342 participantes, 183 (53.5%) presentaron al menos un evento sospechoso de enfermedad gástrica y de éstos, 141 (77%) fueron positivos y 42 (23%) negativos para *H. pylori*;

de los 264 participantes *H. pylori* positivos, 141 (53.4%) presentaban antecedentes de enfermedad gástrica y 123 (46.6%) fueron asintomáticos. **Conclusiones:** la prevalencia de la infección por *H. pylori* en la población médica de Medellín, Colombia, es de 77.2% (IC 95%: 72.4% a 81.5%), acorde con el perfil epidemiológico de la región. Además, el 46.6% de los individuos infectados por *H. pylori* fueron asintomáticos y no hay antecedentes ni síntomas que permitan sospechar la presencia de la bacteria, la cual sólo es posible determinar tras el estudio apropiado de los individuos.

Palabras claves: *Helicobacter pylori*, prevalencia, enfermedades gástricas, Medellín, Colombia.

Prevalence of *Helicobacter pylori* infection in physicians in Medellín, Colombia

Summary

Infection by *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) and its associated complications, such as gastric cancer, constitute a true public health problem due to the high morbidity and mortality rates in Colombia and Latin America, where it is highly prevalent. **Objective:** To characterize the prevalence of *H. pylori* infection in the medical population of Medellín, Colombia. **Methods:** A transversal-cut observational epidemiological study was done, 342 physicians were included. The presence of *H. pylori* infection, diagnosed with carbon 13-labelled urea breath test, and its association with personal aspects, history of gastric disease and clinical manifestations was evaluated. **Results:** The general prevalence of *H. pylori* infection was found to be 77.2% (CI 95%: 72.4% to 81.5%). Discriminating by gender, it represents a prevalence of 78.4% in men and 72.6% in women, without any significant association (chi-square, $p=0.37$). Of the total 342 participants, 183

¹ Médico especialista en Hematología y Patología Clínica. Profesor, Ad Honorem, Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia. Médico Director, Laboratorio Clínico Hematológico S.A., Carrera 43C # 5-33; e-mail: gcampuzano@hematologico.com, Medellín, Colombia.

² Profesor de Bioestadística, Facultad de Medicina, Fundación Universitaria San Martín, Sede Medellín, Colombia.

³ Estudiantes de Gerencia de sistemas de información en salud. Facultad Nacional de Salud Pública. Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia.

⁴ Médico, Epidemiólogo, Profesor asociado, Grupo de epidemiología, Facultad Nacional de Salud Pública, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia.

317 43
302

(53.5%) presented at least one suspected episode of gastric disease, and of these, 141 (77%) were positive and 42 (23%) were negative for *H. pylori*; of the 264 *H. pylori* positive participants, 141 (53.4%) had history of gastric disease and 123 (46.6%) were asymptomatic. **Conclusions:** Prevalence of *H. pylori* infection in the medical population in Medellín, Colombia, is 77.2% (CI 95%: 72.4% to 81.5%), in accordance to the epidemiologic profile of the region. Also, 46.6% of individuals infected by *H. pylori* were asymptomatic and with no history or symptoms suggestive of the presence of the bacteria, which is only possible to determine after appropriate testing of the individuals.

Key words: *H. pylori*, epidemiology, Colombia.

Al iniciarse el siglo XXI, *H. pylori* coloniza más del 50% de los estómagos de la población mundial, constituyéndose en la infección más frecuente de la humanidad, con una mayor prevalencia en los países pobres y en vía de desarrollo.¹ La infección por *H. pylori* está íntimamente relacionada con enfermedades gástricas como la úlcera péptica duodenal, la úlcera péptica gástrica, el cáncer de estómago, los linfomas MALT² y con varias enfermedades extradigestivas como la púrpura trombocitopénica autoinmune, la anemia ferropénica, la anemia perniciosa, la hiperémesis gravídica, la talla baja en niños y algunas enfermedades dermatológicas como la púrpura de Schönlein-Henoch, la urticaria crónica y la rosácea,³ entre otras.

La presente investigación tiene como objetivo y propósitos, entre otros, los siguientes: 1) caracterizar la prevalencia de la infección por *H. pylori* en la población médica de la ciudad de Medellín, Colombia; 2) sensibilizar y crear conciencia en la comunidad médica de la ciudad de Medellín, Colombia, sobre el problema de salud pública que representa la infección por *H. pylori*; 3) estimular líneas de investigación a nivel local, nacional y regional; y, 4) compartir con la comunidad científica latinoamericana la problemática de esta infección como un asunto regional más que nacional o local.

Material y métodos

Se realizó un estudio epidemiológico observacional de tipo transversal. Mediante convocatoria escrita se invitó a la comunidad médica de Medellín, Colombia, para participar en la investigación aproximadamente 1.500 médicos; (información prove-

niente de las diferentes bases de datos de entidades e instituciones prestadoras de servicios de salud de la ciudad). De ellos, 342 respondieron y participaron en la muestra 342 médicos de manera totalmente voluntaria (muestreo por conveniencia). A cada participante se le estableció su proceso de previo consentimiento informado de las limitaciones y alcances del estudio, cumpliendo con los estándares éticos internacionales y la legislación colombiana en estos aspectos.⁴ A cada uno de los participantes se le aplicó una encuesta para determinar la presencia de antecedentes de enfermedad gástrica o de síntomas digestivos, en particular los relacionados con la dispepsia, de acuerdo con los criterios de la Sociedad Americana de Gastroenterología⁵ que estuviesen asociados con la infección por *H. pylori* y permitiesen sospechar su diagnóstico clínicamente. Además, se definió el estatus de *H. pylori* mediante una prueba aliento con urea marcada con carbono 13 de acuerdo con el protocolo europeo adaptado al medio,⁶ utilizando estuches comerciales (TAU-KIT, Isomed S.L., Madrid, España) que contienen 4,2g de ácido cítrico y 100 mg de urea marcada con carbono 13, con una sensibilidad y especificidad muy cercanas al 100%. El análisis de las muestras se practicó en el Laboratorio Clínico Hematológico, en Medellín, Colombia, mediante un espectrómetro de relación de masas (ABCA, Europa Scientific, Cheshire, Reino Unido). Se consideró un estatus positivo de infección por *H. pylori*, de acuerdo con criterios validados internacionalmente para esta prueba, un valor de la prueba de aliento con urea marcada con carbono 13 igual o superior a 2,5 deltas de $^{13}\text{CO}_2$ ($\delta^{13}\text{CO}_2$).

Análisis estadístico

En el análisis descriptivo se utilizaron distribuciones porcentuales y absolutas para aquellas variables cualitativas e indicadores de resumen como la media, la mediana y la desviación estándar para las variables cuantitativas. Se estableció el criterio de normalidad de los datos mediante la prueba de Kolmogorov-Smirnov para una muestra, y con base en ésta se aplicó la prueba de U-Mann Whitney para la diferencia de frecuencias relativas de dos poblaciones independientes. Se utilizó el Chi-cuadrado de independencia (corrección de Yates) para la exploración de la asociación entre la presencia de infección y las variables cualitativas de persona y circunstancia que se consideraron de importancia en el estudio.

Para determinar los principales factores asociados con la presencia de infección, se calculó la razón de disparidades u *odds ratio* (OR) con sus respectivos IC 95%. Para aquellos factores que mostraron una mayor fuerza de asociación, se calcularon razones de disparidades ajustadas por otras variables (potenciales confusores) utilizando técnicas de análisis estratificado y regresión logística no condicional con el fin de obtener el estimativo menos sesgado de dicha asociación. El procesamiento y análisis de los datos se realizó mediante los programas SPSS (*Statistical Product for Service Solutions*) versión 12.0 y Epi-Info 2005, versión 3.3.2.

Resultados

En este estudio participaron 342 médicos; 269 (78.7%) hombres y 73 (21.3%) mujeres, con una edad promedio de 47.24.

Prevalencia de la infección por *H. pylori*: De acuerdo con el punto de corte previamente definido para la prueba de aliento con urea marcada con carbono 13 (igual o mayor a 2.5 $\delta^{13}\text{CO}_2$), se encontraron 264 participantes positivos para la prueba, lo que arroja una prevalencia general de infección por *H. pylori* de 77.2% (IC 95%: 72.4% a 81.5%), que discriminada por género representa una prevalencia de 78.4% en hombres y 72.6% en mujeres, sin asociación significativa entre las variables género e infección por *H. pylori* (Chi-cuadrado $p=0.37$): Al caracterizar los valores $\delta^{13}\text{CO}_2$ de la prueba de aliento no se hallaron diferencias significativas en el valor $\delta^{13}\text{CO}_2$ en los participantes de género femenino con respecto a los de género masculino (U de Mann-Whitney, $p=0.350$). Para determinar de una manera más fidedigna las diferencias entre individuos negativos y positivos en los valores $\delta^{13}\text{CO}_2$ según género, se observó que las personas con resultado negativo de infección no presentaron asociación significativa en el valor $\delta^{13}\text{CO}_2$, (U de Mann-Whitney, $p=0.492$); pero se halló diferencia estadísticamente significativa en el valor $\delta^{13}\text{CO}_2$ de los individuos con resultado positivo de infección según el estatus de *H. pylori* (U de Mann-Whitney, $p=0.008$).

Antecedentes de enfermedad gástrica y síntomas de dispepsia e infección por *H. pylori*: Del total de los 342 participantes, 183 (53.5%) presentaron al menos un evento sospechoso de enfermedad gástrica y de éstos, 141 (77%) fueron positivos y 42 (23%) negativos para *H. pylori*; de los 264 participantes *H. pylori* positivos, 141 (53.4%) presenta-

ban antecedentes de enfermedad gástrica y 123 (46.6%) eran asintomáticos. Ni los antecedentes de enfermedad gástrica ni los síntomas asociados con la dispepsia (en particular el dolor que se mejora con antiácidos o drogas reductoras de ácido, el dolor cuando hay hambre, el dolor que lo despierta, el dolor epigástrico periódico con remisión y recaídas, la sensación de llenura posprandial, la saciedad temprana, la regurgitación ácida, náuseas y vómitos y molestias vagas en abdomen superior que se empeoran con la ingestión de alimentos), tras un análisis estadístico exhaustivo, mostraron asociación estadísticamente significativa con la infección por *H. pylori*.

Discusión

Revisada la literatura médica mundial, a pesar de que hay muy pocos trabajos relacionados con el aparente mayor riesgo de estar infectado por *H. pylori* en los trabajadores de la salud, son muy pocas las investigaciones que abordan este interrogante; sin embargo, los resultados son más o menos concluyentes: los médicos y el personal del área de la salud no tienen un mayor riesgo que la población ajena a esta actividad,⁷ excepto los gastroenterólogos y auxiliares de gastroenterología cuando no se extremen las medidas de protección⁸ y en consecuencia se podría considerar, mientras que no se diseñen otros estudios en la población general, que la prevalencia observada en la comunidad médica de Medellín, Colombia, refleja la prevalencia de la infección en esta ciudad. La prevalencia observada corresponde a la definida para un país subdesarrollado o en vía de desarrollo en donde la infección se adquiere en los primeros años de la vida,¹ como claramente lo demuestran varios estudios latinoamericanos que, directa o indirectamente, muestran tasas de infección en niños usualmente por encima del 60%⁹⁻²¹ y en adultos alrededor del 80%²²⁻²⁹ llevados a cabo en Bolivia,¹⁷ Brasil,^{11-14,21,25,27,28} Chile,¹⁰ Colombia,^{12,15,16,18,23,26} Ecuador,²⁰ México^{19,24} y Perú,^{9,22,29} entre otros. La prevalencia en Argentina es la más baja informada en la literatura médica latinoamericana, con tasas de prevalencia entre 37.5% y 53.8%, que corresponderían al patrón de los países desarrollados,^{30,31} explicable posiblemente por mejores condiciones socioeconómicas de la población.

Como era de esperarse y acorde con la mayoría de los investigadores que han abordado la sintomatología de la infección por *H. pylori*, en este grupo ni los

antecedentes de enfermedad gástrica ni los síntomas estudiados se asociaron con la presencia de la bacteria. Más que los hallazgos anteriores es importante llamar la atención sobre hecho de que el 53.8% de los participantes *H. pylori* negativos presentaban antecedentes o síntomas sospechosos de estar infectados, hallazgo que reafirma que si bien *H. pylori* tiene un papel muy importante en estas manifestaciones,³² no es la causa de todos los problemas gástricos, en particular aquellos con síntomas de dispepsia como los hallados en esta investigación.³³ A la inversa, el 46.6% de los participantes *H. pylori* positivos eran asintomáticos, hallazgo que coincide con la evolución natural de la infección, en donde un gran porcentaje de individuos infectados permanecen asintomáticos,^{2,34} como lo han demostrado estudios en Estados Unidos, con un porcentaje de infectados por *H. pylori* asintomáticos de 37%³⁴ y de 52%,³⁵ y en Europa de 34.9% en jóvenes y 62.4% en mayores,³⁶ quedando claro en esta investigación y en la mayoría de las referenciadas en la literatura médica mundial que la única manera de determinar la presencia de la infección por *H. pylori* es estudiando apropiadamente a los pacientes.

Tras esta investigación preliminar quedan más preguntas que respuestas, las cuales la comunidad científica debe abordar con entereza y determinación, sobre todo en países como Colombia en donde el cáncer gástrico, íntimamente relacionado con la infección por *H. pylori*, encabeza las estadísticas de morbilidad y mortalidad por cáncer,³⁷ al igual que en muchos otros países latinoamericanos,³⁸ aparte de la úlcera péptica duodenal, la úlcera péptica gástrica, los linfomas MALT del estómago,² las manifestaciones extradigestivas como la púrpura trombocitopénica autoinmune, recientemente evidenciada en el medio,³⁹ la anemia ferropénica, la anemia perniciosa, la hiperémesis gravídica, la talla baja en niños y algunas enfermedades dermatológicas como la púrpura de Schönlein-Henoch, la urticaria crónica y la rosácea,³ entre otras. Más que mostrar la prevalencia de esta infección en una comunidad colombiana, esta investigación debe dejar una reflexión: es el momento de reconocer a la infección por *H. pylori* como un verdadero problema de salud pública y con responsabilidad y entereza emprender el largo camino que se inicia con la caracterización de la magnitud del problema y termina con la erradicación final. Esta es la mejor manera de intervenir positivamente en la salud de los pueblos afligidos por este flagelo.

