

Test del hidrógeno (H₂) espirado: Metodología e indicaciones

R. Codoceo Alquinta, C. Muñoz Codoceo,
M.J. Ariza Astolfi, R.A. Muñoz Codoceo



SOCIEDAD
ESPAÑOLA DE
GASTROENTEROLOGÍA,
HEPATOLOGÍA Y
NUTRICIÓN
PEDIÁTRICA

© 2019 ERGON. C/ Arboleda, 1. 28221 Majadahonda (Madrid)

ISBN: 978-84-17844-35-6

- **Rosa Codoceo Alquinta**
Ex-Jefe de Sección de Gastroenterología. Servicio de Bioquímica.
Hospital Universitario La Paz. Madrid.
- **Carolina Muñoz Codoceo**
Facultativo Especialista de Área. Servicio de Digestivo.
Hospital Universitario 12 de Octubre. Madrid.
- **María José Ariza Astolfi**
Facultativo Especialista de Área. Servicio de Análisis Clínicos.
Hospital Universitario La Paz. Madrid.
- **Rosa Ana Muñoz Codoceo**
Jefe de Sección de Gastroenterología y Nutrición. Servicio de Pediatría.
Hospital Infantil Universitario Niño Jesús. Madrid.

La prueba del aliento para hidrógeno (H_2) y metano (CH_4) constituye una importante herramienta diagnóstica en la práctica gastroenterológica.

El H_2 y CH_4 se generan en el lumen intestinal, por la fermentación bacteriana sobre los hidratos de carbono en el intestino grueso y delgado. El H_2 y CH_4 resultante se absorben y a través del torrente circulatorio llegan a los pulmones, donde son expulsados en el aliento. Esta prueba es importante en el diagnóstico de la mala digestión de los hidratos de carbono y sobrecrecimiento bacteriano.

Esta metodología plantea un reto, tanto en el aspecto técnico como en la gestión de los datos obtenidos, de su validez e interpretación clínica. Actualmente disponemos de unos niveles de evidencia científica considerables con respecto al diseño, así como a las limitaciones con respecto a la calidad analítica, capacidad de detección y factores limitantes que influyen en los resultados. La correcta gestión de la información obtenida facilita enormemente el proceso de análisis e interpretación de los resultados, dentro del contexto clínico, con criterios de evidencia y fiabilidad.

La sensibilidad y especificidad, el promedio de falsos positivos y negativos, depende de la metodología utilizada.

De la heterogeneidad en la definición de un test positivo, de la frecuencia de toma de muestras, duración del test y dosis de sustrato nace la importancia de validar y uniformar la metodología.

A finales de 1980 la Sección de Gastroenterología del servicio de Bioquímica del Hospital La Paz, liderada por la Dra. Rosa Codoceo Alquinta, verdadera pionera de las pruebas de estudio de la función gastrointestinal en nuestro país, fue dotada de una célula electroquímica para medir el H_2 en el aliento. Fue donada por el Dr. Carlos Vázquez para el estudio de pacientes con sospecha de malabsorción a los hidratos de carbono. En el montaje, control y validación de esta prueba fueron asesorados por el Dr. Carlos Lifschitz (Houston, Texas). Posteriormente siguieron los protocolos recomendados por la ESPGHAN (Sociedad Europea de Gastroenterología, Hepatología y Nutrición Pediátrica).

Por otra parte, en la primera década del año 2000 la Dra. Rosa Lama More facilitó un monitor portátil para medir el H_2 y a través de una beca FIS se consiguió un monitor Quintron para H_2 y CH_4 , que además permitió corregir la precisión de los resultados mediante el CO_2 .

Las autoras de esta monografía han considerado que una nomenclatura estandarizada proporcionaría una fuente de información importante como evidencia clínica. Para ello se requiere una planificación detallada en múltiples aspectos: técnico, logístico, gestión y transmisión de la información, en la que intervienen profesionales médicos y del laboratorio.

La Sociedad Española de Gastroenterología, Hepatología y Nutrición Pediátrica (SEGHNPP) avalando este documento quiere agradecer la generosidad y calidad científica de su principal autora, la Dra. Rosa Codoceo, considerada por todos nosotros como un referente en las pruebas de laboratorio de gastroenterología. Esperamos que sirva como manual de recomendación y sus comentarios puedan ayudar para que, en un futuro, se disponga a nivel nacional de una Guía normalizada de este procedimiento.

Dra. Enriqueta Román

*Jefe de Servicio de Pediatría. Hospital Universitario Puerta de Hierro Majadahonda. Madrid.
Presidenta de la Sociedad Española de Gastroenterología, Hepatología y Nutrición Pediátrica.*

1. Introducción	8
2. Prueba del hidrógeno espirado	9
2.1 Gas intestinal	9
2.1.1 Composición	9
2.1.2 Producción.....	10
2.1.3 Consumo y disponibilidad.....	10
2.1.4 Excreción del gas intestinal.....	11
3. Introducción del hidrógeno espirado en la práctica clínica	12
3.1 Obtención de la muestra de aire espirado.....	12
3.2 Sustrato.....	14
3.3 Duración de la prueba e intervalo de recogida de la muestra	14
3.4 Instrumentos para la medida del H ₂ espirado en el aliento:.....	14
3.4.1 Micro-analizador del H ₂ espirado	15
3.4.2 Monitor portátil de H ₂ espirado Hidrolyzer	15
3.4.3 Gastrolyzer de Belfont	16
3.4.4 GMI (UK).....	16
3.4.5 GastroCH4ECK	17
3.5 Condiciones de almacenaje de la muestra.....	17
3.6 Expresión de los resultados.....	17
3.6.1 Pretest o basal: < 10 ppm.....	17
3.6.2 Criterios de positividad	18
3.6.3 Resultados negativos, positivos o falsos negativos.....	18
3.6.4 Factores que alteran los resultados.....	18
3.6.4.1 Antibióticos.....	19
3.6.4.2 Laxantes y enemas.....	19
3.6.4.3 Dieta.....	19
3.6.4.4 Probióticos y proquinéticos.....	19
3.6.4.5 Tabaco	19
3.6.4.6 Lavado de la boca:	20
3.6.4.7 Ejercicio físico e hiperventilación	20
3.6.4.8 Factores respiratorios	20

