

PRODUCCIÓN DE UN KIT DE ¹⁴C-ÚREA PARA LA DETECCIÓN DEL HELICOBACTER PILORI. REPORTE PRELIMINAR

Aliaga E.⁽¹⁾; Mendoza G.⁽²⁾; Martínez F.⁽²⁾; Santiago J.⁽³⁾; Robles A.⁽¹⁾; Huatay L.⁽¹⁾; Cavero, L.⁽¹⁾

(1) *Planta de Producción de Radioisótopos – IPEN / Lima - Perú*

(2) *Centro de Medicina Nuclear – IPEN / INEN / Lima - Perú*

(3) *Dirección General de Promoción y Desarrollo Tecnológico – IPEN / Lima – Perú*

RESUMEN

La detección de *H. pilori* se realiza en los hospitales mediante endoscopia, método invasivo y molesto para el paciente. El examen de aliento empleando urea marcada con ¹³C o ¹⁴C es un método no invasivo, sencillo, rápido y de elevada sensibilidad y especificidad, pero su elevado costo lo hace inaccesible a los pacientes de bajos recursos económicos. La masificación del examen de aliento facilitará el diagnóstico precoz del *H. pilori*, sobre todo la evaluación de la eficacia del tratamiento, lo que permitirá una disminución de la morbi-mortalidad y una mejora en la calidad de vida de la población afectada. Para hacer realidad esto se requiere disminuir el costo de los insumos (cápsulas de ¹⁴C-úrea y líquido capturador de CO₂) y facilitar las mediciones de ¹⁴C. En los laboratorios del IPEN se han elaborado la cápsula conteniendo 1 μCi de ¹⁴C-úrea y el líquido capturador de CO₂ con resultados similares al producto comercial, además de una llave de una sola vía que permita la obtención de la muestra de aliento en forma segura para el paciente.

1 INTRODUCCIÓN

El *H. pilori* es una bacteria que ha sido asociada a gastritis crónica, úlcera péptica, cáncer gástrico y linfoma gástrico (1,2,3,4,5,6,7,8,9). En el Perú, entre el 60 al 80% de la población está infectada con esta bacteria. La detección de *H. pilori* se realiza en los hospitales mediante endoscopia, método invasivo y molesto para el paciente. El examen de aliento empleando urea marcada con ¹³C o ¹⁴C es un método no invasivo, sencillo, rápido, de elevada sensibilidad y especificidad, pero su elevado costo lo hace inaccesible a los pacientes de bajos recursos económicos. La masificación del examen de aliento facilitará el diagnóstico precoz y adecuado del *H. pilori*, sobre todo la evaluación de la eficacia del tratamiento, permitiendo un tratamiento oportuno con una disminución en la morbi-mortalidad de la población y una mejora en

la calidad de vida de la misma. Para hacer realidad esto se requiere disminuir el costo de los insumos (cápsulas de ¹⁴C-úrea y líquido capturador de CO₂) y facilitar las mediciones de ¹⁴C, por ello en el IPEN se está elaborando un kit que consta de la cápsula de ¹⁴C-úrea, del vial con el líquido capturador de CO₂ y una llave de una sola vía.

En el presente trabajo se presentan los avances obtenidos en la producción del kit.

2 MATERIALES Y MÉTODOS

La ¹⁴C-úrea fue adquirida de Moravek Biochemicals (MC 141, 55 mCi/mmol), la lactosa de Merck, el hidróxido de bencetonio de Sigma (B 2156) y se emplearon cápsulas de gelatina N° 2

2.1 Producción de la cápsula de ¹⁴C-úrea.

Se elaboraron cápsulas conteniendo cada una 1 μCi de ¹⁴C-úrea y lactosa como excipiente, en un recinto limpio para evitar la contaminación microbiana.

2.2 Producción del líquido capturador de CO₂.

Se elaboró una solución con la siguiente composición:

- Hidróxido de bencetonio 1M/metanol 1,0 mL
- Metanol 1,5 mL
- Solución alcohólica de timolftaleína 0,1 mL

El pH de la solución resultante fue de 12,3

2.3 Dispositivo de una sola vía.

Como el líquido capturador de CO₂ es cáustico, se requiere contar con un sistema de colección de la muestra de aliento que sea seguro para el paciente. Con este fin se diseñaron dos prototipos de llave de una sola vía.

3 RESULTADOS

1. *Evaluación de la cápsula producida en nuestro laboratorio:* se realizaron dos evaluaciones a una misma persona con un intervalo de 14 días, la primera evaluación se realizó empleando el producto comercial y en la segunda se empleó la cápsula elaborada en el IPEN, colectándose la muestra de aliento en el líquido capturador de CO₂ comercial. Un nivel de radiactividad inferior a 50 DPM es considerado como negativo, entre 50 y 200 DPM como indeterminado y mayor de 200 DPM como positivo. Los resultados son mostrados en la tabla 1.

Tabla 1. Evaluación de la cápsula.

		CÁPSULA COMERCIAL		
		P	N	I
CÁPS. IPEN	P	13		
	N		2	
	I			

2. *Evaluación del líquido capturador de CO₂:* se empleó cápsula de ¹⁴C-úrea comercial, la muestra de aliento fue colectada tanto en el líquido capturador de CO₂ comercial como en el producido en el IPEN. La tabla 2 muestra los resultados obtenidos.