Agradecimiento

A cada uno de los médicos participantes en esta investigación, al personal técnico del Laboratorio Clínico Hematológico S.A., Medellín, Colombia por procesar las pruebas de aliento con urea marcada con carbono 13, y al personal de apoyo que coordinó las reuniones de trabajo con los médicos.

Referencias

1. Pounder RE, Ng D. The prevalence of *Helicobacter pylori* infection in different countries. *Aliment Pharmacol Ther* 1995;9 (Suppl 2):33-39.
2. Suerbaum S, Michetti P. *Helicobacter pylori* infection. *N Engl J Med* 2002;347:1175-1186.
3. Franceschi F, Roccarina D, Gasbarrini A. Extragastric manifestations of *Helicobacter pylori* infection. *Minerva Med* 2006;97:39-45.
4. República de Colombia, Salud Md. Resolución N° 008430 de 1993 (4 de octubre de 1993), por la cual se establecen las normas científicas, técnicas y administrativas para la investigación en salud. <http://www.unal.edu.co/dib/normas/etica.html>.
5. 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.
6. Campuzano-Maya G. Prueba de aliento con 13C-urea en el diagnóstico de *Helicobacter pylori*. *Anales de la Academia de Medicina de Medellín* 1999;12:25-37.
7. Monés J, Martín de Argila C, Samitier RS, Gisbert JP, Sáinz S, Boixeda D. Prevalence of *Helicobacter pylori* infection in medical professionals in Spain. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 1999;11:239-242.
8. Matysiak-Budnik T, Megraud F. Epidemiology of *Helicobacter pylori* infection with special reference to professional risk. *J Physiol Pharmacol* 1997;48 (Suppl 4):3-17.
9. Klein PD, Graham DY, Gaillour A, Opekun AR, Smith EO. Water source as risk factor for *Helicobacter pylori* infection in Peruvian children. *Gastrointestinal Physiology Working Group. Lancet* 1991;337:1503-1506.
10. Russell RG, Wasserman SS, O'Donnoghue JM, Taylor DN, Boslego J, Moreno JG, Hopkins RJ, DeTolla LJ, Morris JG, Jr. Serologic response to *Helicobacter pylori* among children and teenagers in northern Chile. *Am J Trop Med Hyg* 1993;49:189-191.
11. De Oliveira AM, Queiroz DM, Rocha GA, Mendes EN. Seroprevalence of *Helicobacter pylori* infection in children of low socioeconomic level in Belo Horizonte, Brazil. *Am J Gastroenterol* 1994;89:2201-2204.
12. Goodman KJ, Correa P, Tengana Aux HJ, Ramírez H, DeLany JP, Guerrero Pepinosa O, López Quifiones M, Collazos Parra T. *Helicobacter pylori* infection in the Colombian Andes: a population-based study of transmission pathways. *Am J Epidemiol* 1996;144:290-299.

32046
305

13. Dutra Souto FJ, Fernandes Fontes CJ, Rocha GA, Rocha de Oliveira AM, Nogueira Mendes EN, De Magalhães Queiroz DM. Prevalence of *Helicobacter pylori* infection in a rural area of the state of Mato Grosso, Brazil. Mem Inst Oswaldo Cruz 1998;93:171-174.
14. De Oliveira AM, Rocha GA, Queiroz DM, Mendes EN, de Carvalho AS, Ferrari TC, Nogueira AM. Evaluation of enzyme-linked immunosorbent assay for the diagnosis of *Helicobacter pylori* infection in children from different age groups with and without duodenal ulcer. J Pediatr Gastroenterol Nutr 1999;28:157-161.
15. Duque JJ. *Helicobacter pylori* en la mucosa gástrica de cadáveres de niños. IATREIA 1999;12:135-138.
16. Gutiérrez O, Aponte D, Páramo D, Sabbagh LC, Ángel LE, Cardona H, Otero W, Pérez M, Araujo GE, Castillo de Moreno B. Seroprevalencia y factores de riesgo asociados con la infección por *Helicobacter pylori* en niños. Rev Col Gastroenterol 2001;16:19-22.
17. Robinson LG, Black FL, Lee FK, Sousa AO, Owens M, Danielsson D, Nahmias AJ, Gold BD. *Helicobacter pylori* prevalence among indigenous peoples of South America. J Infect Dis 2002;186:1131-1137.
18. Camargo MC, Yopez MC, Cerón C, Guerrero N, Bravo LE, Correa P, Fontham ET. Age at acquisition of *Helicobacter pylori* infection: comparison of two areas with contrasting risk of gastric cancer. Helicobacter 2004;9:262-270.
19. Camargo MC, Lazcano-Ponce E, Torres J, Velasco-Mondragón E, Quiterio M, Correa P. Determinants of *Helicobacter pylori* seroprevalence in Mexican adolescents. Helicobacter 2004;9:106-114.
20. Gómez NA, Salvador A, Vargas PE, Zapatier JA, Álvarez J. Seroprevalencia de *Helicobacter pylori* en la población infantil de Ecuador. Rev Gastroenterol Peru 2004;24:230-233.
21. Rodrigues MN, Queiroz DM, Bezerra Filho JG, Pontes LK, Rodrigues RT, Braga LL. Prevalence of *Helicobacter pylori* infection in children from an urban community in north-east Brazil and risk factors for infection. Eur J Gastroenterol Hepatol 2004;16:201-205.
22. The Gastrointestinal Physiology Working Group of the Cayetano Heredia and the Johns Hopkins University. *Helicobacter pylori* and gastritis in Peruvian patients: relationship to socioeconomic level, age, and sex. Am J Gastroenterol 1990;85:819-823.
23. Duque JJ, Gutiérrez F. Presencia de *Helicobacter pylori* en la mucosa gástrica de cadáveres. IATREIA 1995;8:96-97.
24. Torres J, Leal-Herrera Y, Pérez-Pérez G, Gómez A, Camarlinga-Ponce M, Cedillo-Rivera R, Tapia-Conyer R, Muñoz O. A community-based seroepidemiologic study of *Helicobacter pylori* infection in Mexico. J Infect Dis 1998;178:1089-1094.
25. Rocha GA, Oliveira AM, Queiroz DM, Mendes EN, Moura SB, Oliveira CA, Ferrari TC. Serodiagnosis of *Helicobacter pylori* infection by Cobas Core ELISA in adults from Minas Gerais, Brazil. Braz J Med Biol Res 1998;31:1263-1268.
26. Bravo LE, Cortés A, Carrascal E, Correa P, Ordoñez N. Seroprevalencia de anticuerpos anti-*Helicobacter pylori* en donantes de sangre de regiones colombianas con diferencias en la mortalidad por cáncer gástrico. Colomb Med 2000;31:122-130.
27. Almeida Cunha RP, Alves FP, Rocha AM, Rocha GA, Camargo LM, Nogueira PO, Camargo EP, Queiroz DM. Prevalence and risk factors associated with *Helicobacter pylori* infection in native populations from Brazilian Western Amazon. Trans R Soc Trop Med Hyg 2003;97:382-386.
28. Lyra AC, Santana G, Santana N, Silvany-Neto A, Magalhães E, Pereira EM, Mas-careñas R, Lyra MC, Veiga A, Ferreira K, Zaterka S, Lyra LG. Seroprevalence and risk factors associated with *Helicobacter pylori* infection in blood donors in Salvador, Northeast-Brazil. Braz J Infect Dis 2003;7:339-345.
29. Ramírez-Ramos A, Gilman RH, Watanabe-Yamamoto J, Takano-Moron J, Arias-Stella J, Yoshiwara-Wakabayashi E, Rodríguez-Ulloa C, Miyagui-Maeda J, Velapatño-Cochachi B, Mendoza-Requena D, Chinga-Alayo E, Leey-Casella J, Guerra-Valencia J, Otoyá-Calle C, Segovia-Castro MC. Comparación de la prevalencia de la infección del estómago por el *Helicobacter pylori* en el Perú en población japonesa y peruana. Acta Gastroenterol Latinoam 2005;35:219-224.
30. Olmos JA, Ríos H, Higa R. Prevalence of *Helicobacter pylori* infection in Argentina: results of a nationwide epidemiologic study. Argentinean Hp Epidemiologic Study Group. J Clin Gastroenterol 2000;31:33-37.
31. Olmos JA, Rosa Díez G, Higa R, Algranati S, Ríos H, De Paula JA, Dos Ramos Fariás E, Dávólos J. Seroprevalencia de *Helicobacter pylori* en hemodializados. Acta Gastroenterol Latinoam 2003;33:139-144.
32. O'Morain C. Role of *Helicobacter pylori* in functional dyspepsia. World J Gastroenterol 2006;12:2677-2680.
33. Talley NJ, Vakil N, Practice Parameters Committee of the American College of Gastroenterology. Guidelines for the management of dyspepsia. Am J Gastroenterol 2005;100:2324-2337.
34. Dooley CP, Cohen H, Fitzgibbons PL, Bauer M, Appleman MD, Perez-Perez GI, Blaser MJ. Prevalence of *Helicobacter pylori* infection and histologic gastritis in asymptomatic persons. N Engl J Med 1989;321:1562-1566.
35. Graham DY, Malaty HM, Evans DG, Evans DJ, Jr., Klein PD, Adam E. Epidemiology of *Helicobacter pylori* in an asymptomatic population in the United States. Effect of age, race, and socioeconomic status. Gastroenterology 1991;100:1495-1501.
36. EUROGAST Study Group. Epidemiology of, and risk factors for, *Helicobacter pylori* infection among 3194 asymptomatic subjects in 17 populations. Gut 1993;34:1672-1676.
37. Piñeros M, Ferlay J, Murillo R. Incidencia estimada y mortalidad por cáncer en Colombia, 1995-1999. Instituto Nacional de Cancerología 2005; Imprenta Nacional de Colombia, Bogotá.
38. Jemal A, Siegel R, Ward E, Murray T, Xu J, Smigal C, Thun MJ. Cancer statistics, 2006. CA Cancer J Clin 2006;56:106-130.
39. Campuzano-Maya G. Proof of an association between *Helicobacter pylori* and idiopathic thrombocytopenic purpura in Latin-America. Helicobacter 2007;12:265-273.

321
1306
47

PREVALENCIA DE HELICOBACTER PYLORI EN ESCOLARES: FACTORES NUTRICIONALES Y SOCIOCULTURALES . BOGOTÁ

María Silvia Bohórquez F ND.MSc¹, Martha Constanza Lievano ND Esp Epid², Germán
Campuzano MD Hematolo³, Tatiana Bolívar⁴, Astrid Rozo⁴.

1. Profesora asistente. Pontificia Universidad Javeriana. Facultad de Ciencias. Departamento de
Nutrición y Bioquímica. Bogotá. Colombia
2. Profesora asistente. Pontificia Universidad Javeriana. Facultad de Ciencias. Departamento de
Nutrición y Bioquímica. Bogotá. Colombia
3. Profesor ad honorem de la Universidad de Antioquia. Facultad de Medicina. Medico director
Laboratorio Clínico hematológico de Medellín. Medellín Colombia
4. Estudiantes de Nutrición y Dietética XII semestre. Pontificia Universidad Javeriana. Facultad
de Ciencias. Bogotá. Colombia

Autor Responsable: María Silvia Bohórquez F. celular 3107696358, tel 3208320 ext 4063

Dirección: Carrera 7ª No 43-82 edificio Félix Restrepo oficina 306

silviab@javeriana.edu.co, silvibohorquez@gmail.com

Resumen

Introducción. La infección por *Helicobacter pylori* en condiciones de malnutrición y ambientales desfavorables predispone al desarrollo de enfermedades gástricas, CA de estómago y posiblemente retraso en talla. La prevención desde edades tempranas puede reducir estas entidades.

Objetivo. Determinar la prevalencia de *H.pylori* y su relación con los factores nutricionales y socioculturales en escolares.

Materiales y Métodos. Estudio descriptivo transversal. Se identificó la infección por *H.pylori* mediante el test de aliento con ^{13}C -urea en 447 niños entre 4 y 13 años (localidad de Kennedy). Se indagaron aspectos socioculturales, nutricionales, antecedentes personales y familiares de enfermedad gástrica. Se aplicó la estadística descriptiva, pruebas de t de Student y de χ^2 para el análisis.

Resultados. De 447 escolares, 54.4% (243) fueron niños y 45.6% (204) niñas. El 73.4 % (328) fueron positivos para *H.pylori*; 58.8% (193) niños y 41.2% (135) niñas ($p=0.002$). Al estratificar por grupos de edad, sexo y presencia *H.pylori* se hallaron diferencias significativas en los mayores de 7 años ($p<0.05$). El 80.1% de los escolares que comparten la cama presentaron *H.pylori* ($p<0.05$). El estrato socioeconómico, tipo de familia, tipo de vivienda, números de personas que habitan la vivienda, presencia de animales, procedencia del agua y antecedentes de enfermedad gástrica no presentaron asociación con *H.pylori*. El lavado de manos es deficiente por ausencia de jabón. El 91.2% de escolares con retraso en talla presentaron *H.pylori* ($p<0.05$). El consumo diario de frutas (38%) y verduras (22.2%) fue inferior a lo recomendado.

Conclusiones. La prevalencia por *H.pylori* fue mayor que en otros estudios hechos en Colombia. La prevalencia fue mayor en los varones y aumenta significativamente con la edad. Compartir la

323 49
3 308

cama y el retraso en talla se asoció con *H.pylori* positivo. El inadecuado lavado de manos y el bajo consumo de frutas y verduras podrían ser factor de riesgo para *H.pylori*.

Palabras clave: Escolares, factores socio demográficos, *H.pylori*, prevalencia, nutrición

Abstract

Introduction. The infection by *H.pylori* in cases of malnutrition and unfavorable environmental conditions foster the development of gastric diseases, stomach cancer and growth delay. Prevention of *H.pylori* infection during childhood is related with a decrease in these pathologies.

Objective. To determine the prevalence of *H.pylori* and its relation with nutritional and socio-cultural factors in schoolchildren

Materials and Methods. Cross-sectional descriptive study. The sample group was 447 children from middle and low social economic strata, between ages 4 to 13. The infection by *H.pylori* was identified via the ¹³C-urea breath test. Socio-cultural, nutritional aspects, personal and family background of gastric disease was inquired. Descriptive statistics was applied in the analysis of the results, Student t test and Chi square (χ^2).