3.7	Excreción de metano (CH ₄) y prueba del H ₂ espirado	20
3.8	Preparación del paciente antes de la prueba de H ₂ espirado	21
3.9	Realización de la prueba.....	21
4.	Aplicaciones clínicas e indicaciones de la prueba H₂ en el aliento	22
4.1	Malabsorción de hidratos de carbono	22
4.1.1	Test del H ₂ en la malabsorción de lactosa.....	22
4.1.1.1	Fisiopatología de la malabsorción de la lactosa.....	23
4.1.1.2	Pruebas bioquímicas de orientación diagnóstica, ante la sospecha de malabsorción de lactosa	23
4.1.1.2.1	La anamnesis.....	24
4.1.1.2.2	Determinación de la actividad enzimática de la lactosa.	24
4.1.1.2.3	Respuesta clínica al tratamiento.....	25
4.1.1.2.4	Cribado de azúcares	25
4.1.1.2.5	Test de sobrecarga oral o prueba de tolerancia.....	25
4.1.1.2.6	Test del aliento sustrato marcado con isótopo estable o radioactivo	26
4.1.1.2.7	Test genético en la malabsorción/intolerancia a la lactosa.	28
4.1.1.2.8	Prueba de la gaxilosa.....	32
4.1.1.2.9	Prueba del H ₂ espirado para la lactosa	33
4.1.2	Sacarosa. Utilidad de la prueba del H ₂	36
4.1.3	Fructosa: Malabsorción e intolerancia y prueba del H ₂ en el aliento	38
4.1.4.	Sorbitol o alfa glucitol	43
4.2	Sobrecrecimiento bacteriano.....	44
4.2.1	Microbiota del tracto gastrointestinal.....	45
4.2.2	La prevalencia del sobrecrecimiento bacteriano.....	46
4.2.3	La etiología.....	46
4.2.4	Síntomas.....	46
4.2.5	Diagnóstico	47
4.2.5.1	Diagnóstico. Parámetros bioquímicos alterados	47
4.2.5.2	Pruebas diagnósticas en el sobrecrecimiento bacteriano.	49
4.2.5.2.1	Método del aspirado yeyunal.....	49
4.2.5.2.2	Análisis del genoma bacteriano	50
4.2.5.3	Pruebas no invasiva en el sobrecrecimiento bacteriano: Prueba del aliento con carbohidratos (glucosa y lactulosa).....	50
4.2.5.3.1	Test del aliento con glucosa.....	51
4.2.5.3.2	Test del aliento con lactulosa	53
4.2.5.3.3	Preparación del paciente	57
4.2.5.3.4	Recomendaciones de la prueba del H ₂ y CH ₄	58

4.2.6 Recomendaciones generales en el sobrecrecimiento bacteriano.....	58
4.2.7 Asociación con otras enfermedades	59
4.2.8 Sugerencias prácticas	60
4.2.9 Tratamiento	60
5. Indicaciones de la prueba del H₂.....	62
6. Recomendaciones de la prueba del H₂ y CH₄ espirado.....	63
7. Tránsito oro-cecal	64
8. Bibliografía	67

1. Introducción

Las pruebas del aliento se basan en el principio de que los hidratos de carbono, al no ser digeridos, son fermentados por las bacterias intestinales. Durante este proceso se producen gases que son expulsados en el aliento donde son cuantificados. Además, también se liberan ácidos grasos de cadena corta y agua. Los principales gases son el hidrógeno (H_2), el metano (CH_4) y el dióxido de carbono; estos gases se absorben en el intestino y excretan en el aliento donde son identificados y cuantificados (Fig. 1). La prueba del H_2 espirado se basa en este principio.

El CO_2 no es un gas exclusivo que se libera durante la fermentación, también se origina durante el metabolismo celular, solo las bacterias producen H_2 y CH_4 . Los ácidos son principalmente ácidos grasos volátiles y compuestos aromáticos en pequeñas concentraciones.

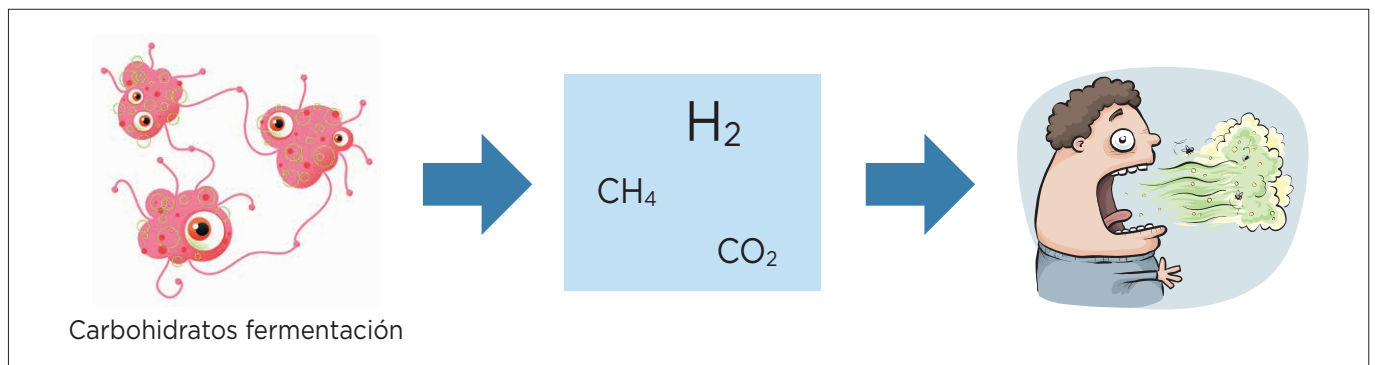


FIGURA 1. Los carbohidratos fermentados por las bacterias en el intestino liberan gases (H_2 , CH_4 , CO_2) que son expulsados en el aliento.

Los carbohidratos (CHO), derivado del nombre compuesto hidratos de carbono, están formados por carbono (C), hidrógeno (H) y oxígeno (O), en la proporción de 1:2:1, con la **fórmula general** $(CH_2O)_n$, de aquí su nombre. Aunque parece un carbono hidratado, en la práctica no es así. Esta denominación de hidrato de carbono se utilizó por primera vez cuando los químicos conocían tan solo la estequiometría de los sacáridos y pensaban que estaban hidratados. Por lo que carbohidratos es un término genérico que se aplica principalmente a ciertos hidratos de carbono como almidón, oligosacáridos y fibras como celulosa.

Fermentación es un proceso catabólico de oxidación incompleta, es un proceso anaeróbico en los seres vivos cuyo producto final es un compuesto orgánico. Es característico de algunos microorganismos como bacterias y levaduras.

2. Prueba del hidrógeno espirado

Es una herramienta no invasiva que detecta malabsorción de hidratos de carbono, sobrecrecimiento bacteriano en el intestino delgado y tiempo de tránsito gastrointestinal. Es simple, segura y reproducible, no invasiva y de bajo coste. Esta exploración es una prueba funcional y no una mera prueba del laboratorio, es fundamental la colaboración entre el médico y la enfermera para evaluar la malabsorción y los síntomas que produce.

En los procesos diarreicos causados por malabsorción a los hidratos de carbono, es una prueba útil para el diagnóstico rápido y sencillo, aplicable tanto en niños como en adultos y ancianos.

Puede ser de gran utilidad para entender la fisiopatología de la malabsorción de los hidratos de carbono y sobrecrecimiento bacteriano. Es importante uniformar los criterios en las patologías gastrointestinales, como se ha sugerido en el Consenso de Roma 2009⁽¹⁾ y luego el Consenso de Norteamérica 2017⁽²⁾.

En estos consensos se intenta uniformar los criterios para el desarrollo y uso de la prueba en diferentes desórdenes. Hasta ahora todos los estudios estaban orientados a la variabilidad de la metodología en la determinación del H₂. Para poder tener resultados utilizables con evidencia científica, es necesario que los diferentes centros en nuestro país unifiquen las indicaciones y metodología y en un futuro podamos disponer de una guía para el uso en la práctica clínica de esta prueba. En el consenso norteamericano (México, Estados Unidos y Canadá), se sugiere una guía para interpretar y medir el metano⁽²⁾.