Tabla 2. Evaluación del líquido capturador de CO₂

		LÍQUIDO COMERCIAL		
		P	N	I
LÍQ. IPEN	P	17		
	N		3	
	I			

3. *Evaluación del producto final:* se comparó el producto elaborado en el IPEN (cápsula y líquido capturador de CO₂) frente al comercial. Los resultados son mostrados en la tabla 3.

Tabla 3. Evaluación del producto del IPEN.

		PROD. COMERCIAL		
		P	N	I
PROD. IPEN	P	13		
	N		3	
	I			

4. *Evaluación del tiempo de colección de la muestra de aliento:* como el tiempo de eliminación del CO₂ en el aire espirado es variable en cada persona y en cada población se evaluó el nivel de ¹⁴C en el

aire espirado a diversos tiempos, en ocho voluntarios, los resultados son mostrados en la tabla 4.

Tabla 4. Medición del nivel de ¹⁴C en el aire espirado a diversos tiempos.

	8'	10'	12'	15'
M1	ND	37,4	58,4	69,4
M2	1420,4	1709,4	2328,4	2174,4
M3	90,4	332,4	1004,4	1343,4
M4	427,4	977,4	1888,4	1931,4
M5	105,4	274,4	312,4	390,4
M6	1820,4	1796,4	1614,4	1303,4
M7		1375,4	1836,4	
M8		480,4	878,4	

5. *Estudio clínico:* se está evaluando el kit producido en voluntarios a los cuales se les ha realizado previamente endoscopia y biopsia.
6. *Dispositivo de una sola vía:* los dos tipos de dispositivos elaborados cumplían con el requisito de dar seguridad al paciente al momento de la colección del aliento; sin embargo, el primer dispositivo al ser metálico resultó pesado, por lo que se elaboró un segundo dispositivo de acrílico, siendo éste más práctico.

4 DISCUSIÓN DE RESULTADOS

La tabla 1 muestra que la información obtenida con las cápsulas elaboradas en nuestro laboratorio es similar a la obtenida con la cápsula comercial.

El líquido capturador de CO₂ elaborado en nuestro laboratorio da buenos resultados, aunque la cantidad de CO₂ capturado es ligeramente menor cuando se le compara con el comercial, se requiere un volumen de 3 mL para obtener un nivel de radiactividad similar al comercial. En los laboratorios de la PRDT del IPEN se está evaluando un líquido capturador de CO₂ alternativo.

Es importante definir el momento en que se debe coleccionar el aliento del paciente. La tabla 4 muestra que se requiere un tiempo mayor a los 10 minutos convencionales, obteniéndose mayores niveles de radiactividad entre los 12 a 15 minutos, por lo que el tiempo óptimo será estimado empleando una población mayor.

5 CONCLUSIÓN

Los resultados obtenidos hasta el momento señalan que con el producto elaborado en nuestro laboratorio, se pueden obtener resultados similares al producto comercial, por lo que es útil para su empleo en el diagnóstico de *Helicobacter pylori* mediante el test de aliento, lo que permitirá la masificación de esta prueba al poner al alcance de la comunidad médica un producto más económico.

En miras a una producción comercial se hace necesario la adquisición de una encapsuladora, una mezcladora, un rodillo de cepillos y una blístera.

6 REFERENCIAS

- [1] Blaser MJ. Epidemiology and pathophysiology of *Campylobacter pylori* infections. *Rev Infect Dis.* 1990; 12(suppl 1):99-106.
- [2] Peterson WL. *Helicobacter pylori* and peptic ulcer disease. *N Engl J Med.* 1991; 324:1043-1048.
- [3] Nomura A, Stemmermann GN, Chyou PH, et.al. *Helicobacter pylori* infection and gastric carcinoma among Japanese Americans in Hawaii. *N Engl J Med.* 1991; 325:1132-1136.
- [4] Parsonnet J, Friedman GD, Vandersteen DP, et.al. *Helicobacter pylori* infection and the risk of gastric carcinoma. *N Engl J Med.* 1991; 325:1127-1131.
- [5] Forman D, Newell DG, Fullerton F, Yarnell JW, Stacey AR, Wald N, Sitas F. Association between infection with *Helicobacter pylori* and risk of gastric cancer: evidence from a prospective investigation. *Br. Med. J.* 1991; 302:1302-1305.
- [6] Graham DY, Lew GM, Klein PD, Evans DG, Evans DJ, Saeed ZA, Malaty HM. Effect of treatment of *Helicobacter pylori* infection on the long-terminal recurrence of gastric or duodenal ulcer: a randomized, controlled study. *Ann. Intern. Med.* 1992; 116:705-708.
- [7] NIH Consensus Development Panel on *Helicobacter pylori* in Peptic Ulcer Disease. *Helicobacter pylori* in peptic ulcer disease. *JAMA.* 1994; 272: 65-69.
- [8] *Helicobacter pylori* infection and gastric carcinoma among Japanese Americans in Hawaii. *N. Engl. J. Med.* 325:1132-1136.
- [9] Parsonnet J, Friedman GD, Vandersteen DP, Chang Y, Vogelman JH, Orentreich N, Sibley RK. *Helicobacter pylori* infection and the risk of gastric carcinoma. *N. Engl. J. Med.* 1991; 325: 1127-1131.