Results. From the 447 children, 54.4% (243) were boys and 45.6% (204) girls. 73.4 % (328) were *H.pylori* positive; 58.8% (193) were boys and 41.2% (135) girls ($p = 0.002$). Significant differences were observed between boys and girls after stratified by age groups among children over 7 years; ($p < 0.05$). 80.1% of the children sharing beds were *H.pylori* positive ($p < 0.05$).

Variables such as socioeconomic strata, family type, housing, number of persons in the house, animal pets, and background of gastric disease, were not associated with *H.pylori* infection. hand washing habits were inadequate, 91.2% of the children with growth delay were *H.pylori* positive ($p < 0.05$). From the total children only 22,2% and 38% consume vegetables and fruits daily.

Conclusions: In this sample infection by *H.pylori* was higher than in other surveys carry out in Colombia. The prevalence was also higher among boys increasing significantly with age. Variables as bed sharing and growth delay were related to *H.pylori* infection. Inadequate hand washing and the low consumption of fruits and vegetables may be a risk factor for *H.pylori*.

30 51
5 310

Key words. *Helicobacter pylori*, prevalence, nutrition, Socio-demographic aspects, schoolchildren

INTRODUCCIÓN

El *Helicobacter pylori* (*H.pylori*) es la bacteria responsable del 70% de las úlceras gástricas y de la gastritis crónica en la población de América de Latina. Los estudios epidemiológicos y experimentales muestran una relación entre la infección por *H.pylori* y el desarrollo posterior de cáncer gástrico, razón por la cual fue reconocido en 1994 oficialmente por la Agencia Internacional para la investigación en Cáncer de la organización Mundial de la Salud (OMS) como agente cancerígeno de grado 1^(1,2,3). Según el informe epidemiológico sobre la mortalidad por cáncer en Colombia, para el año 2005, el cáncer gástrico fue la primera causa de muerte (4.540). En hombres, fue la primera causa de muerte por cáncer (2.729) y en mujeres fue la tercera con 1.811 defunciones⁽⁴⁾. Se estima que la erradicación de esta bacteria desde edades tempranas reduciría la incidencia de estas patologías en la vida adulta^(1,5,6).

También se ha propuesto que la infección aguda por *H.pylori* con lleva a hipoclorhidria que facilita la infección por otros entero patógenos llevando a una posible diarrea, malnutrición, fallas en el crecimiento y anemia por déficit de hierro debida a la mala absorción por alteración de las secreciones gástricas y por competencia entre el huésped y el *H.pylori* por el hierro, problemas muy frecuentes en nuestros niños^(7,8).

También se ha reportado una que la infección por *H.pylori* durante los primeros años afecta el crecimiento linear aun en condiciones de alimentación y nutrición aceptables durante la infancia temprana^(9,10).

Por otro lado, los estudios muestran que las condiciones socio-económicas de las poblaciones marginales, el hacinamiento, la malnutrición y dietas carenciales principalmente en vitaminas

37053
7312

antioxidantes, condiciones higiénicas y sanitarias inadecuadas son factores que aumentan la probabilidad de contraer la infección^(11,12,13).

Dado el impacto que la infección por *H.pylori* puede tener sobre la salud de los niños a corto, mediano y largo plazo; que son muy pocos los estudios en nuestro medio donde se describa la prevalencia de la infección por *H.pylori* en relación con aspectos nutricionales y socioculturales en población escolar, se quiso identificar la prevalencia de *H.pylori* en un grupo de escolares en relación con dichos factores para identificar aquellos que puedan ser susceptibles de intervenir.

Métodos

El presente estudio descriptivo de corte transversal (censo), fue realizado en niños escolarizados de estrato socio-económico medio-bajo pertenecientes a un Centro Educativo Distrital ubicado en la Localidad de Kennedy en la Ciudad de Bogotá. Con una población de 1300 estudiantes desde el grado 0 al grado 11.

Se citaron a una reunión a todos los padres y niños pertenecientes a los grados de 0 a 6 (600 niños) con edades comprendidas entre 4 y 13 años, para informar acerca del estudio, la toma de la muestra de aliento, los beneficios y posibles riesgos. Igualmente se solicitó su consentimiento por escrito. Los criterios de elegibilidad incluían niños sanos, que no hubieran recibido antibióticos o inhibidores de la bomba de protones durante el mes previo a la toma de aliento.

El diagnóstico de la infección por *H.pylori* se realizó mediante el test del aliento con urea marcada con carbono 13 utilizando estuches comerciales de TAUKIT® (Isomed S.L., Madrid, España). Las muestras de aire espirado fueron enviadas al Laboratorio Clínico Hematológico en

Medellín, Colombia para su análisis. Para este estudio se considero positivo para *H.pylori* si el valor $\Delta^{13}\text{CO}_2$ pos urea fue igual o superior a 2,4 en este caso el sujeto se considera infectado por *H.pylori*. El método muestra una sensibilidad del 97,9% una especificidad del 96,1% ^(13,14,15,16).

Mediante entrevista personal, se registro los datos generales de los niños (positivos o no para *H.pylori*), así como los datos peso, talla, numero de comidas consumidas al día, y frecuencia del consumo por grupo de alimentos. Los niños menores de 8 años fueron entrevistados acompañados de sus padres. Antes del trabajo de campo se realizó una prueba piloto.

Las variables socio demográficas y culturales determinadas fueron: edad, sexo, estrato socioeconómico; para este se tuvo en cuenta el último recibo de pago de servicios públicos estratificado según el lugar de residencia establecido por el Departamento Administrativo Nacional de estadísticas (DANE) Colombia. Se indago sobre el tipo de familia: nuclear o extensa, número de personas que vivían en la casa y compartían el cuarto con los niños, así como el número de personas con quienes compartían la cama. Igualmente si contaban con servicios públicos.

En relación con las prácticas higiénicas se contemplo: el lavado de manos con o sin jabón, antes de comer y después usar el baño, y aspectos de saneamiento como procedencia del agua para consumo, tenencia de animales y condiciones de la habitación, cocina y baño. También se indago los antecedentes familiares de cáncer gástrico.

Los niños se pesaron en pantaloneta y camiseta sin zapatos en una bascula digital marca tanita con una precisión del 98%. La estatura se midió con estadiómetro marca seca con una precisión

del 95% confianza de acuerdo al protocolo ISAK. El estado nutricional se realizo para los siguientes indicadores: Talla para la edad y el índice de masa muscular por edad (IMC), utilizando los patrones de referencia de la OMS 2007 y el programa WHO AnthroPlus V 1.0.2. Los puntos de corte que se utilizaron para el análisis fueron los establecidos por la OMS 2007.

El patrón alimentario se determino mediante entrevista: Se indago el numero de comidas ingeridas al día, la frecuencia del consumo por grupos de alimentos categorizada en: menor o igual a 3 veces a la semana, 4 a 6 veces a la semana y diario. Teniendo como referencia el patrón ideal establecido por las guías alimentarias para la población Colombiana del Instituto Colombiano de Bienestar Familiar (ICBF) 1998.

Análisis estadístico Aunque este estudio descriptivo de corte transversal corresponde más a un censo de una población puntual, se quiso explorar asociaciones entre las variables descritas sugeridas en la literatura científica como factores de riesgo en la adquisición o como consecuencia de la infección por *H.pylori* para la población estudiada.

La base de datos se configuro en el programa Excel®. Los datos fueron procesados mediante los programas Epi Info Vr. 3.3.2 y SPSS 10. Mediante estadística descriptiva se realizo el análisis de variables cuantitativas, como frecuencias, promedios, desviación estándar (DE), t-student para características de grupos, y prueba Chi cuadrado o Fisher para evaluar potenciales asociaciones. Se considero significativos valores de $p \leq 0,05$. con intervalos de Confianza del 95% (I.C. 95%).

Resultados:

De los 600 niños convocados de los grados 0 a 6 todos aceptaron participar en el estudio. Sin embargo solo 456 acudieron a la toma de la muestra de aliento de los cuales se excluyeron 9 por no cumplir los criterios de elegibilidad. La muestra quedo conformada por 447 escolares entre 4 - 13 años con un promedio de edad $9,32 \pm 1,98$ años, de estos 243 (54.4%) fueron niños y 204(45.6%) fueron niñas.

La prevalencia de *Helicobacter pylori* para esta población de escolares fue del 73.4% (328niños) siendo mayor para los niños (tabla 1). La edad promedio para los escolares positivos para *H.pylori* (328) fue de $9,11 \pm 2,06$ años y para los negativos (119) fue $9,39 \pm 1,94$ años.

Tabla 1. Prevalencia de *H.pylori* por sexo en los escolares del Centro Educativo Distrital. Localidad de Kennedy. Bogotá.

	<i>H.pylori</i> Positivo
Niños	193/243 (79.4%)
Niñas	135/204 (66.2%)
Total	328/447 (73.4%)

Para los niños la prevalencia de *H.pylori* fue de 79.4% y para las niñas de 66.2 % ($p = 0.002$) Chi cuadrado.

Al estratificar por edad se observó: en el grupo de 4-6 años una prevalencia del 16% (70), en el grupo de 7 a 10 años la prevalencia fue de 43% (196) y para los mayores de 10 años fue de 40% (181). Al estratificar por sexo y edad se observó una mayor prevalencia para los niños por encima de los 7 años, la cual aumenta con edad. (tabla 2).

Tabla 2. Prevalencia de *H.pylori* por sexo y edad en los escolares del Centro Educativo Distrital. Localidad de Kennedy. Bogotá

Variable Edad/Sexo	Masculino	Femenino	P
	Positivos (%)	Positivos (%)	
4 a 6 años (n=70)	29/44 (66)	19/26 (73)	0.53
7 a 10 años (n=196)	82/103 (80)	59/93 (63)	0.01*
11 a 13 años (n= 181)	82/96 (85)	57/85 (67)	0.003*

* $p < 0.05$

Características socio demográficas

Del total de escolares evaluados el 79% (353) pertenecen al estrato 3(medio) y de estos el 72% (254) fueron positivos. El 21% (94) a los estratos 1y2 (medio-bajo) y de estos el 78% (74) fueron positivos; no se observó diferencias entre estratos. El 61% (273) de los escolares tienen familia

nuclear, el 68% (303) conviven con cinco personas o menos, el 43.6% (195) de la población evaluada viven en casa, el 46.7% (209) viven en apartamento, el 6.9% (31) en inquilinato y 2.7% (12) en casa lote. No se encontró asociación entre estas variables y la presencia de *H.pylori*. (tabla 3).

El 35% (156) de la muestra estudiada comparten la cama y de estos el 80% (125) son positivos. Se observó asociación entre el compartir la cama y la presencia de *H.pylori* ($p < 0.02$) chi cuadrado.

Tabla 3. Relación entre la presencia de *H.pylori* y variables socio demográficas y culturales de los escolares Centro Educativo Distrital. Localidad de Kennedy.

Variable	<i>H.pylori</i> Positivo	<i>H.pylori</i> Negativo	p
	n=328 (%)	n=119 (%)	
Estrato Socioeconómico			
Estrato 1 – 2(medio-bajo)	74 (22)	20 (17)	0.22
Estrato 3 (medio)	254(77)	99 (83)	
Tipo de familia			
Extensa	123 (37)	51 (43)	0.30
Nuclear	205(62)	68 (57)	
No personas que habitan la casa			
6 o mas	101(31)	43 (36)	0.28
5 o menos	227 (69)	76 (64)	

383 59
13 318

Comparten la cama			
Si	125 (38)	31 (26)	0.02*
No	203 (62)	88 (74)	

* $p < 0.05$

Hábitos de higiene y saneamiento

El 100% de los niños estudiados cuentan con servicios de agua potable (acueducto de Bogotá), luz y alcantarillado.

Del total de niños evaluados (447) en relación con hábitos de higiene : el 14% (65) no se lava las manos antes de comer y de estos el 78% (51) son positivos para *H.pylori*, El 19% (84) no usa jabón y de estos el 73% (61) son positivos, el 8% (36) no se la lava después de ir al baño y de estos el 75% (27) tienen la bacteria, El 44.5% (199) tienen animales y de estos el 76% (151) son positivos. Para estas variables no se encontró asociación con la presencia de *H.pylori*.

Antecedentes familiares de cáncer de estómago

De los 447 escolares, el 6.3% (28) reportaron antecedentes familiares de cáncer gástrico, de estos el 71% (20) fueron positivos para *H.pylori*, y de acuerdo al parentesco reportaron: 65% (13) para abuelos, 25% (5) tíos, 5% (1) papa, 5% (1) primo. No se encontró asociación entre la presencia de *H.pylori* y tener antecedentes de familiares de cáncer gástrico.

Factores nutricionales

Para el indicador Talla//Edad se observo que el 8% (34) de los 447 escolares presento retraso del crecimiento al estar por debajo de -2 Desviaciones Estandar (< -2 DE). (OMS 2007). De estos

escolares el 91% (31) son positivos para *H.Pylori*. El 0,45% (2) de los escolares son altos > 2 DE. (OMS2007) y fueron negativos para *H.pylori* (tabla 4).

Para el indicador IMC//Edad se encontró desnutrición aguda o bajo peso <-2 DE. (OMS 2007) en el 3% (13), de los cuales el 76% (10) fueron positivos para *H.pylori*. Se identifico riesgo de sobrepeso en 13,4% >1 DE. (OMS 2007), y obesidad > 2 DE. (OMS 2007) en el 4% (17) de los escolares de los cuales el 70.5% (12) son positivos. No se encontró asociación entre el IMC//Edad y la presencia de *H.pylori*. (tabla 4)

Tabla 4 Relación entre la presencia de *H.pylori* y estado nutricional de los escolares Centro Educativo Distrital. Localidad de Kennedy. Bogotá.