La prueba consiste en la medición del H₂ liberado en el colon, procedente de la fermentación bacteriana de los carbohidratos que no se han absorbido en el intestino delgado. El hidrógeno difunde fácilmente por la pared intestinal a la sangre y de ahí a los pulmones siendo expulsado en la respiración. No hay producción endógena de H₂. La única fuente de H₂ excretada en el aliento procede de las bacterias del colon y del intestino delgado, si hay sobrecrecimiento bacteriano, estas son capaces de fermentar los hidratos de carbono. Junto al H₂ se libera también CO₂, CH₄ y ácidos grasos de cadena corta. Parte de los gases difunden al torrente circulatorio y son excretados en el aliento donde pueden ser fácilmente cuantificados, el resto se excreta por el recto (flato). La concentración del gas debe medirse en el aire alveolar, antes y después de la sobrecarga con el azúcar, por lo que es necesario eliminar el aire contenido en el espacio muerto de las vías respiratorias. Este problema ya está corregido en los nuevos instrumentos de medida.

El CH₄ se mide de forma similar al H₂ con detectores específicos y el *CO₂ marcado (el *C-sustrato puede ser radioactivo ¹⁴C o marcado con un isótopo estable ¹³C), por espectrometría de masa o detectores de infrarrojo.

2.1 Gas intestinal

2.1.1 Composición

En el gas intestinal encontramos principalmente cinco componentes que son: nitrógeno (N₂), oxígeno (O₂), dióxido de carbono (CO₂), hidrógeno (H₂) y metano (CH₄). En la composición del gas intestinal de los sujetos sanos el N₂ y el O₂ están en bajas concentraciones, mientras que los niveles de H₂ y CH₄ son variables. La presión parcial de los gases determina la dirección de la difusión. El H₂ y CH₄ tienen mayor presión que el CO₂, de ahí que difundan con más rapidez al torrente circulatorio⁽²⁾.

El N₂ y O₂ atmosférico pueden atravesar el tracto digestivo desde la boca al recto en 36 minutos. El CO₂ en el intestino delgado se puede generar por reacciones entre el bicarbonato y los ácidos procedentes del contenido

gástrico, pancreático y biliar. El CO₂ que se genera en el intestino delgado se absorbe antes de llegar al colon. El CO₂ que se produce en la fermentación bacteriana se elimina mediante el flato (pedo).

En la generación del gas intestinal están involucrados una serie de procesos fisiológicos como: producción, consumo, disponibilidad y excreción de gas en diferentes compartimentos del organismo.

2.1.2 Producción

En un sujeto sano la cantidad de gas en el intestino fluctúa entre 30-200 ml. Está compuesto principalmente por H₂, CO₂, CH₄ y en menor cantidad O₂, N₂, H₂S, indol, escatol y amonio.

Las principales fuentes generadoras de gas en el intestino son: el aire ingerido o tragado con los alimentos (O₂ y N₂), el que se produce dentro del intestino por reacciones químicas, como la reacción entre el ácido clorhídrico del jugo gástrico y el bicarbonato (-HCO₃) del contenido intraluminal que libera CO₂, los productos de la fermentación bacteriana (H₂ y CH₄) y el gas que entra al lumen desde el torrente circulatorio (CO₂).

En el colon hay bacterias que consumen H₂ para la síntesis de otros gases como CH₄ y ácido sulfhídrico (H₂S). Respecto a las fibras contenidas en los alimentos, los productos del metabolismo bacteriano dependen de la estructura química de estos compuestos.

Las fibras solubles son fermentadas rápidamente liberando sustancias volátiles. Las fibras insolubles fermentan lentamente, liberando ácidos grasos de cadena corta que se absorben y son beneficiosos para la salud. (3, 4).

2.1.3 Consumo y disponibilidad

Es importante recordar que la microbiota intestinal produce y consume H₂. En el colon existen factores limitantes que influyen en la cantidad de H₂ procedente de la fermentación bacteriana como: bacterias consumidoras de H₂, no productoras de H₂ o el pH de las heces (Fig. 2).

a) **Bacterias consumidoras de H₂**. Presencia de bacterias productoras de metano (metanogénicas). Presencia de flora reductora de sulfitos o compuestos sulfurados. Si hay sulfatos disponibles en la dieta se sintetizará H₂S por la actividad de las bacterias sulfo-reductoras sobre los compuestos sulfatados. Este compuesto es muy tóxico para el colonocito. Debe oxidarse rápidamente.

Todas estas bacterias consumen H₂ para la producción de metanetiol, dimetil sulfuro y ácido sulfhídrico. Las bacterias sulforreductoras tienen más afinidad por el H₂ que las metanogénicas y acetogénicas.

En teoría, para reducir un mol de CO₂ a CH₄ se necesitan 4 moles de H₂ y para la producción de un mol de H₂S a partir del anión sulfato 5 moles de H₂:



Las bacterias acetogénicas producen ácidos grasos de cadena corta (acetatos), que son sustratos energéticos que regulan el crecimiento, la diferenciación, el intercambio de agua, de sodio y estimulan la motilidad colónica.

b) **La presencia de bacterias no productoras de H₂**. Existe una microbiota que tiene esta capacidad. Los individuos no productores de H₂ varían entre un 2-43%^(1,2,5). Los individuos portadores de esta flora colónica se denominan “no productores de H₂”. Si estos pacientes son malabsorbentes de los carbohidratos, la prueba del H₂ saldrá falsamente negativa.

c) **El pH de las heces**. La acidificación de las heces por sustratos no digeribles como el exceso de ácido láctico o la lactulosa disminuyen los niveles de H₂⁽²⁾.

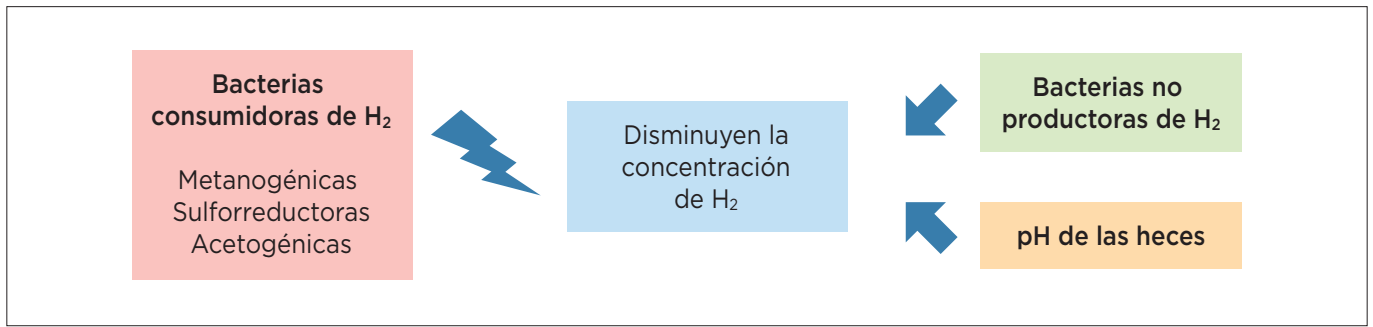


FIGURA 2. Factores que influyen en la concentración de H₂ en el tracto gastrointestinal.

2.1.4 Excreción del gas intestinal

La excreción del gas puede ser a través del aire espirado o del flato. La composición del gas a lo largo del lumen intestinal cambia, mientras que en el estómago es similar al aire atmosférico, en el flato depende de los diferentes procesos metabólicos que se han producido dentro del tracto intestinal.