Variable	Total (%)	<i>H.pylori</i> positivo (%)
Talla //Edad		
Baja talla severa < - 3DE	2/447(0.5)	2/2(100)
Baja talla < - 2DE	32/447(7)	29/32(91)
Normal > -2 DE y <2 DE	410/447(92)	297/41(72)
Altos > 2 DE	2/447(0.4)	0/2(0)
IMC // Edad		
Bajo peso severo < - 3DE	1/447(0.2)	1/1 100)
Bajo peso < - 2DE	12/447 2.7)	9/12(75)
Normal > -2 DE y < 1 DE	357/447(80)	268/357(75)
Riesgo de sobrepeso > 1 DE	60/447 13)	38/60 63)
Obesidad > 2DE	17/447 4)	12/17(70)

En relación con el patrón de consumo de comidas diarias se encontró que: El 88% (394) de los escolares desayunan, 60% (268) toma refrigerio en la mañana, el 91% (409) almuerza, 46% (206) toman refrigerio en la tarde y el 76% (341) cenan. No se encontró asociación entre el patrón de comidas y la presencia de *H.pylori*. En cuanto al consumo de grupos de alimentos se encontró que el 22% (99) de los escolares consume a diario verduras y el 38% (170) frutas, el 11% (51) toma tinto diariamente, 13% (58) toma gaseosas, y el 9% (42) refirió tomar bebidas alcohólicas quincenal. No se encontró asociación entre mayor o menor consumo de alimentos por sexo frente a la presencia de *H.pylori*. El 34% (153) consume comidas callejeras de los cuales el 71% (109) son positivos si encontrar asociación.

Discusión

La prevalencia de *H.pylori* (73%) observada en esta población corresponde a la definida para un país en vía de desarrollo, donde la infección se adquiere en los primeros años de vida^(1,10,11,17,18). Esta prevalencia contrasta con las tasas inferiores al 10% como Francia, en donde la prevalencia en niños menores de 6 años es de menos de 1%, entre 6 y 12 años de 5% y entre 15 y 18 años de 15%⁽¹⁹⁾, Bélgica, en donde en niños entre 2 y 14 años, la prevalencia es de 7,3%⁽²⁰⁾, en Inglaterra, en los menores de 20 años, es de 10%⁽²¹⁾ y en Japón del 11%⁽²²⁾.

La prevalencia de *H.pylori* en nuestro estudio es ligeramente mayor a la prevalencia del 69% reportada en niños entre 2- 9 años en la población rural de Aldana Nariño Colombia, quienes utilizaron también el test de aliento⁽¹¹⁾. Observamos que después de los 7 años los varones presentan mayor prevalencia y aumenta significativamente a partir de los 10 años frente a las niñas ($p= 0.003$). Igualmente el estudio de Goodman et-al en Nariño y el de Özen et-al en Turkia

337 63
17 322

esta práctica puede incidir en la alta prevalencia ya que la bacteria se puede transmitir fecal-oral ⁽²⁾.
18)

La prevalencia total de la baja talla fue del 8%. El 91% de estos niños fueron positivos para *H.pylori*. Nuestros resultados no son comparables con otros estudios ya que los patrones de referencia que utilizamos fueron los últimos establecidos por la OMS (2007), pero si podemos comparar las tendencias frente a esta variable.

El estudio de Özen et- al, no encontró diferencias significativas para el retraso en talla ⁽¹⁰⁾. Sin embargo el estudio realizado por Bravo Et-al y el estudio de Mera et-al encontraron una asociación entre la infección por *H.pylori* y disminución en la velocidad del crecimiento sobre todo en los 2 primeros meses después de la adquisición de la infección. ^(9,25). Igualmente el estudio de Richter et-al encontró que la infección se asocia al retraso del crecimiento ⁽²⁶⁾. En nuestra muestra encontramos asociación entre la infección por *H.pylori* y baja talla.

Rocco y Nardone reportan que los hallazgos más relevantes reportados por los estudios observacionales en relación a la dieta encontraron una relación inversa entre el consumo de frutas y verduras y el riesgo de cáncer gástrico ⁽²⁾. Los escolares de nuestra muestra presentaron un bajo consumo de verduras y frutas. Solo el 22% y 38% de los niños las consumen a diario respectivamente, además la variedad es muy limitada. Las frutas como naranjas, mandarinas enviadas en los refrigerios escolares por lo general no son consumidas por la mayoría de los niños. Las frutas y verduras son fuente importante de vitamina C, carotenoides, flavonoides y fibra, y se les atribuye factor protector contra el CA de estómago. Goodman et-al encontró que los niños que consumen menos de 2 porciones de fruta al día, tenían mayor probabilidad de infección por *H.pylori* ⁽²⁷⁾. Simon et-al encontró que niveles séricos altos de vitamina C se

asocian inversamente a la seroprevalencia por *H.pylori* y a la cepa *Cag-A*, se presume que los niveles bajos de vitamina C seria un factor de riesgo para la infección por *H.pylori*, ulcera péptica y cáncer gástrico ^(27,28,29,30).

También observamos que el 53% (53) de los niños que consumen a diario verduras son positivos para *H.pylori* frente a un 75% (261) que no las consumen, igualmente el 72% (123) de los niños que consumen frutas a diario son positivos para *H. pylori* frente a un 74%(205) que no las consumen. Se presume que el bajo consumo de frutas y verduras sumado a las prácticas deficientes del lavado de manos, podrían estar incidiendo en la alta prevalencia de esta población. Vale mencionar que en este estudio se omitió indagar aspectos relacionados con las buenas prácticas de manipulación del agua y de los alimentos.

Tras esta investigación preliminar quedan más preguntas que respuestas, que la comunidad científica debe abordar con entereza y determinación sobre todo en nuestro país, en donde el cáncer gástrico, y la baja talla, son problemas de salud pública y están relacionados con la infección por *H.pylori*. La prevención desde edades tempranas se hace indispensable ^(1,3,4,5,31,32,33,34). Más que mostrar la prevalencia de esta infección, es reconocer a la infección por *H.pylori* como un problema de salud pública y emprender el camino hacia la prevención control y erradicación de la infección por *H.pylori* para impactar positivamente la salud de nuestra población.

Conclusiones

La prevalencia de infección por *H.pylori* fue alta en esta población y corresponde a la de un país en vía de desarrollo. Fue mayor en sexo masculino y aumenta significativamente a partir de los 7 años. Ser del sexo masculino, pertenecer al estrato2-1(medio-bajo), compartir la cama, no lavarse

las manos, no consumir frutas ni verduras son factores que posiblemente inciden en la prevalencia de la infección por *H.pylori*. en esta población

Los niños que se ven afectados por baja talla, en el 91 % de los caso son positivos para *H.pylori*, situación que amerita nuevos estudios que evalúen esta asociación.

De acuerdo con las estadísticas los niños estudiados positivos para *H.pylori* tendrán entre 6 a 7 veces más probabilidad de desarrollar Cáncer Gástrico en la etapa adulta además de las enfermedades gastrointestinales asociadas a la infección por *H.pylori* que eventualmente podrán desarrollar de no corregir y orientar estilos de vida saludables, y erradicar el *H.pylori*.

Se requieren de estudios interdisciplinarios para abordar y dar una respuesta de manera integral a la infección por *H.pylori*.

Agradecimientos

Al Dr Martin Gotteland del Instituto de Nutrición y Tecnología de Alimento: INTA de la Universidad de Chile, Claudia Lucia Manzano ND Gerente Mercadeo Nutrición & Salud Alpina Productos Alimenticios S.A, Alexandra Mondragón ND MSc docente de la Universidad Javeriana, a los niños, padres, directivas y profesores del Colegio Distrital de Bogotá, Gloria Escobar Bacterióloga coordinadora del Laboratorio Hematológico de Medellín, Dr Victor Daniel Betancur epidemiólogo Universidad de Antioquia, Maria Nelsy Hurtado estadista Universidad Nacional, a las estudiantes de sexto semestre de Nutrición y Dietética de la Pontificia Universidad Javeriana, Sandra Mogollón ND, Luz Stella Pinzón ND y Diana Stupiñan ND

Bibliografía

1. Correa P. Helicobacter Pylori Infection and Gastric Cancer. Cancer epidemiology, Biomarkers And Prevention. 2003. Vol.12 suppl.238s-241s

2. Rocco A, Nardone G. Diet H.pylori infection and gastric cancer: Evidence and controversies. *World J Gastroenterol* 2007; 13(21):2901-2912.
3. International Agency for Research on Cancer. Infection with *Helicobacter pylori*. IARC Monogr Eval Carcinog Risk Hum 1994.61;177-240.
4. Sánchez W, Peña D, García D. MORTALIDAD POR CÁNCER GÁSTRICO EN COLOMBIA, INFORME EPIDEMIOLÓGICO. *Revista Colombiana de cirugía* 2008. Vol 23.
5. Imrie C, Rowland M, Bourke B, Drumm B. Is *Helicobacter pylori* Infection in Childhood a Risk Factor for Gastric Cancer? *Pediatrics* 2001. 107(2); 373-380.
6. Ferreccio C, Rollán A, Harris PR, Serrano C, Gederlini A, Margozzini P, et-al. Gastric Cancer is Related to Early *Helicobacter pylori* Infection in a High-Prevalence Country. *Cáncer Epidemiol Biomarkers Prev* 2007;16(4):662-667
7. Windle HJ, Kelleher D, Crabtree JE, Childhood *Helicobacter pylori* Infection and Growth Impairment in Developing Countries: A Vicious Cycle? *Pediatrics* 2007;119:e754-e759.
8. Cárdenas VM., Mulla Z D, Ortiz M, Graham DY. Iron Deficiency and *Helicobacter pylori* Infection in the United States. *Am J Epidemiol* 2006;163:127-134
9. Bravo LE, Mera R, Reina JC, Pradilla A, Alzate A, Fonham EE, Correa P. Impact of *Helicobacter pylori* Infection on Growth Of Children: A Prospective Cohort Study. *J Pediatric Gastroenterol Nutr* 2003. Vol 37;614-619.
10. Özen A., Ertem D., y Pehlivanoglu E.(2006) "Natural History and Sintomatology of *Helicobacter Pylori* in Childhood and factors Determining the Epidemiology of infection". *Journal of Pediatrics Gastroenterology and nutrition*. 42;2006; pp.398-404.

11. Goodman KJ, Correa P, Tenganá HJ, Ramirez H, DeLARRY JP, Guerrero O, et-al.
Helicobacter pylori Infection in the Colombian Andes: A Population-based Study of
 Transmission Pathways. *Am J Epidemiol* 1996. Vol 144, No 3; 290-299.
12. Malaty HM, Graham DY. Importance of childhood socioeconomic status on the current
 prevalence of *Helicobacter pylori* infection". *Gut* 1994; 35: 742-745.
13. Morris L, *Helicobacter pylori*: Epidemiology and Routes of Transmission. *Epidemiol*
Rev 2000. Vol 22, No 2;283-297.
14. Elitsur Y, Tolia V, Gilger MA, Reeves-Garcia J, Schmidt-Sommerfield E, Opekum A,
 et-al. Urea Breath Test in Children: The United States Prospective, Multicenter Study.
Helicobacter 2009. 14:134-140.
15. 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* Published Online 2007 Jan 17.
<http://gut.bmj.com/cgi/content/abstract/gut.2006.101634v2>.
16. Savarino v, Vigneri S, Celle G. The ¹³C urea Breath test in the diagnosis of *Helicobacter*
pylori infection. *Gut* 1999.45 (suppl 1):118-122.
17. Malaty HM, El-Kasabany A, Graham DY, Miller CC, Reddy SG, Srinivasan SR, et-al.
 Age at acquisition of *Helicobacter pylori* infection: a follow-up study from infancy to
 adulthood. *The Lancet* 2002, Volume 359, Pages 931 – 935.
18. Azevedo NF, Huntington J, Goodman K J. The Epidemiology of *Helicobacter pylori* and
 Public Health Implications. *Helicobacter* 2009. Vol 14 (Suppl. 1): 1-7.
19. Mégraud F, Brassens-Rabbe MP, Denis F, Belbouri A, Hoa DQ. Seroepidemiology of
Campylobacter pylori infection in various populations. *J Clin Microbiol.* Aug
 1989;27(8):1870-1873.

20. Blecker U, Hauser B, Lanciers S, Peeters S, Suys B, Vandenplas Y. The prevalence of *Helicobacter pylori*-positive serology in asymptomatic children. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. Apr 1993;16(3):252-256.
21. Vincent P, Gottrand F, Pernes P, et al. High prevalence of *Helicobacter pylori* infection in cohabiting children. Epidemiology of a cluster, with special emphasis on molecular typing. *Gut*. Mar 1994;35(3):313-316.
22. Asaka M, Kimura T, Kudo M, et al. Relationship of *Helicobacter pylori* to serum pepsinogens in an asymptomatic Japanese population. *Gastroenterology*. Mar 1992;102(3):760-766.
23. Gonzales AC. Infección por *helicobacter pylori* en niños. ¿Que podemos Hacer?. *Enf Emerg* 2002. Vol4(1); 9-10.
24. Gutierrez O, Aponte D, Paramo D, Sabbag LC, Angel, LA, Cardona H, Otero W, et-al. Seroprevalencia y factores de riesgo asociados con la infección por *Helicobacter pylori* en niños. *Rev. Colomb. gastroenterol* 2001.Vol16(1);19-22,
25. Mera RM, Correa P, Fontham EE, Reina JC, Pradilla A, Alzate A, Bravo LE. Effects of a New *Helicobacter pylori* Infection on Height and Weight in Colombian Children. *Ann of Epidemiol* 2006.Vol 16; 347-35
26. Richter T, Richter T, List S, Muller DM, Deustecher J, Uhlig HH, et-al. Five- to 7- Year-Old Children With *Helicobacter pylori* Infection Are Smaller Than *Helicobacter*-Negative Children: A Cross-Sectional Population-Based Study of 3.315 Children. *J Pediatr Gastroenterol Nut* 2001,Vol33, No4;472- 475.
27. Goodman, KJ, Correa P, Tengana HJ, Delany JP, Collazos T. Nutritional factors and *Helicobacter pylori* infecction in Colombian Children. *J Pedsiatric Gastroenterol Nutr* 1997;25:507-517.

28. Jarosz M, Dzieniszewski J, Dabrowska-Ufniars E, et-al. Effects of high dose vitamin C, treatment on *Helicobacter pylori* infection and total vitamin C concentration in gastric juice. Eur J Cancer Prev1998. Vol 7;449-454.
29. Simon JA, Hudes ES, Perez-Perez GI. Relation of Serum Ascorbic Acid to *Helicobacter pylori* Serology in US Adults: the Third National Health and Nutrition Examination Survey. Journal of the American College of Nutrition 2003, Vol. 22, No. 4, 283-289.
30. Kamiji MM, Oliveira RB. Efeito da administração de vitamina C sobre a colonização do estômago por *Helicobacter pylori*. Arq Gastroenterol 2005. Vol 42, no.3; 167-162.
31. Instituto Colombiano de Bienestar Familiar. Encuesta Nacional de la Situación Nutricional en Colombiana 2005. Bogotá 2006.
32. Mbulaiteye SM, Hisada M, El-Omar EM. Helicobacter Pylori associated global gastric cancer burden. Front Biosci. 2009;14:1490-1504.
33. Bourke B. Will treatment of Helicobacter pylori infection in childhood alter the risk of developing gastric cancer? Can J Gastroenterol 2005. Vol19(7):409-411.
34. Uemura N, Okamoto S, Yamamoto S, et al. Helicobacter pylori infection and the development of gastric cancer. N Engl J Med 2001. Vol 345(11):784-789.

ANEXOS

ANEXO A COLOMBIA. PROYECCIONES DE POBLACIÓN A NIVEL NACIONAL Y DEPARTAMENTAL Y PRINCIPALES INDICADORES DEMOGRÁFICOS 2005-2020.

Cuadro A1
Nacional. Población quinquenal, según grupos de edad, años y sexo
2005-2020

Grupos de edad	2005	2010	2015	2020
Hombres				
Total	21.169.835	22.465.760	23.799.306	25.138.723
0-4	2.218.169	2.188.958	2.210.770	2.239.250
5-9	2.278.704	2.198.365	2.177.365	2.199.040
10-14	2.302.998	2.259.161	2.185.842	2.176.288
15-19	2.133.052	2.254.152	2.219.157	2.172.593
20-24	1.846.870	2.059.923	2.198.407	2.178.097
25-29	1.648.663	1.778.725	2.006.631	2.152.974
30-34	1.452.285	1.592.485	1.735.285	1.967.423
35-39	1.440.672	1.409.377	1.558.512	1.704.337
40-44	1.345.296	1.405.255	1.382.258	1.532.148
45-49	1.120.669	1.312.256	1.376.522	1.355.043
50-54	902.304	1.087.530	1.278.085	1.340.953
55-59	714.135	865.359	1.046.218	1.229.346
60-64	542.379	671.124	813.233	981.665
65-69	442.457	491.943	608.687	737.814
70-74	331.951	379.420	421.359	521.378
75-79	235.497	260.950	296.954	329.154
80 y más	213.734	250.777	284.021	321.220
Mujeres				
Total	21.718.757	23.042.445	24.403.311	25.773.706
0-4	2.125.605	2.091.405	2.110.307	2.134.802
5-9	2.186.529	2.106.650	2.081.524	2.100.176

Continuación

Grupos de edad	2005	2010	2015	2020
10-14	2.188.883	2.166.386	2.093.557	2.078.969
15-19	2.045.165	2.140.149	2.126.902	2.080.771
20-24	1.884.021	1.987.617	2.096.837	2.096.664
25-29	1.715.348	1.836.803	1.951.645	2.066.225
30-34	1.543.459	1.674.251	1.805.294	1.923.880
35-39	1.556.573	1.510.529	1.648.542	1.781.871
40-44	1.453.573	1.530.869	1.490.791	1.629.677
45-49	1.222.994	1.429.777	1.510.790	1.472.051
50-54	975.800	1.199.349	1.406.967	1.487.614
55-59	771.372	949.427	1.171.765	1.376.338
60-64	590.494	740.647	914.678	1.129.702
65-69	501.307	553.986	698.400	865.808
70-74	388.232	453.167	503.751	638.253
75-79	282.059	328.699	386.098	431.638
80 y más	287.343	342.734	405.463	479.267

Ambos Sexos

Total	42.888.592	45.508.205	48.202.617	50.912.429
0-4	4.343.774	4.280.363	4.321.077	4.374.052
5-9	4.465.233	4.305.015	4.258.889	4.299.216
10-14	4.491.881	4.425.547	4.279.399	4.255.257
15-19	4.178.217	4.394.301	4.346.059	4.253.364
20-24	3.730.891	4.047.540	4.295.244	4.274.761
25-29	3.364.011	3.615.528	3.958.276	4.219.199
30-34	2.995.744	3.266.736	3.540.579	3.891.303
35-39	2.997.245	2.919.906	3.207.054	3.486.208
40-44	2.798.869	2.936.124	2.873.049	3.161.825
45-49	2.343.663	2.742.033	2.887.312	2.827.094
50-54	1.878.104	2.286.879	2.685.052	2.828.567
55-59	1.485.507	1.814.786	2.217.983	2.605.684
60-64	1.132.873	1.411.771	1.727.911	2.111.367
65-69	943.764	1.045.929	1.307.087	1.603.622
70-74	720.183	832.587	925.110	1.159.631
75-79	517.556	589.649	683.052	760.792
80 y más	501.077	593.511	689.484	800.487

Fuente: DANE.

78
316
331



« Previous

Gastroenterology
Volume 110, Issue 4, Pages 1031-1035, April 1996

Next »

Print or Share This Page

Get Full Text Elsewhere

Helicobacter pylori in the drinking water in Peru

K. Hultén, SW. Han, H. Enroth, PD. Klein, AR. Opskup, RH. Gilman, DG. Evans, L. Engstrand, DY. Graham, FA. El-Zaatar

Abstract PDF

Abstract

BACKGROUND & AIMS: An association between water sources and the prevalence of *Helicobacter pylori* infection in Peruvian children was shown previously. The aim of this study was to confirm the presence of *H. pylori* in drinking water in the same community. **METHODS:** Forty-eight drinking water samples from different locations in pueblo jovenes (new towns) near Lima were collected. Samples were frozen until technology advanced to the point at which *H. pylori* might be reliably detected. Immunomagnetic beads coated with anti-*H. pylori* immunoglobulin Gs were used to concentrate *H. pylori*, and two polymerase chain reaction assays based on different *H. pylori* genes were used. One was a polymerase chain reaction for the detection of the *H. pylori* adhesin subunit encoding gene, and the second was a previously validated *H. pylori* 16S ribosomal RNA reverse transcriptase-polymerase chain reaction. **RESULTS:** The expected 375-base pair fragment from the adhesin gene was amplified from 24 water samples. The expected 500-base pair fragment of the 16S ribosomal RNA and the 375-base pair fragment of the adhesin gene were amplified from 11 of the samples. **CONCLUSIONS:** These results confirm the presence of *H. pylori* in drinking water in Peru and are consistent with conclusions from a previous epidemiological study of the same population. This provides additional evidence for waterborne transmission of *H. pylori* in some environments. (Gastroenterology 1996 Apr;110(4):1031-5)

No full text is available. To read the body of this article, please view the PDF online.

PII: S0016-5085(96)00156-4

© 1996 American Gastroenterological Association. Published by Elsevier Inc. All rights reserved.

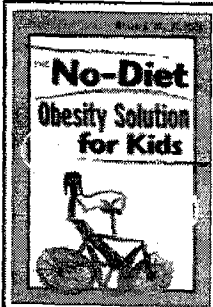
« Previous

Gastroenterology
Volume 110, Issue 4, Pages 1031-1035, April 1996

Next »

Article Tools

- Email Abstract
- Add to My Reading List
- Rights/Permissions
- Request Reprints
- Related Articles
- Export Citation
- Create Citation Alert



Help Your
Overweight
Pediatric
Patients

Reliable advice and weight
loss success stories.



Int J Syst Evol Microbiol 56 (2006), 2291-2295;

DOI 10.1099/ijs.0.64379-0

© 2006 International Union of Microbiological Societies

Roseomonas aquatica sp. nov., isolated from drinking water

Virginia Gallego, Cristina Sánchez-Porro,
Maria Teresa García and Antonio Ventosa

Department of Microbiology and Parasitology, Faculty of Pharmacy,
University of Sevilla, 41012 Sevilla, Spain

Correspondence

Antonio Ventosa
ventosa@us.es

This Article

- ▶ [Abstract](#) FREE
- ▶ [Full Text \(PDF\)](#)
- ▶ [Alert me when this article is cited](#)
- ▶ [Alert me if a correction is posted](#)
- ▶ [Citation Map](#)

Services

- ▶ [Email this article to a friend](#)
- ▶ [Similar articles in this journal](#)
- ▶ [Similar articles in PubMed](#)
- ▶ [Alert me to new issues of the journal](#)
- ▶ [Download to citation manager](#)
- ▶ [Get Permissions](#)

Citing Articles

- ▶ [Citing Articles via HighWire](#)
- ▶ [Citing Articles via CrossRef](#)
- ▶ [Citing Articles via Google Scholar](#)

Google Scholar

- ▶ [Articles by Gallego, V.](#)
- ▶ [Articles by Ventosa, A.](#)
- ▶ [Search for Related Content](#)

PubMed

- ▶ [PubMed Citation](#)
- ▶ [Articles by Gallego, V.](#)
- ▶ [Articles by Ventosa, A.](#)

Agricola

- ▶ [Articles by Gallego, V.](#)
- ▶ [Articles by Ventosa, A.](#)

▶ ABSTRACT

Strain TR53^T, a Gram-negative, non-motile, non-spore-forming and strictly aerobic coccobacillus, isolated from the drinking water distribution system of Seville, Spain, was subjected to polyphasic taxonomic analysis using a combination of phenotypic, genotypic and phylogenetic features. Phylogenetic analysis of 16S rRNA gene sequences showed that strain TR53^T had highest similarity to members of the genus *Roseomonas*, with sequence similarity values between 95.7 % (to *Roseomonas* genomospecies 5 strain ATCC 49960) and 94.0 % (to *Roseomonas gilardii* subsp. *rosea* ATCC 49956^T). On the basis of its phenotypic characteristics, 16S rRNA gene sequence data and DNA G+C content (68.6 mol%), strain TR53^T represents a novel species of the genus *Roseomonas*, for which the name *Roseomonas aquatica* sp. nov. is proposed. The type strain of *Roseomonas aquatica* is TR53^T (=CECT 7131^T=JCM 13556^T).

▲ TOP
▪ ABSTRACT
▼ MAIN TEXT
▼ REFERENCES

75
346
334

The GenBank/EMBL/DDBJ accession number for the 16S rRNA gene sequence of strain TR53^T is AM231587.

► MAIN TEXT

▲ TOP
▲ ABSTRACT
• MAIN TEXT
▼ REFERENCES

Currently, the genus *Roseomonas* comprises the species *Roseomonas gilardii* (the type species), containing *R. gilardii* subsp. *gilardii* (Rihs *et al.*, 1993[□]) and *R. gilardii* subsp. *rosea* (Han *et al.*, 2003[□]), *R. cervicalis*, *R. fauriae* (Rihs *et al.*, 1993[□]), *R. mucosa* (Han *et al.*, 2003[□]) and *R. lacus* (Jiang *et al.*, 2006[□]). Members of the genus *Roseomonas* belong to the *Alphaproteobacteria* and are pink, Gram-negative coccobacilli with oxidative metabolism that, historically, have been cultured from clinical specimens and are considered to be pathogenic for humans (Rihs *et al.*, 1993[□]; McLean *et al.*, 2006[□]). The recent description of *R. lacus* (Jiang *et al.*, 2006[□]), isolated from freshwater sediment, proves that species of this genus can be isolated from environmental samples. Moreover, other bacterial strains related to this genus have been isolated from very different environments such as drinking water distribution systems (September *et al.*, 2004[□]) or associated with deep-water marine invertebrates (Sfanos *et al.*, 2005[□]), indicating that members of the genus *Roseomonas* are widely distributed in nature (Jiang *et al.*, 2006[□]).

During a broad study carried out in 2003–2004 that focussed on the identification of culturable bacteria occurring in the drinking water distribution system of Seville, Spain, approximately 600 bacterial strains were isolated. Drinking water samples (25 l) were concentrated using a tangential flow filtration system (Filtron), plated on plate count agar (PCA; Difco) and R2A (Difco), and incubated at 28 °C for 7 days. Morphologically different colonies were picked in order to obtain pure cultures. The majority of the pink-pigmented isolates belonged to the genus *Methylobacterium* (Gallego *et al.*, 2005a[□], b[□], c[□], 2006[□]), but strain TR53^T differed strongly from isolates related to this genus, being unable to grow on one-carbon compounds such as methanol. This isolate was studied phenotypically, phylogenetically and genotypically.

Chromosomal DNA was isolated and purified according to the method described by Marmur (1961)[□]. The 16S rRNA gene was amplified using universal primers 16F27 and 16R1488 as described by Mellado *et al.* (1995)[□]. The almost-complete nucleotide sequence was determined by NBT-Newbiotechnic (Seville, Spain) using an automated DNA sequencer model 3100 (Applied Biosystems). Subsequent sequence analysis was conducted using the ARB program package (Ludwig *et al.*, 2004[□]). Following the recommendations of Ludwig *et al.* (1998)[□], alternative treeing methods (maximum-parsimony, distance matrix and maximum-likelihood) were used. A comparison of 16S rRNA gene sequences revealed that the sequence of strain TR53^T (1387 bp) displayed the highest level of similarity to those of *Roseomonas* species; highest sequence similarities were to *Roseomonas* genomospecies 5 strain ATCC 49960 (95.7 %) and *R. cervicalis* ATCC 49957^T (94.9 %). The sequence similarity between strain TR53^T and *R. fauriae* ATCC 49958^T was only 85.6 %. The similarity values between *R. fauriae* and *Roseomonas* species with validly published names were lower than 86.3 %, indicating that *R. fauriae* probably represents a member of a different genus, as has been suggested previously (Cohen *et al.*, 2004[□]; Han *et al.*, 2003[□]; Jiang *et al.*, 2006[□]). Similarly, the similarity between *Roseomonas* genomospecies 6 and *R. fauriae* is 96.6 % and that between

76
350
335

Roseomonas genomospecies 6 and the other *Roseomonas* species is lower than 86.2 %. Overall, the 16S rRNA phylogenetic analysis clearly shows that strain TR53^T constitutes a branch of its own that is separate from the other species of the genus *Roseomonas* (Fig. 1). Our results suggest that the proposal of the genera *Teichococcus* and *Muricoccus* should be investigated in detail since they might represent species of the genus *Roseomonas*. However, this genus is rather heterogeneous and more in-depth studies are necessary. On the other hand, the similarity between strain TR53^T and the type strains of species of the genera *Teichococcus* and *Muricoccus* were 94.9 and 95.5 %, respectively. According to phylogenetic data, strain TR53^T belongs to the genus *Roseomonas*, but as it only shows a relatively low similarity to other species, strain TR53^T represents a novel species of this genus.