3. Introducción del hidrógeno espirado en la práctica clínica

En 1969, Levitt⁽⁶⁾ estudió la relación entre el H₂ del colon y el del aliento, y encontró que el 21% del H₂ producido en el colon podría ser detectado en el aliento, que la excreción era casi constante y que por lo tanto, la concentración de H₂ en el aliento representaba la cantidad que se producía en el colon.

En 1970, Levitt y Donald⁽⁷⁾ describen una prueba del aliento basada en la medición del H₂ espirado para el estudio de la malabsorción de carbohidratos.

En 1975, Newcomer y cols.⁽⁸⁾ aplican la prueba del H₂ en el aliento en el estudio de la malabsorción de lactosa. La comparan con el test de tolerancia.

En 1978, Perman y cols.⁽⁹⁾ describen la prueba del aliento para la malabsorción de sacarosa.

En 1983, Ravich y cols.⁽¹⁰⁾ aplican la prueba del H₂ en el aliento para el estudio de la malabsorción de fructosa.

En 1984, Gudmand-Hoyer y cols.⁽¹¹⁾ publican los resultados obtenidos con esta prueba en la malabsorción de maltosa o azúcar de malta contenida en el grano de la cebada.

El Dr. Solomons propone la posibilidad de utilizar la cromatografía gaseosa para medir el H₂ en el aire espirado. Con la ayuda del Dr. Hamilton, por entonces director de investigación del departamento QuinTron Division en Milwaukee, EEUU, demuestra que esto es posible y que el H₂ podía medirse en el rango de partes por millón (ppm) (datos no publicados).

Todos estos estudios, del siglo pasado, han contribuido para que la prueba del H₂ sea ampliamente utilizada como un método no invasivo, para la orientación diagnóstica de maladigestión de los hidratos de carbono. Al introducir esta prueba en la práctica clínica, quedó claro que hay numerosos factores que podrían influir en los resultados como: la hiperventilación, niveles elevados de H₂ en el ayuno, fumar, dificultad en la interpretación de los resultados y variación intraindividual de la producción de H₂ en el colon que se discuten más adelante.

Esta prueba sustituye a la prueba oral de tolerancia a la lactosa^(1,2,12), que consiste en realizar una sobrecarga de lactosa y ver su respuesta en sangre (modificación de la glucemia). En la Tabla 1 se describen los pasos, instrumentos, condiciones de almacenaje de la muestra y expresión de los resultados.

TABLA 1. Pasos necesarios para la realización de la prueba del H₂ espirado.

Obtención de la muestra sin (pretest) y con sobrecarga de sustrato

Cantidad de sustrato administrada tanto a adultos como niños

Duración de la prueba e intervalos de tiempo de recolección de la muestra

Instrumento para cuantificar el gas

Condiciones de almacenaje de la muestra

Expresión e interpretación de los resultados y factores que los pueden alterar

3.1 Obtención de la muestra de aire espirado

El aire espirado es una muestra fácil de obtener, en condiciones normales contiene O₂, CO₂, vapor de H₂O y más de 250 compuestos volátiles.

Los compuestos volátiles están en baja proporción y solo aumentan en determinados procesos patológicos. Estos gases proceden de diferentes vías metabólicas. Los gases se reabsorben y equilibran dentro del torrente sanguíneo y se eliminan en el aire alveolar, donde pueden ser determinadas sus concentraciones.

Las bacterias del colón en el lumen intestinal por fermentación de los hidratos de carbono pueden producir H_2 y CH_4 . Otros nutrientes como aminoácidos, mucinas endógenas y glicoproteínas también producen H_2 , pero la cantidad es insignificante frente a los niveles generados por los carbohidratos.

El patrón de los gases alveolares es diferente para el H_2 y CH_4 . La medida de estos gases por lo tanto se debe realizar en el aire alveolar, por lo que hay que evitar interferencias en las muestras, como el aire contenido en los espacios muertos de las vías respiratorias. Un tercio del volumen del aire espirado corresponde al espacio muerto y está compuesto por el aire inhalado de la habitación al respirar (2 mg/kg). En los neonatos el volumen del espacio muerto representa el 50% del volumen total.

Este problema se ha podido corregir con los sistemas de recolección de muestras, se ha conseguido una gran precisión similar a los tubos modificados de Haldane–Priestly (tH-P), con las jeringas con llaves especiales (“T”) o un sistema de 2 bolsas. En los pacientes que no colaboran en la recogida de muestra, esta se puede realizar de forma no agresiva, con mascarillas faciales con detector para las fases respiratorias o de forma agresiva con intubación nasal (Figs. 3 y 4).



FIGURA 3. Muestra: recogida del aire espirado con mascarilla facial y boquilla desechable conectadas a un medidor portátil (reproducida de las instrucciones de uso del fabricante).

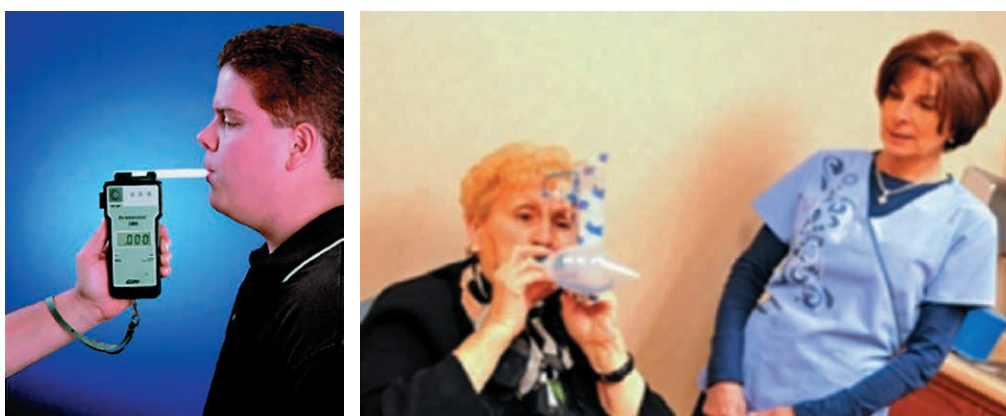


FIGURA 4. Dos sistemas de recogida de muestra. En el monitor portátil el uso de boquilla desechable, en adultos recogida en bolsas después de 15 segundos de apnea. (Fuente: Ghoshal UC, 2011⁽¹⁶⁾).

Los niveles de CO₂ en el aire alveolar son estables y alrededor de un 5%. Este parámetro sirve de marcador para una correcta recolección de la muestra y permite corregir automáticamente los resultados, consiguiendo que los valores de H₂ y CH₄ tengan una mayor precisión⁽¹³⁾.

La mejor técnica para reducir la variabilidad de los duplicados tanto para el H₂, CH₄, CO y CO₂, consiste en hacer una inhalación profunda, esperar 15 segundos y luego soplar suavemente.

3.2 Sustrato

Se han utilizado como sustrato lactosa, fructosa-sorbitol, sacarosa e inulina en la malabsorción de carbohidratos. Para el sobrecrecimiento bacteriano la glucosa y lactulosa.

- **Dosis adultos:** Depende del sustrato utilizado y la finalidad diagnóstica de la prueba. La sobrecarga se puede realizar con 50 o 25 g del carbohidrato. Solución acuosa al 10 o 20%, solución isotónica con el medio intestinal. Se recomienda utilizar unas dosis más fisiológicas para la lactosa, fructosa, glucosa y lactulosa que son: 25-75-10 g, respectivamente⁽²⁾.
- **Dosis en pediatría:** 1 g/kg de peso, máximo 25 g. Solución acuosa al 10%.

3.3 Duración de la prueba e intervalo de recogida de la muestra

Dependiendo del tiempo de tránsito el sustrato llega al colon, entre 1 o 2 horas después de su administración.

- **Malabsorción de azúcares:** se recomienda una duración de 3-4 horas en los adultos y 3 horas en los niños (en el niño el tiempo de tránsito es más corto que en el adulto). Recolección de muestras cada 30 minutos. Sin embargo el tiempo se puede acortar, tan pronto como se tenga evidencia del resultado. El grupo de expertos de Norteamérica sugiere 3 horas de duración de la prueba, ya que hay suficientes evidencias que lo avalan⁽²⁾. Es importante permitir un tiempo suficiente para que el sustrato llegue al colon y sea metabolizado por las bacterias.
- **Sobrecrecimiento bacteriano:** se recomienda una duración de 3 horas y recolección de la muestra cada 30 minutos.

Se ha intentado simplificar la prueba reduciendo el número de muestras o el tiempo de duración. Young y cols.⁽¹⁴⁾ lo simplificaron recolectando solo 4 muestras, 0-90-120 y 180 minutos con una sensibilidad de 90% y especificidad del 100%.

Casellas y Malagelada⁽¹⁵⁾, acortaron el tiempo de duración a 2 horas. La sensibilidad disminuyó a un 79%.

3.4 Instrumentos para la medida del H₂ espirado en el aliento

Cuando los hidratos de carbono son metabolizados por las bacterias, algunas veces solo se produce H₂, otras H₂ y CH₄ y otras solo CH₄, que serán detectados en el aire alveolar, por lo que es importante medir ambos gases, si no la prueba estaría incompleta.

Los gases del aire espirado tienen que ser separados primero por un cromatógrafo de gases y luego, para la detección y cuantificación del gas, se utilizan detectores seleccionados o selectivos (conductividad térmica o espectrometría de masas o de infrarrojos).

Se pueden usar cromatógrafos de gases específicos para medir solo H₂, otros además cuantifican CO₂ y CH₄. Los cromatógrafos normalmente utilizados en el laboratorio para medir gases son capaces de detectar trazas

moleculares. Se consideran los instrumentos estándares de oro, en los cuales se ha determinado la linealidad y reproducibilidad de los resultados de la prueba del aliento en los diferentes instrumentos de medida.

El problema de la humedad, tanto dentro del laboratorio (>25%), como de la muestra de aliento a la cual son sensibles estos aparatos, se ha solventado haciendo pasar previamente la muestra por una columna de sulfato de calcio o sílice que absorben el agua.

Los instrumentos portátiles deben ser periódicamente controlados para determinar su estabilidad.

La célula electroquímica utiliza una tecnología diferente, aunque su reproducibilidad es buena, su vida media esta predeterminada.

Los instrumentos más utilizados son:

3.4.1 Micro-analizador del H₂ espirado

Quintron microlyser (USA). Hay varios modelos: solo para H₂, solo para CH₄ o el dual para ambos gases (Fig. 5). Utiliza los principios de la cromatografía de gases separando el H₂ de posibles interferencias de otros componentes de la muestra alveolar. El detector es especial de máxima sensibilidad y especificidad para el H₂ y posee un sistema de linealización electrónico que separa H₂ de CH₄. Tiene un circuito electrónico único que permite la medición digital en pantalla del H₂ en ppm.



FIGURA 5. Quintron microlyser: en adultos la recolección de la muestra se realiza en bolsas. La muestra gaseosa se extrae de la bolsa con una jeringa y se inyecta en el microanalizador. (Fuente: Álvarez H, et al. 2007)⁽¹⁷⁾.

La calibración es simple y rápida y se realiza con un gas de referencia con una concentración de H₂ conocida (cerca de 100 ppm).

El aire bombeado dentro del aparato debe estar seco, para preservar la columna cromatográfica en el microlyzer y asegurar una línea base estable; para ello se utiliza una columna rellena de material desecante.

En la recolección de la muestra se usan bolsas de 500 ml o jeringas de 60 ml, con llaves cuyo cierre es en T o tubos tP-H.

Para el procedimiento de análisis de la muestra y recogida de la misma y mantenimiento del aparato hay que utilizar el manual de instrucciones del microanalizador Quintron.

De los diferentes modelos los que solo miden H₂ o CH₄ o ambos tienen un factor de corrección basada en la estimación del pCO₂ alveolar, de gran utilidad para las medidas de H₂ y CH₄ especialmente en muestras de neonatos o pacientes no colaboradores.

3.4.2 Monitor portátil de H₂ espirado Hidrolyzer

Es un monitor reconocido por la FDA (*Food and Drug Administration*, de EEUU).

En su funcionamiento utiliza una pieza en “T” que permite la toma de una muestra de aire espirado usando un tubo desechable de cartón. Una pieza de muestreo modificada permite que las muestras en lactantes se tomen con facilidad.

En el display de LCD incorporado al equipo se muestran los resultados y existe la posibilidad de conectar un grabador para obtener un registro secuencial.

Al ser portátil se puede usar en cualquier lugar lejos de la unidad analítica (cama del paciente).

Para la recolección de la muestra se utilizan boquillas desechables para los adultos y máscara para los niños.

La técnica de muestreo consiste en hacer una inspiración máxima con 15 segundos de apnea y una prolongada espiración (muy buena reproducibilidad).

Mantenimiento: cambiar las pilas cuando sea necesario y efectuar calibraciones en intervalos regulares.

3.4.3 Gastrolyzer de Belfont

Es un monitor portátil.

Es similar al hidrolizer, para la detección utiliza un sensor electroquímico sellado que es específico para el H_2 y un sistema de muestreo con pieza en forma de “T” con dos válvulas vibrantes, que permiten la difusión del aire espirado directamente al sensor donde el H_2 es oxidado (reacciona con el oxígeno y forma moléculas de agua).

La señal eléctrica desde este componente es transmitida hacia una pantalla de cristal líquido situada en la parte frontal del aparato, mostrando la concentración de H_2 en partes por millón.

También utiliza boquillas desechables y mascarillas para adultos y niños⁽¹⁸⁾.

3.4.4 GMI (UK)

Célula electroquímica equilibrada al medio ambiente (Fig. 6).

Utiliza 3 electrodos: el de trabajo que es una membrana metalizada que mantiene un potencial constante con respecto al electrodo de referencia y el tercer electrodo es el que mide la diferencia de potencial que produce el H_2 entre los dos anteriores.

El H_2 oxida el electrodo de trabajo produciendo la diferencia de potencial con respecto al electrodo de referencia, es una reacción electroquímica.

Muy buena correlación con la cromatografía gaseosa ($r= 0,99$).

Para la recolección de la muestra se utilizan boquillas desechables para los adultos y máscara para los niños.