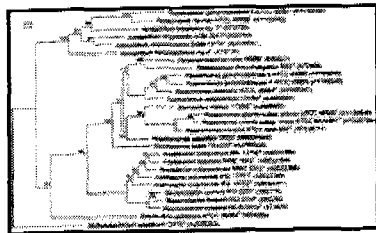


Fig. 1. Phylogenetic tree based on 16S rRNA gene sequence comparison showing the relationship between *Roseomonas aquatica* sp. nov. TR53^T, species belonging to the genus *Roseomonas* and related genera. The tree was constructed using the maximum-parsimony method. Bootstrap values >50 % are indicated at branch-points. Bar, 1 % sequence divergence.

[View larger version \(23K\):](#)

[\[in this window\]](#)

[\[in a new window\]](#)

The G+C content of genomic DNA was determined from the mid-point value (T_m) of the thermal denaturation profile (Marmur & Doty, 1962) using the equation of Owen & Hill (1979), as described previously (Ventosa *et al.*, 1999). The DNA G+C content of strain TR53^T is 68.6 mol%, a value that is within the range for members of the genus *Roseomonas* (Rihs *et al.*, 1993; Jiang *et al.*, 2006).

The shape and motility of bacterial cells were observed under a phase-contrast microscope (x1000) from a 48 h liquid culture in R2A medium. Growth at different temperatures (4–40 °C), pH (4–12) and NaCl concentrations (0–5 % NaCl) was tested on R2A agar medium. The isolate was also tested for its ability to grow on nutrient agar medium (NM) and tryptone soy agar (TSA; Difco). H₂S production and acid and gas production from glucose, lactose and sucrose were determined on Kligler iron agar (Difco). Oxidase activity was detected using a 1 % solution of tetramethyl-*p*-phenylenediamine (Difco) (Kovacs, 1956). Catalase activity was tested by picking up a young colony and smearing it in a drop of H₂O₂. The methyl red and Voges–Proskauer reactions were performed in Clark–Lubs' medium (Scharlau). Indole production was determined with Kovacs' reagent in 1 % tryptone broth. Simmons' citrate test was carried out in Simmons' citrate agar (Sigma). For the determination of acid production from different carbohydrates (1 %), a medium containing 0.5 % peptone, 0.5 % NaCl and 0.001 % phenol red was used (Cowan & Steel, 1974). Nitrate reduction was tested on nitrate broth containing 0.2 % KNO₃ (Skerman, 1967). Urease activity was studied in Christensen's medium (Christensen, 1946). Hydrolysis of gelatin, starch and DNA was tested in the corresponding agar media (Scharlau). Tween 80 hydrolysis was tested in R2A medium containing 1 % Tween 80 and 0.02 % CaCl₂. Casein hydrolysis was tested in R2A medium

supplemented with 2 % skimmed milk (Difco). Use of methanol was tested in mineral medium K (Doronina *et al.*, 1998). API 20NE and API ZYM strips (bioMérieux) were inoculated according to the manufacturer's instructions and incubated at 28 °C. API 50CH was inoculated as described by Kersters *et al.* (1984). API ZYM strips were read after 4 and 24 h and API 20NE and API 50CH were read after 7 and 14 days. Antibiotic susceptibility was determined according to the conventional Kirby–Bauer method (Bauer *et al.*, 1966).

Strain TR53^T is a Gram-negative coccobacillus that is strictly aerobic and measures 1.0 µm wide by 1.2–2.0 µm long when grown for 48 h at 28 °C in R2A liquid medium. Cells were non-motile. Colonies of strain TR53^T were irregular, pale-pink-pigmented and mucoid with a diameter of 0.5–1.0 mm on R2A agar after 5 days incubation at 28 °C. On NM, colonies were not mucoid. Strain TR53^T was slow-growing, typically requiring 3–4 days under optimal conditions to give observable turbidity. Growth did not occur in the presence of ≥ 2 % NaCl. Other phenotypic features are shown in the species description. Differential phenotypic characteristics of strain TR53^T and other *Roseomonas* species are summarized in Table 1.

View this table: Table 1. Differential characteristics of strain TR53^T and members of the
[\[in this window\]](#) genus *Roseomonas*
[\[in a new window\]](#)

Strains: 1, TR53^T; 2, *R. lacus* TH-G33^T; 3, *R. mucosa* ATCC BAA-692^T; 4, *R. gilardii* subsp. *gilardii* ATCC 49956^T; 5, *R. gilardii* subsp. *rosea* ATCC BAA-691^T; 6, *R. cervicalis* ATCC 49957^T; 7, *R. fauriae* ATCC 49958^T.
 ND, Not determined; v, variable; +, positive; –, negative. Data from Jiang *et al.* (2006), Han *et al.* (2003), Rihs *et al.* (1993) and this study.

The whole-cell fatty acid composition was determined using the MIDI system (Microbial Identification System). Cells were cultured for 48 h at 28 °C on R2A medium at pH 7.0 and cellular fatty acids were analysed using GC at the Belgian Co-ordinated Collections of Microorganisms, Laboratory of Microbiology of Gent (BCCM/LMG), Gent, Belgium (Miller, 1982; Kämpfer & Kroppenstedt, 1996). The predominant fatty acids of strain TR53^T were C₁₈:1ω7c, iso-C₁₅:0 2-OH and/or C₁₆:1ω7c, C₁₈:1 2-OH and C₁₆:0. This is similar to the fatty acid profile of *R. gilardii* subsp. *rosea* (Han *et al.*, 2003), except that strain TR53^T has a higher percentage of iso-C₁₅:0 2-OH and/or C₁₆:1ω7c. However, the fatty acid profile of strain TR53^T differed from that reported for *R. lacus* (Jiang *et al.*, 2006). Analysis of quinones was carried out by the Identification Service of the DSMZ (Braunschweig, Germany). As with other member of the genus *Roseomonas*, the major quinone is ubiquinone-10 (Q-10).

On the basis of the molecular and physiological characteristics of strain TR53^T, it is proposed that this strain represents a novel species, *Roseomonas aquatica* sp. nov.

Description of *Roseomonas aquatica* sp. nov.

Roseomonas aquatica (a.qua'ti.ca. L. fem. adj. *aquatica* found in water, aquatic).

78
382
337

Gram-negative coccobacillus, 1.0x1.2–2.0 µm, occurring singly and in pairs (in liquid R2A medium at 28 °C after 48 h) (Fig. 2[†]). Cells are non-motile, non-spore-forming and strictly aerobic. Colonies are irregular, pale-pink-pigmented, mucoid, with a diameter of 0.5–1.0 mm on R2A agar after 4 days incubation at 28 °C. On NM, colonies are not mucoid and have a diameter ≤0.5 mm after 4 days incubation. Slow-growing, typically requiring 2–4 days under optimal conditions in order to observe turbidity in liquid media. Does not grow on TSA. Does not grow in the presence of ≥2 % NaCl. Growth occurs at 15–35 °C (optimal temperature 25–28 °C) and pH 5.0–9.0 (optimal pH 7.0). Catalase- and urease-positive. Oxidase-negative. Indole, methyl red and Voges–Proskauer reactions and Simmons' citrate test are negative. Tween 80, starch, gelatin, casein and DNA are not hydrolysed. Hydrogen sulfide is not produced. Nitrate is reduced to nitrite. Acid is not produced oxidatively from D-galactose, D-mannose, D-glucose, D-fructose, D-maltose, glycerol, D-mannitol, D-trehalose, D-xylose or lactose. Does not use any of the carbohydrates or acids present in API 20NE and API 50CH strips as sole carbon sources, i.e. glycerol, erythritol, D- and L-arabinose, D-ribose, D- and L-xylose, D-adonitol, methyl β-D-xylopyranoside, D-galactose, D-glucose, D-fructose, D-mannose, L-sorbose, L-rhamnose, dulcitol, inositol, D-mannitol, D-sorbitol, methyl α-D-mannopyranoside, methyl α-D-glucopyranoside, N-acetylglucosamine, amygdalin, arbutin, aesculin, salicin, D-cellobiose, D-maltose, D-lactose, D-melibiose, sucrose, D-trehalose, inulin, D-melezitose, D-raffinose, starch, glycogen, xylitol, gentiobiose, D-turanose, D-lyxose, D-tagatose, D- and L-fucose, D- and L-arabitol, potassium gluconate, potassium 2-ketogluconate, potassium 5-ketogluconate, capric acid, adipic acid, malic acid, trisodium citrate and phenylacetic acid. Alkaline and acid phosphatase, esterase (C4), esterase lipase (C8), leucine arylamidase and naphthol-AS-BI-phosphohydrolase are present. Negative for arginine dihydrolase, lipase (C14), valine arylamidase, cystine arylamidase, trypsin, α-chymotrypsin, α-galactosidase, β-galactosidase, β-glucuronidase, α-glucosidase, β-glucosidase, N-acetyl-β-glucosaminidase, α-mannosidase and α-fucosidase. Cellular fatty acids are C₁₂:0 (0.6 %), iso-C₁₆:0 and/or C₁₄:0 3-OH (2.7 %), iso-C₁₅:0 2-OH and/or C₁₆:1ω7c (27.0 %), C₁₆:0 (12.5 %), C₁₆:0 3-OH (2.9 %), C₁₈:1ω7c (31.3 %), C₁₈:0 (1.5 %) and C₁₈:1 2-OH (21.5 %). The major quinone is ubiquinone-10 (Q-10). Resistant to (µg per disc) tetracycline (30), rifampicin (30), streptomycin (10), neomycin (10), erythromycin (15), kanamycin (30), vancomycin (30), nalidixic acid (30), novobiocin (30), penicillin (10 units), bacitracin (10 units), cephalothin (30), chloramphenicol (30) and trimethoprim/sulfamethoxazole (1.25/23.75).

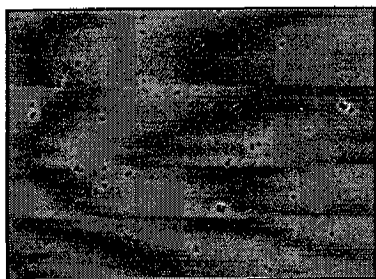


Fig. 2. Phase-contrast photomicrograph of cells of *Roseomonas aquatica* sp. nov. TR53^T. Bar, 10 µm.

View larger version (71K):

[\[in this window\]](#)

[\[in a new window\]](#)

79

383
338

The type strain is strain TR53^T (=CECT 7131^T=JCM 13556^T), isolated from drinking water. The DNA G+C content of the type strain is 68.6 mol% (T_m).

► ACKNOWLEDGEMENTS

V. G. was supported by a fellowship from the Spanish Ministerio de Educación y Ciencia. This work was supported by grants from the Quality of Life and Management of Living Resources Programme of the European Commission (QLK3-CT-2002-01972), the Spanish Ministerio de Ciencia y Tecnología (BMC2003-01344) and from the Junta de Andalucía.

► REFERENCES

Bauer, A. W., Kirby, W. M. M., Sherris, J. C. & Turck, M. (1966). Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *Am J Clin Pathol* **45**, 493–496. [Medline]

▲ TOP
▲ ABSTRACT
▲ MAIN TEXT
• REFERENCES

Christensen, W. B. (1946). Urea decomposition as a means of differentiating *Proteus* and paracolon cultures from each other and from *Salmonella* and *Shigella* types. *J Bacteriol* **52**, 461–466. [Free Full Text]

Cohen, M. F., Han, X. Y. & Mazzola, M. (2004). Molecular and physiological comparison of *Azospirillum* spp. isolated from *Rhizoctonia solani* mycelia, wheat rhizosphere, and human skin wounds. *Can J Microbiol* **50**, 291–297. [CrossRef] [Medline]

Cowan, S. T. & Steel, K. J. (1965). *Manual for the Identification of Medical Bacteria*. London: Cambridge University Press.

Doronina, N. V., Trotsenko, Y. A., Krausova, V. I., Boulygina, E. S. & Tourova, T. P. (1998). *Methylopila capsulata* gen. nov., sp. nov., a novel non-pigmented aerobic facultatively methylotrophic bacterium. *Int J Syst Bacteriol* **48**, 1313–1321. [Abstract/Free Full Text]

Gallego, V., García, M. T. & Ventosa, A. (2005a). *Methylobacterium hispanicum* sp. nov. and *Methylobacterium aquaticum* sp. nov., isolated from drinking water. *Int J Syst Evol Microbiol* **55**, 281–287. [Abstract/Free Full Text]

Gallego, V., García, M. T. & Ventosa, A. (2005b). *Methylobacterium variabile* sp. nov., a methylotrophic bacterium isolated from an aquatic environment. *Int J Syst Evol Microbiol* **55**, 1429–1433. [Abstract/Free Full Text]

Gallego, V., García, M. T. & Ventosa, A. (2005c). *Methylobacterium isbiliense* sp. nov., isolated from the drinking water system of Sevilla, Spain. *Int J Syst Evol Microbiol* **55**, 2333–2337. [Abstract/Free Full Text]

Gallego, V., García, M. T. & Ventosa, A. (2006). *Methylobacterium adhaesivum* sp. nov., a methylotrophic bacterium isolated from drinking water. *Int J Syst Evol Microbiol* **56**, 339–342. [Abstract/Free Full Text]

Han, X. Y., Pham, A. S., Tarrand, J. J., Rolston, K. V., Helsel, L. O. & Levett, P. N. (2003). Bacteriologic characterization of 36 strains of *Roseomonas* species and proposal of *Roseomonas mucosa* sp. nov. and *Roseomonas gilardii* subsp. *rosea* subsp. nov. *Am J Clin Pathol* **120**, 256–264.

80
354
339

[CrossRef][Medline]

Jiang, C.-Y., Dai, X., Wang, B.-J., Zhou, Y.-G. & Liu, S.-J. (2006). *Roseomonas lacus* sp. nov., isolated from freshwater lake sediment. *Int J Syst Evol Microbiol* **56**, 25–28. [Abstract/Free Full Text]

Kämpfer, P. & Kroppenstedt, R. M. (1996). Numerical analysis of fatty acid patterns of coryneform bacteria and related taxa. *Can J Microbiol* **42**, 989–1005.

Kerstens, K., Hinz, K.-H., Hertle, A., Segers, P., Lievens, A., Siegmann, O. & De Ley, J. (1984). *Bordetella avium* sp. nov., isolated from the respiratory tracts of turkeys and other birds. *Int J Syst Bacteriol* **34**, 56–70.