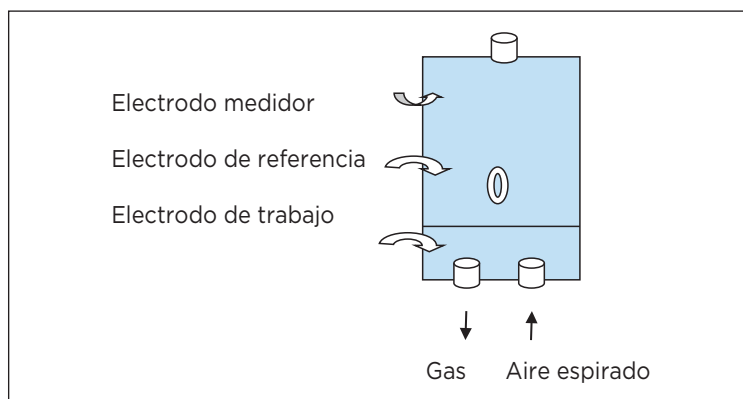


FIGURA 6. Célula electroquímica.

3.4.5 GastroCH₄ECK

Actualmente existe en el mercado este nuevo monitor portátil. Mide H₂ y CH₄, con una tecnología nueva y mejorada de los sensores.

Para la recolección de la muestra usa bolsas o se sopla directamente utilizando boquillas desechables.

3.5 Condiciones de almacenaje de la muestra

El almacenaje de la muestra es necesario cuando la recogida del aire espirado se realiza lejos de la unidad analítica. La temperatura de conservación más adecuada es de -20°C.

Los sistemas más utilizados para la recolección del aire espirado muestran muy buena correlación para la cuantificación del H₂ en la espiración final (tubos modificados de Haldane-Priestley, jeringas de plástico con llaves con cierre "T" y el sistema de dos bolsas).

Cuando se esterilizan los contenedores de las muestras (jeringas de cristal o tubos de vidrio) hay que tener en cuenta el efecto de las radiaciones ionizantes. Podemos encontrar H₂ y CH₄ en los tubos de vacutainer, en los recubiertos con silicona u otros aditivos orgánicos. Las jeringas de plástico no son caras y permiten el análisis de los gases sin demasiada manipulación. Las bolsas no necesitan ni la manipulación de personal cualificado ni la cooperación del paciente, además permiten realizar varias determinaciones con la misma muestra.

En nuestra experiencia, observamos que, utilizando jeringas de plásticos en el estudio de la estabilidad de la muestra con respecto a la temperatura, la concentración de H₂ se redujo un 2-4% después de 6 horas a temperatura ambiente y que a menos 20°C la reducción fue de un 6% a los 6 días, tiempo transcurrido desde la toma de la muestra hasta la realización del análisis. La estabilidad del metano fue mayor que la del H₂ después de 6 días a temperatura ambiente, solo se perdió un 4%. Probablemente porque hay una relación inversa entre la difusibilidad de un gas y la raíz cuadrada de su masa molecular. La masa molecular del CH₄ es mayor que la del H₂. Los resultados obtenidos en nuestro laboratorio fueron similares a la de otros autores⁽¹⁹⁾.

Concluyendo: La muestra de H₂ en el aliento es estable por 6 horas a temperatura ambiente. Si se retrasa la medida se recomienda conservarla a -20 grados Celsius.

3.6 Expresión de los resultados

El pretest, los criterios de positividad y resultados se describen a continuación (Tabla 2).

TABLA 2. Expresión de los resultados.	
Resultados	Pretest o basal: < 10 ppm
	Criterios de positividad
	Resultados negativos
	Resultados positivos
	Resultados falsos negativos
	Resultados falsos positivos

3.6.1 Pretest o basal: < 10 ppm

Es la determinación de H₂ en el aire espirado después de una noche de ayuno.

En algunos casos el valor basal puede estar por encima de 10 ppm, pero cae a valores más bajos dentro de los primeros 30 minutos después de la iniciación de la prueba. En estos casos la concentración de H₂ más baja se

considera el valor basal. Una elevación persistente del H₂ basal indica un ayuno inadecuado, o consumo de una dieta rica en hidratos de carbono el día anterior a la prueba.

Durante el ayuno la cantidad de H₂ contenida en el alveolo es <10ppm. Por lo tanto, el valor basal debe estar por debajo de 10 ppm para comenzar la prueba.

3.6.2 Criterios de positividad

Una elevación importante de los niveles de H₂ sobre el valor basal (> 10 ppm).

Este nivel se alcanza entre los 90-120 minutos después de ingerir el sustrato (≥ 20 ppm).

Los resultados se expresan en partes por millón = ppm. Un micro mol (μmol) de H₂= 22 ppm.

En nuestra experiencia, los valores del pretest en niños y adultos no excedieron de 13 ppm (221 niños sanos y 9 adultos), la media fue de 7,1 ± 5,0 ppm. En el 97% de los pacientes con diarrea crónica (n= 76), y en el 83% con dolor abdominal recurrente (n= 73) fue > 42 ppm. Se revisó la patología de todos los pacientes a los que se les había realizado la prueba, observándose que el H₂ espirado en ayunas se elevaba cuando se asociaba a sobrecrecimiento bacteriana o estasis intestinal.

3.6.3 Resultados negativos, positivos o falsos negativos

Se considera un resultado negativo cuando la concentración de H₂ exhalado es < de 10 ppm. Entre 10 y 20 ppm son valores indeterminados si no se acompañan de síntomas.

Resultados positivos. Una elevación sobre el valor basal de 20 ppm o más es un criterio para una respuesta positiva. Una elevación del valor basal > 40 ppm puede indicar éstasis intestinal o sobrecrecimiento bacteriano^(1,2).

Resultados falsos negativos. Aparecen cuando en el colon hay:

- Bacterias colónicas no productoras de H₂. Este problema puede aparecer entre el 2-40% de los pacientes.
- Bacterias colónicas consumidoras de H₂. Metanogénicas, acetogénicas o sulforreductoras.
- Variaciones marcadas de pH que alteran la flora del colon. En nuestra experiencia, al medir el pH de las heces en pacientes a los que se les había realizado la prueba del H₂ con sobrecarga de lactulosa, el 41% acidificó el pH de ese 41%, el 45% disminuyó la excreción de H₂ en el aliento. Nuestros resultados fueron similares a los de otros autores⁽²⁰⁾.
- La alteración de la flora por uso de antibióticos o salicilatos. Para evitar resultados falsos negativos con una terapia reciente de antibiótico debería previamente hacerse una prueba con lactulosa, para confirmar que el antibiótico ha sido eficaz en la erradicación del sobrecrecimiento.
- Diarrea: acelera el tránsito reduciendo el tiempo de fermentación.

3.6.4 Factores que alteran los resultados

Los factores que alteran los resultados de la prueba del H₂ se describen en la Tabla 3.

La precisión de la prueba está estrictamente relacionada con la capacidad de la flora colónica para producir H₂ cuando se malabsorben los carbohidratos. Por lo que, es imprescindible tener en cuenta los factores que pueden modificar la flora:

TABLA 3. Resultados: factores que los alteran.

Factores	Antibióticos
	Laxantes y enemas
	Dieta
	Probióticos y proquinéticos
	Tabaco
	Lavado de boca
	Ejercicio físico e hiperventilación
	Factores respiratorios

3.6.4.1 Antibióticos

Modifican la flora del colon y falsean los resultados. Pueden reducir o aumentar la excreción de H₂. El test se debe realizar después de 4 semanas de haber acabado el tratamiento. Tiempo necesario para la recuperación de la flora.

3.6.4.2 Laxantes y enemas

Los laxantes o enemas utilizados para pruebas endoscópicas, radiológicas o quirúrgicas interfieren en la estabilidad de la flora, luego modifican la excreción de H₂. Se recomienda esperar 1 semana. Aunque los laxantes y drogas promotilidad deberían suspenderse solo si el paciente lo tolera.

3.6.4.3 Dieta

La persistencia en el colon de carbohidratos no absorbibles previamente ingeridos con la dieta es un factor de confusión. La precisión de la prueba requiere que unos bajos niveles de H₂, excretados durante el ayuno, faciliten la discriminación del pico de H₂ causado por la fermentación de los carbohidratos mal absorbidos. Por lo tanto, es necesario reducir los factores de la dieta que puedan interferir. Se recomienda cena ligera sin residuos. La ingestión de judías, patatas, avena, trigo blanco y maíz elevan la excreción de H₂, en cambio el arroz blanco y la carne no modifican la excreción durante el ayuno. En individuos normales la ingestión de harina blanca y judías retrasan la aparición del pico de H₂, este se produce entre las 5-8 horas después de la ingestión. La harina de arroz no produce ninguna elevación del H₂. Se recomienda una dieta restringida que no contenga carbohidratos no absorbibles o hidratos de carbono complejos el día anterior.

Según lo aceptado actualmente por la mayoría de los investigadores el ayuno nocturno de 8- 12 horas es apropiado para la realización de la prueba. El café, té, leche y jamón pueden modificar el microambiente intraluminal o la motilidad, no hay estudios aún del efecto del desayuno sobre la excreción de H₂.

3.6.4.4 Probióticos y proquinéticos

También modifican la estabilidad de la flora del colon. Para la realización de la prueba hay que esperar 4 semanas después de suspender su administración^(21,22). Pero según el consenso americano⁽²⁾ no está claro el tiempo necesario de suspensión. Aún no hay evidencia científica sobre suspender o continuar con ellos, especialmente si el paciente lo demanda. Este grupo aconseja 1 semana.

3.6.4.5 Tabaco

Fumar modifica la excreción del H₂ y se debe evitar antes y durante la prueba. Aunque la excreción de H₂ aumenta rápidamente mientras se fuma y disminuye igual de rápido después de fumar, sin embargo, los niveles basales de H₂ no se recuperan hasta después de los 15 o más minutos⁽²³⁾. Además el humo del tabaco contiene elevadas concentraciones de CO₂ y H₂.

3.6.4.6 Lavado de la boca

La flora bacteriana de la cavidad bucal puede fermentar los carbohidratos administrados oralmente, interfiriendo con la medida del H₂ basal producido en el colon. El lavado de la boca con solución de clorhexidina antes de la administración del azúcar, impide la fermentación del sustrato por la flora bacteriana de la cavidad oral^(1,2).

3.6.4.7 Ejercicio físico e hiperventilación

La hiperventilación interfiere con la excreción del H₂, por lo que el paciente debe permanecer en reposo durante la prueba. Se produce una reducción de la excreción durante el ejercicio físico e hiperventilación y un aumento durante la recuperación^(2,24).

3.6.4.8 Factores respiratorios

El llanto del niño puede diluir la tasa de H₂ en el aliento (falso negativo). El sueño concentra la cantidad. Durante el sueño se reduce la motilidad intestinal y ventilación produciendo un acúmulo de H₂ en tejido y sangre⁽²⁾ (Tabla 4).

TABLA 4. Factores que enmascaran los resultados.

Falsos positivos	Falsos negativos
Ingesta el día previo de carbohidratos no absorbibles	Antibióticos, laxantes....
Tabaco antes y durante la prueba	Sobrecrecimiento bacteriano
Hipoventilación e hiperventilación	Bacterias sulforreductoras
	Bacterias metanogénicas
	Bacterias acetogénicas

Fuente: Infante D, et al (2015)⁽²⁵⁾.

3.7 Excreción de metano (CH₄) y prueba del H₂ espirado

El CH₄ se puede medir de manera similar al H₂, mejora la precisión diagnóstica de la prueba porque captura entre el 20 al 30% de pacientes productores de CH₄, principalmente en la fermentación bacteriana^(26,27).

Las bacterias metanogénicas generan el metano utilizando el H₂ y CO₂ que se producen en la fermentación bacteriana.

En la digestión anaeróbica después de la hidrólisis de polisacáridos como el almidón, se produce la fase de acidogénesis (acetogénesis) y luego la fase de metanogénesis.

En la fase acidogénica las bacterias convierten los azúcares y aminoácidos en CO₂, H₂, amonio y ácidos orgánicos. El acetato más el H₂ generado en primera fase pueden ser usados directamente por las bacterias para producir CH₄. Los ácidos grasos volátiles de longitud de cadena mayor que el acetato (ácido propiónico y butírico), pasan por un proceso de catabolización para ser transformados en compuestos que puedan utilizar las bacterias metanogénicas. La metanogénesis es la etapa final de la digestión anaeróbica

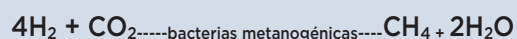
En un sistema anaeróbico la mayor parte de la energía química almacenada en la materia prima es liberada en forma de CH₄ por las bacterias productoras de este compuesto orgánico.

Los seres humanos no utilizamos el CH₄, se excreta en el flato (80%) y en el aliento (20%)⁽²⁷⁾. Aunque se cree que las bacterias metanogénicas colonizan a la mayoría de los seres humanos, solo aquellos con una concentración elevada de bacterias producen niveles medibles de CH₄ en el aliento. Basándose en este punto es razonable sugerir que un aumento de CH₄ en el aliento después de ingerir el sustrato es indicador de sobrecrecimiento bacteriano.

La excreción de metano se ha detectado en situaciones malignas y benignas (cáncer de colon, diverticulosis colónica, colon irritable...), y también en voluntarios sanos (3-25%). La tendencia de los individuos a la excreción de CH₄ está determinada por factores ambientales más que genéticos.

Su detección mejora la precisión diagnóstica de la prueba del H₂ en pacientes no productores de H₂, es un marcador alternativo. Con el aumento de la flora metanogénica se puede negativizar la prueba del H₂ (falso negativo). Las bacterias metanogénicas son capaces de convertir el H₂ en CH₄ en el colon⁽²⁶⁻²⁸⁾.

El metano ha sido introducido como un gas traza útil para el estudio de los problemas digestivos. Su excreción se asocia a constipación clínica y enlentecimiento del tránsito en el adulto⁽²⁾.



3.8 Preparación del paciente antes de la prueba de H₂ espirado

Recomendaciones: en la preparación del paciente se deben **evitar**:

- Antibióticos 4 semanas antes de la prueba.
- Bismuto entre 2-4 semanas antes de la prueba.
- Probióticos entre 1-4 semanas antes de la prueba.
- Procinéticos con una vida media de 1-3 semanas.
- Laxantes 1-4 semanas antes de la prueba.

El tiempo de supresión de los probióticos, procinéticos y laxantes depende de la situación del paciente. Hay pacientes que no toleran la privación de estos medicamentos.