Kovacs, N. (1956). Identification of *Pseudomonas pyocyanea* by the oxidase reaction. *Nature* **178**, 703. [Medline]

Ludwig, W., Strunk, O., Klugbauer, S., Klugbauer, N., Weizenegger, N., Neumaier, J., Bachleitner, M. & Schleifer, K.-H. (1998). Bacterial phylogeny based on comparative sequence analysis. *Electrophoresis* **19**, 554–568. [CrossRef][Medline]

Ludwig, W., Strunk, O., Westram, R. & 29 other authors (2004). ARB: a software environment for sequence data. *Nucleic Acids Res* **32**, 1363–1371. [Abstract/Free Full Text]

Marmur, J. (1961). A procedure for the isolation of deoxyribonucleic acid from microorganisms. *J Mol Biol* **3**, 208–218.

Marmur, J. & Doty, P. (1962). Determination of the base composition of deoxyribonucleic acid from its thermal denaturation temperature. *J Mol Biol* **4**, 109–118.

McLean, T. W., Rouster-Stevens, K., Woods, C. R. & Shetty, A. K. (2006). Catheter-related bacteremia due to *Roseomonas* species in pediatric hematology/oncology patients. *Pediatr Blood Cancer* **46**, 514–516. [CrossRef][Medline]

Mellado, E., Moore, E. R. B., Nieto, J. J. & Ventosa, A. (1995). Phylogenetic inferences and taxonomic consequences of 16S ribosomal DNA sequence comparison of *Chromohalobacter marismortui*, *Volcaniella eurihalina*, and *Deleya salina* and reclassification of *V. eurihalina* as *Halomonas eurihalina* comb. nov. *Int J Syst Bacteriol* **45**, 712–716. [Abstract/Free Full Text]

Miller, L. T. (1982). Single derivatization method for routine analysis of bacterial whole-cell fatty acid methyl esters, including hydroxy acids. *J Clin Microbiol* **16**, 584–586. [Abstract/Free Full Text]

Owen, R. J. & Hill, L. R. (1979). The estimation of base compositions, base pairing and genome sizes of bacterial deoxyribonucleic acids. In *Identification Methods for Microbiologists*, 2nd edn, pp. 217–296. Edited by F. A. Skinner & D. W. Lovelock. London: Academic Press.

Rihs, J. D., Brenner, D. J., Weaver, R. E., Steigerwalt, A. G., Hollis, D. G. & Yu, V. L. (1993). *Roseomonas*, a new genus associated with bacteremia and other human infections. *J Clin Microbiol* **31**, 3275–3283. [Abstract/Free Full Text]

September, S. M., Brozel, V. S. & Venter, S. N. (2004). Diversity of nontuberculous *Mycobacterium* species in biofilms of urban and semiurban drinking water distribution systems. *Appl Environ Microbiol* **70**, 7571–7573. [Abstract/Free Full Text]

Sfanos, K., Harmody, D., Dang, P., Ledger, A., Pomponi, S., McCarthy, P. & Lopez, J. (2005). A molecular systematic survey of cultured microbial associates of deep-water marine invertebrates. *Syst Appl Microbiol* **28**, 242–264. [CrossRef][Medline]

Skerman, V. B. D. (1967). *A Guide to the Identification of the Genera of Bacteria*, 2nd edn. Baltimore: Williams & Wilkins.

Ventosa, A., Gutierrez, M. C., Kamekura, M. & Dyll-Smith, M. L. (1999). Proposal to transfer *Halococcus turkmenicus*, *Halobacterium trapanicum* JCM 9743 and strain GSL-11 to *Haloterrigena turkmenica* gen. nov., comb. nov. *Int J Syst Bacteriol* **49**, 131–136. [[Abstract/Free Full Text](#)]

This article has been cited by other articles:



International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology

[HOME](#)

M. S. Kim, K. S. Baik, S. C. Park, M. S. Rhee, H.-M. Oh, and C. N. Seong
***Roseomonas frigidaquae* sp. nov., isolated from a water-cooling system**

Int J Syst Evol Microbiol, July 1, 2009; 59(7): 1630 - 1634.

[[Abstract](#)] [[Full Text](#)] [[PDF](#)]



International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology

[HOME](#)

C. Sanchez-Porro, V. Gallego, H.-J. Busse, P. Kampfer, and A. Ventosa
Transfer of *Teichococcus ludipueritiae* and *Muricoccus roseus* to the genus *Roseomonas*, as *Roseomonas ludipueritiae* comb. nov. and *Roseomonas rosea* comb. nov., respectively, and emended description of the genus *Roseomonas*

Int J Syst Evol Microbiol, May 1, 2009; 59(5): 1193 - 1198.

[[Abstract](#)] [[Full Text](#)] [[PDF](#)]



International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology

[HOME](#)

Y.-Q. Zhang, L.-Y. Yu, D. Wang, H.-Y. Liu, C.-H. Sun, W. Jiang, Y.-Q. Zhang, and W.-J. Li
***Roseomonas vinacea* sp. nov., a Gram-negative coccobacillus isolated from a soil sample**

Int J Syst Evol Microbiol, September 1, 2008; 58(9): 2070 - 2074.

[[Abstract](#)] [[Full Text](#)] [[PDF](#)]



International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology

[HOME](#)

S.-H. Yoo, H.-Y. Weon, H.-J. Noh, S.-B. Hong, C.-M. Lee, B.-Y. Kim, S.-W. Kwon, and S.-J. Go
***Roseomonas aerilata* sp. nov., isolated from an air sample**

Int J Syst Evol Microbiol, June 1, 2008; 58(6): 1482 - 1485.

[[Abstract](#)] [[Full Text](#)] [[PDF](#)]



International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology

[HOME](#)

J.-H. Yoon, S.-J. Kang, H. W. Oh, and T.-K. Oh
***Roseomonas terrae* sp. nov.**

Int J Syst Evol Microbiol, November 1, 2007; 57(11): 2485 - 2488.

[[Abstract](#)] [[Full Text](#)] [[PDF](#)]

82
356
341

This Article

- ▶ [Abstract](#) FREE
- ▶ [Full Text \(PDF\)](#)
- ▶ [Alert me when this article is cited](#)
- ▶ [Alert me if a correction is posted](#)
- ▶ [Citation Map](#)

Services

- ▶ [Email this article to a friend](#)
- ▶ [Similar articles in this journal](#)
- ▶ [Similar articles in PubMed](#)
- ▶ [Alert me to new issues of the journal](#)
- ▶ [Download to citation manager](#)
- ▶ [© Get Permissions](#)

Citing Articles

- ▶ [Citing Articles via HighWire](#)
- ▶ [Citing Articles via CrossRef](#)
- ▶ [Citing Articles via Google Scholar](#)

Google Scholar

- ▶ [Articles by Gallego, V.](#)
- ▶ [Articles by Ventosa, A.](#)
- ▶ [Search for Related Content](#)

PubMed

- ▶ [PubMed Citation](#)
- ▶ [Articles by Gallego, V.](#)
- ▶ [Articles by Ventosa, A.](#)

Agricola

- ▶ [Articles by Gallego, V.](#)
- ▶ [Articles by Ventosa, A.](#)

[HOME](#) [HELP](#) [FEEDBACK](#) [SUBSCRIPTIONS](#) [ARCHIVE](#) [SEARCH](#) [TABLE OF CONTENTS](#)

[INT J SYST EVOL MICROBIOL](#) [MICROBIOLOGY](#) [J GEN VIROL](#)
[J MED MICROBIOL](#) [ALL SGM JOURNALS](#)

83

357
342

Statistics Applied to Clinical Trials

Third Edition

T.J. Cleophas, A.H. Zwinderman and
T.F. Cleophas

 Springer

84
358
243

CHAPTER 28

ACCURACY OF DIAGNOSTIC TESTS

1. INTRODUCTION

Clinical trials of disease management require accurate tests for making a diagnosis/patient follow-up. Whatever test, screening, laboratory or physical, investigators involved need to know how good it is. The goodness of a diagnostic test is a complex question that is usually estimated according to three criteria: (1) its reproducibility, (2) precision, and (3) accuracy. Reproducibility is synonymous to reliability, and is, generally, assessed by the size of differences between duplicate measures. Precision of a test is synonymous to the spread in the test results, and can be estimated, e.g., by standard deviations/standard errors. Accuracy is synonymous to validity, and can be defined as a test's ability to show which individuals have the disease in question and which do not. Unlike the first two criteria, the third is hard to quantify, first, because it is generally assessed by two estimators rather than one, namely sensitivity and specificity defined as the chance of a true positive and true negative test respectively. A second problem is, that these two estimators are severely dependent on one another. If one is high, the other is, as a rule, low, vice versa. Due to this mechanism it is difficult to find the most accurate diagnostic test for a given disease. In this chapter we review the current dual approach to accuracy and propose that it be replaced with a new method, called the overall accuracy level. The main advantage of this new method is that it tells you exactly how much information is given by the test under assessment. It, thus, enables you to determine the most accurate qualitative tests for making a diagnosis, and can also be used to determine the most accurate threshold for positive quantitative tests.

2. OVERALL ACCURACY OF A QUALITATIVE DIAGNOSTIC TEST

A test that provides a definitive diagnosis, otherwise called a gold standard test, is 100% accurate. But this test may be too expensive, impractical or simply impossible. Instead, inexpensive but less accurate screening tests, depending on the presence of a marker, are used. Prior to implementation, such tests must be assessed for level of accuracy against the gold standard test. Generally, such tests produce a yes/no result, and are, therefore, called qualitative tests, e.g., the presence of a positive blood culture test, a positive antinuclear antibody test, a positive leucocytase urine test, and many more. In order to assess accuracy of such tests, the overall accuracy level can be calculated from a representative sample of patients in whom the gold-standard result is known (Table 1).

389
344

Bogotá 25 de Agosto de 2011

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 06-128821- -00016-0000

Fecha: 2011-08-26 15:28:35 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 2 PATENTES Eve: 1 REGDEPOSITO
Act. 603 RENUCPODER Folios: 1

Señora
Alix Carmenza Cespedes de Vergel
Jefe de División de Nuevas Creaciones
SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
E. S. D.

Referencia: Expediente No 6 128821
Solicitud de Patente de Invención titulada: "UN METODO MEDIANTE UNA
PRUEBA DE ALIENTO PARA LA DETECCION DE MICROORGANISMOS PATOGENOS"

Solicitante: GERMAN ANTONIO CAMPUZANO MAYA

Asunto: Renuncia de Poder

Claudia del Pilar Montoya Arias, mayor de edad y vecina de la ciudad de Bogotá D.C, identificada según aparece al pie de mi firma, en mi condición de apoderada de Germán Antonio Campusano Maya, me permito manifestar que renuncio al poder a mi otorgado para el trámite de la solicitud de patente arriba citada, ante la oficina de patentes de la Superintendencia de Industria y Comercio en el tramite anunciado de la referencia.

Atentamente

Claudia + Montoya A

Claudia del Pilar Montoya
CC 30233465 de Manizales
T.P. 193812

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

RAD: 06-128821- -17-0

FECHA: 2011-09-14 15:40:54

DEP: 2020 DIRECCION DE NUEVAS

EVE: 1 REGDEPOSITO

CREACIONES

TRA: 2 PATENTES

FOLIOS: 1

ACT: 330 COMUNICACIÓN

Bogotá D.C.

2020

Doctor

GERMAN ANTONIO CAMPUZANO MAYA

CARRERA 43 C NO. 5-33

MEDELLIN-ANTIOQUIA-COLOMBIA

Asunto: Radicación: 06-128821- -17-0
Trámite: 2
Evento: 1
Actuación: 330
Folios: 1

Apreciado Doctor:

En cumplimiento de lo dispuesto por el artículo 69 del Código de Procedimiento Civil, comunico a usted que mediante escrito de fecha 26 de agosto de 2011 radicado bajo el número 06-128821-00016-0000, la doctora Claudia del Pilar Montoya, quien venía actuando en calidad de apoderada, presentó renuncia al poder conferido para actuar dentro de la solicitud de patente de invención que se tramita dentro del expediente de la referencia.

Teniendo en cuenta lo anterior, todas las decisiones que se surtan dentro del presente trámite administrativo, le serán notificadas directamente a usted en su calidad de solicitante, o a quien haga sus veces.

Atentamente,


JOSE LUIS SALAZAR LOPEZ
DIRECTOR DE NUEVAS CREACIONES (C)

Elaboró: Carlos Daniel Lemus

Revisó: José Luis Salazar

Aprobó: José Luis Salazar

361
346

¹³C-urea breath test for the diagnosis of *Helicobacter pylori* infection before treatment: is citric acid necessary?

J.P. Gisbert
M.A. Vazquez
I. Jimenez
A.I. Cruzado
D. Carpio
E. Del Castillo
M.J. Martin
A. Morales
R. Pajares
A. Rodriguez
J.M. Pajares

Aim. ¹³C-urea breath test is one of the best methods for the diagnosis of *Helicobacter pylori* infection. Although a citric acid solution is generally used prior to urea intake, the superiority of this strategy has not been sufficiently demonstrated. Thus, our aim was to compare ¹³C-urea breath test with and without citric acid solution, to evaluate whether ¹³C-urea breath test can also achieve favourable results when the test meal is omitted.

Methods. ¹³C-urea breath test with and without citric acid were compared prospectively in 53 subjects without prior *Helicobacter pylori* eradication therapy prescription. Basal samples and at 15', 30', and 45' after taking 100 mg of ¹³C-urea were obtained. The gold standard for *Helicobacter pylori* diagnosis was the ¹³C-urea breath test result with citric acid at 30', and "Delta Over Baseline" values >5 at that time were considered positive.

Results. The prevalence of *Helicobacter pylori* infection was 68%. Mean Delta Over Baseline values with citric acid at 15', 30' and 45' were: 29.6±39, 30.8±37 and 24.6±27; whereas respective values without citric acid were lower: 14.9±22, 12.2±17 and 10±13 ($p<0.001$ for all comparisons, Wilcoxon test for paired data). Thus, the area under the curve (constructed with Delta Over Baseline values at different times) with citric acid was 85±102, and 37±50 without citric acid ($p<0.001$). Correlation coefficient between Delta Over Baseline values with and without citric acid at 30' was 0.73 ($p<0.0001$). The percentage of subjects achieving the highest Delta Over Baseline value at 15', 30' and 45' with citric acid was 51%, 30% and 19%, whereas without citric acid it was 51%, 26% and 23% (non-significant differences). The area under receiver operating characteristic curve for ¹³C-urea breath test without citric acid was: 0.98 at 15', 1 at 30', and 0.97 at 45'. The best cut-off point for ¹³C-urea breath test without citric acid at 30' was anywhere between 3.3 and 3.9 (that is, a lower value than that usually considered with citric acid), with 100% (95% confidence interval, 90-100%) sensitivity and 100% (82-100%) specificity.

Conclusions. ¹³C-urea breath test values with citric acid are higher than those obtained without citric acid, although this difference does not imply a diagnostic superiority in untreated patients when considering ¹³C-urea breath test without citric acid at 30'. Therefore, for the diagnosis of *Helicobacter pylori* infection in untreated patients, citric acid solution in ¹³C-urea breath test protocol can be omitted.

From:

Department of Gastroenterology,
University Hospital of La Princesa,
Madrid, Spain.

Address for correspondence:

Dr. J.P. Gisbert,
Playa de Mojaoar 29, Urb. Bonanza,
28009 Boadilla del Monte, Madrid,
Spain.
Fax: +34-914137208.
E-mail: gisbert@meditex.es

Submitted June 22, 1999.
Revised October 4, 1999.
Accepted October 20, 1999.

Digest Liver Dis 2000;32:20-4

Key words: breath test; citric acid; diagnosis; *Helicobacter pylori*; urea

95%; epsilon value ($\pm\%$), 10. Hence, the number of *H. pylori* positive patients necessary was 32. As the estimated *H. pylori* prevalence was 60%, the calculated total number of patients was 53.

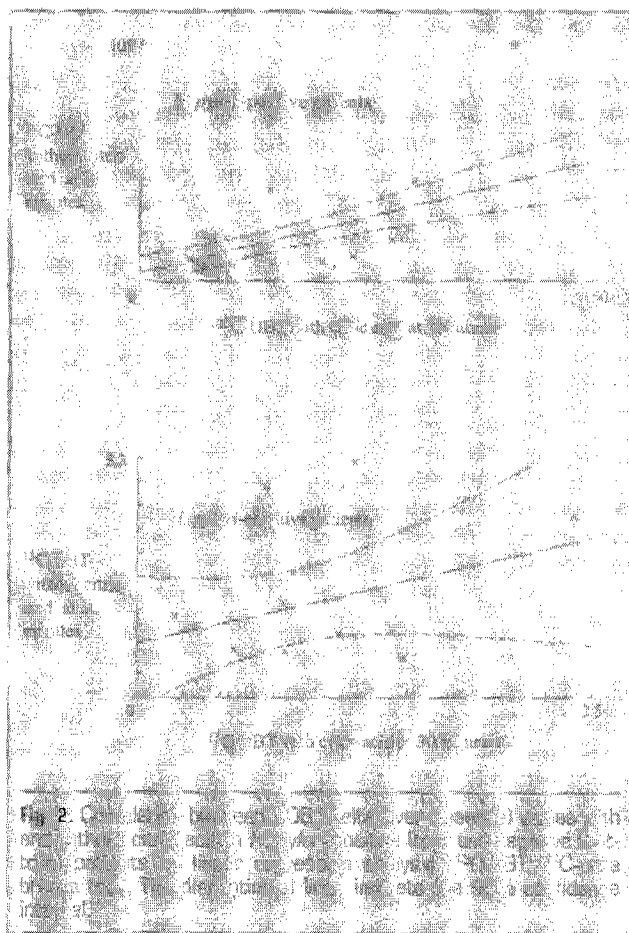
Results

Mean age $\pm$ standard deviation was 36 ± 16 years. Forty-nine percent of the patients were males, and 38% were smokers. The prevalence of *H. pylori* infection (evaluated by a positive ^{13}C -UBT with CA at 30 minutes, which is the measurement usually considered) was 68% (36/53).

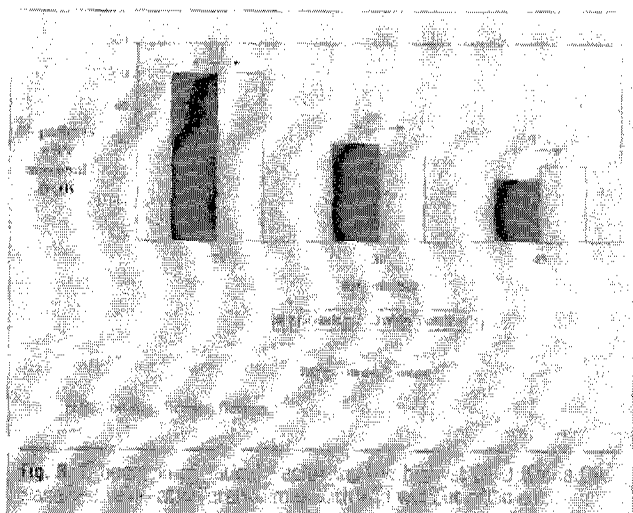
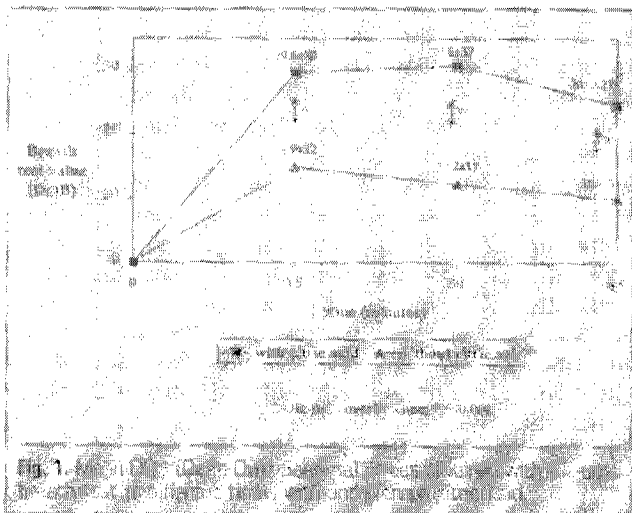
Mean DOB values with CA at 15, 30 and 45 minutes were: 29.6 ± 39 , 30.8 ± 37 and 24.6 ± 27 ; whereas respective values without CA were lower: 14.9 ± 22 , 12.2 ± 17 and 10 ± 13 ($p < 0.001$ for all comparisons, Wilcoxon test for paired data) (Fig. 1). Thus, the area under the curve (constructed with DOB values at different times) with CA was 85 ± 102 , and 37 ± 50 without CA ($p < 0.001$).

Correlation coefficient between DOB values with and without CA at 30 minutes was 0.73 (determination coefficient, 0.53; standard error (SE), 12; $p < 0.0001$). Figure 2 shows this correlation separately for *H. pylori* positive and negative patients.

The percentage of subjects achieving the highest DOB value at 15, 30 and 45 minutes with CA was 51%, 30% and 19%, whereas without CA it was 51%, 26% and 23% (statistically non-significant differences) (Fig. 3). The area under ROC curve for ^{13}C -UBT without CA (taking the ^{13}C -UBT at 30 minutes with CA as the gold standard) was: 0.98 (SE, 0.01) at 15 minutes, 1 (SE, 0) at 30 minutes, and 0.97 (SE, 0.02) at 45 minutes. The best cut-off point for ^{13}C -UBT without CA at 30 minutes was anywhere between 3.3 and 3.9 (that is, a low-



er value than that usually considered with CA), with 100% (95% CI: 90-100%) sensitivity and 100% (82-100%) specificity. However, if the cut-off point for ^{13}C -



363
348

pylori-positive and *H. pylori*-negative subjects, but in that study, however, no test became falsely negative. Nevertheless, the optimal cut-off point may differ depending on the test meal. In that respect, 5 is the cut-off point usually considered when performing the ^{13}C -UBT with CA^{1,2}, but our results indicate that the cut-off point for DOB value should be lowered (from 5 to approximately 3.5) if ^{13}C -UBT without CA at 30 minutes is going to be used.

Nevertheless, other authors have concluded that CA as the test drink is superior to the previously proposed semiliquid test meals. Thus Dominguez-Muñoz et al.⁹ found that the sensitivity of the ^{13}C -UBT for the diagnosis of *H. pylori* infection was almost 100% with all three test meals included in their study, but this high value was obtained earlier by giving CA. This same group compared, in a new study²⁰, the diagnostic accuracy of the ^{13}C -UBT with either orange juice or CA solution as a test drink, and found better results when CA was used.

One limitation of our study is that it only includes untreated patients. Perhaps, CA might not be necessary in cases of high *H. pylori* urease activity, as in patients with no eradication therapy being administered. However, it needs to be demonstrated that this is also true in situations where *H. pylori* density is lower, e.g. when ^{13}C -UBT is used to confirm the eradication of the organism after antibiotic therapy, as the intragastric bacterial load significantly decreases after treatment even if the patient is still infected. Furthermore, the accuracy of ^{13}C -UBT without CA after proton pump inhibitor therapy, where *H. pylori* density is lower in the antrum, also needs to be assessed in future studies.

In summary, we conclude that ^{13}C -UBT values with CA are higher than those obtained without CA, although this difference does not imply a diagnostic superiority in untreated patients when considering ^{13}C -UBT without CA at 30 minutes. Therefore, for the diagnosis of *H. pylori* infection in untreated patients, CA solution in ^{13}C -UBT protocol can be omitted, with the consequent advantages of better tolerance and greater simplicity, speed and economy of the test. Nevertheless, if ^{13}C -UBT without CA at 30 minutes is going to be used, the cut-off point for DOB value should be lowered.

References

- Logan RPH. Urea breath tests in the management of *Helicobacter pylori* infection. *Gut* 1998;43(Suppl 1):S47-50.
- Perri F, Festa V, Clemente R, Quitadamo M, Andriulli A. Methodological problems and pitfalls of urea breath test. *Ital J Gastroenterol Hepatol* 1998;30(Suppl 3):S315-9.
- Braden B, Duan LP, Caspary WF, Lembcke B. More convenient ^{13}C -urea breath test modifications still meet the criteria for valid diagnosis of *Helicobacter pylori* infection. *Z Gastroenterol* 1994;32:198-202.
- Graham DY, Klein PD, Evans DJ Jr, Evans DG, Alpert LC, Opekun AR, et al. *Campylobacter pylori* detected non-invasively by the ^{13}C -urea breath test. *Lancet* 1987;i:1174-7.
- Logan RPH, Dill S, Bauer FE, Walker MM, Hirschl AM, Gummett PA, et al. The European ^{13}C -urea breath test for the detection of *Helicobacter pylori*. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 1991;3:915-21.
- Gisbert JP, Boixeda D, Redondo C, Alvarez Baleriola I, Jimenez I, Perez Garcia JJ, et al. Breath test in the diagnosis of *Helicobacter pylori* infection: concordance with histological methods and correlation with anatomopathological lesions of the gastric mucosa. *Rev Esp Enferm Dig* 1996;88:259-64.
- Hanley JA, McNeil BJ. The meaning and use of the area under a receiver operating characteristic (ROC) curve. *Radiology* 1982;143:29-36.
- Eggers RH, Kukp A, Tegeler R, Lüdtkte FE, Lepsien G, Meyer B, et al. A methodological analysis of the ^{13}C -urea breath tests for detection of *Helicobacter pylori* infections: high sensitivity and specificity within 30 minutes using 75 mg of ^{13}C -urea. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 1990;2:437-44.
- Dominguez-Muñoz JE, Leodolter A, Sauerbruch T, Malfertheiner P. A citric acid solution is an optimal test drink in the ^{13}C -urea breath test for diagnosis of *H. pylori* infection. *Gut* 1997;40:459-62.
- Graham DY, Runke-Garcia D, Anderson SY, Malaty HM, Klein PD. Comparison of citric acid, sodium citrate, ascorbic acid, glucose, and pentagastrin on urease activity in the UBT [abstract]. *Gut* 1998;43(Suppl 2):A51.
- Dominguez-Muñoz JE, Manes G, Leodolter A, Malfertheiner P. Effect of intraduodenal application of acid and lipids on gastric tone in healthy subjects (abstract). *Gut* 1996;39(Suppl 3):A110.
- Malaty M, El-Zimaity HMT, Genta RM, Klein PD, Graham DY. Twenty-minute fasting version of the US ^{13}C -urea breath test for the diagnosis of *H. pylori* infection. *Helicobacter* 1996;1:165-7.
- Everts B, Hamlet A, Patterson A. A 10 minutes solid dosage C-13 urea breath test for diagnosis of *Helicobacter pylori* infection [abstract]. *Gastroenterology* 1996;110:A105.
- Wang WM, Jan CM, Chen L, Wu DC, Perng DS, Su YC, et al. A simplified protocol without fasting and test meal in the ^{13}C -urea breath test for the diagnosis of *Helicobacter pylori* (abstract). *Gut* 1996;39(Suppl 2):A108.
- Wong CY, Lam SK, Lai KC, Hu WHC, Lau GKK, Lai CL, et al. A simplified C13-Urea breath test for detection of *Helicobacter pylori* infection (abstract). *Digestive Disease Week, Orlando, Florida, 1999*:2562.
- Marshall BJ, Plankey MW, Hoffman SR, Boyd CL, Dye KR, Frierson NF, et al. A 20-minute breath test for *H. pylori*. *Am J Gastroenterol* 1991;86:438-45.
- Debonnie JC, Pauwels S, Raat A, de Meeus Y, Haot J, Maniquet P. Quantification of *Helicobacter pylori* infection in gastritis and ulcer disease using a simple and rapid carbon-14-urea breath test. *J Nucl Med* 1991;32:1192-8.
- Atherton JC, Washington N, Blackshaw PE, Greaves JL, Perkins AC, Hawkey CJ, et al. Effect of a test meal on the intragastric distribution of urea in the C-13 urea breath test for *Helicobacter pylori*. *Gut* 1995;36:337-40.
- Menegatti M, Stanghellini V, Landi F, Farinelli S, Mucci F, Ali A, et al. ^{13}C with and without test meal vs ^{14}C urea breath tests to detect *H. pylori* before and after therapy. *Gut* 1997;41(Suppl 3):A162.
- Leodolter A, Dominguez-Muñoz JE, Von Arnim U, Malfertheiner P. Citric acid or orange juice for the ^{13}C -urea breath test: the impact of pH and gastric emptying. *Aliment Pharmacol Ther* 1999;13:1057-62.