- *No consumir hidratos de carbonos no absorbibles o de absorción lenta (pasta, pan, fibras cereales, judías), el día anterior a la prueba.*
- *Ayuno noche anterior a la prueba (8-12 h).*
- *Evitar fumar antes y durante la prueba.*
- *Evitar ejercicio físico fuerte durante la prueba.*
- *Lavar boca con clorhexidina antes de la ingestión del sustrato.*

3.9 Realización de la prueba

Las recomendaciones para la realización de la prueba del H₂ espirado se describen en la Tabla 5.

TABLA 5. Sugerencias para la realización de la prueba del H₂ en el aliento.

Cromatografía gaseosa como método de cuantificación

Tubo tH-P, jeringas con llaves en "T" o bolsas para recolección.

Inspiración profunda o máxima, apnea de 15 segundos y espiración suave y prolongada.

Realizar el análisis dentro de las 6 horas de recolección. Si no se puede almacenar la muestra a -20°C.

tH-P= Haldane-Priestly

4. Aplicaciones clínicas e indicaciones de la prueba H₂ en el aliento

Se recomienda como prueba de orientación diagnóstica ante la sospecha de malabsorción de los hidratos de carbono y/o sobrecrecimiento bacteriano principalmente. La prueba del H₂ detecta los hidratos de carbono no absorbidos, por lo que podría considerarse como un indicador de la capacidad digestiva del intestino delgado.

4.1 Malabsorción de hidratos de carbono

Los gases principales que se producen durante la fermentación bacteriana de los carbohidratos son: CO₂, H₂, CH₄ y pequeñas concentraciones de ácidos grasos volátiles (ácido acético, butírico y propiónico) y compuestos aromáticos^(16,29). Los ácidos grasos de cadena corta se han determinados en bolsas de diálisis combinado con una concentración fecal. Se ha encontrado que la proporción excretada es de 60:20:18 para ácido acético, propiónico y butírico respectivamente. Estos compuestos se absorben rápidamente en el colon de forma no ionizada por difusión pasiva, dependiente de la concentración. Los almidones resistentes producen butiratos que tienen efecto trófico para el colonocito. Los acetatos y propionatos⁽²⁹⁾ son oxidados en el hígado y utilizados en la gluconeogénesis (el propionato), y síntesis de ácidos grasos de cadena larga (acetato).

El CO₂ durante el proceso metabólico lo producen todas las células, pero solo las bacterias producen H₂ y CH₄, principalmente las anaeróbicas (en ausencia de oxígeno).

Actualmente esta prueba se aplica a azúcares como **lactosa, fructosa, glucosa** y **lactulosa** (Tabla 6). Los azúcares se administran como solución acuosa al 10%. También se ha aplicado a las personas que son sensibles al sorbitol compuesto utilizado en el chicle, en productos dietéticos y como edulcorante en bollería sin azúcar.

En caso de deficiencia de disacaridasas como la lactasa o sacarasa-isomaltasa, la flora colónica fermenta la lactosa o sacarosa o isomaltosa no absorbida elevando el H₂ en el aliento⁽³⁰⁻³²⁾.

TABLA 6. Las pruebas del H₂ más usadas en la práctica clínica.

Nombre del prueba	Sustrato	Utilidad
Prueba de glucosa	Glucosa	S. bacteriano
Prueba de lactulosa	Lactulosa	Estimación tránsito S. bacteriano
Prueba de lactosa	Lactosa	Malabsorción
Prueba de fructosa	Fructosa	Malabsorción

(Fuente: Ghoshal UC, 2011⁽¹⁶⁾).

4.1.1 Test del H₂ en la malabsorción de lactosa

La lactosa es el azúcar de la leche de los mamíferos y de los productos lácteos. También la encontramos en los productos de consumo diario ya sea en forma de conservante o aditivo en carnes procesadas, embutidos, fiambres, salsas, helados, sopas, medicamentos, etc.

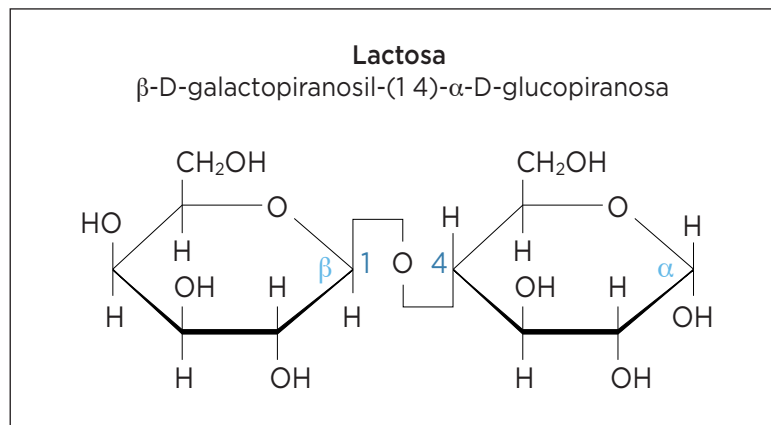


FIGURA 7. Fórmula estructural de la lactosa.

En la década de los 70 se introduce la prueba como indicador de malabsorción o intolerancia a la lactosa (Fig. 7), causa principal de la intolerancia a la leche en la mayoría de los adultos. Se estudia la prevalencia en diferentes poblaciones y la incidencia de intolerancia a la lactosa varía desde un 90-97% en los asiáticos, entre 7-20% en los europeos del norte y en el 50% entre los hispanos⁽³³⁾.

En 1977, Bond y Levitt⁽³⁴⁾ utilizan esta prueba para estudiar la digestión y absorción de azúcares complejos, basándose en la evidencia de que estos compuestos llegaban intactos al colon y porque algunos de los azúcares complejos no son hidrolizados en el intestino delgado y no son absorbidos durante la digestión.

La prueba del H₂ se recomienda para el seguimiento de la evolución clínica de esta deficiencia en adultos y niños. Es una técnica no invasiva con una buena sensibilidad y óptima especificidad. Existe una relación directa entre el H₂ espirado y el H₂ producido por la microflora del colon.

En general en los niños, la mayoría de los métodos utilizados para el diagnóstico de malabsorción de azúcares son insatisfactorios. La determinación de disacaridasas en la mucosa intestinal (biopsia) es una técnica agresiva, la cual es pobremente tolerada y la determinación de las enzimas requiere un laboratorio con experiencia. Los métodos indirectos, como la prueba de tolerancia oral a los azúcares, requiere múltiples pinchazos. El cribado de azúcares puede fallar en los niños de consultas externas por la mala conservación de la muestra^(30,35). Las pruebas del aliento que utilizan sustratos marcados necesitan instrumental más sofisticado y son caros.

4.1.1.1 Fisiopatología de la malabsorción de la lactosa (Fig. 8)

La acumulación de lactosa en el intestino delgado, principalmente yeyuno donde se absorbe, produce un aumento de la osmolaridad, lo cual origina un paso brusco de agua hacia la luz intestinal para hacer isoosmótico su contenido. Se produce distensión intestinal que estimula el peristaltismo, acelerando el tránsito en el intestino delgado de un contenido rico en agua y azúcares. La acción de la microbiota a este nivel no es muy intensa. Este contenido llega al ciego, si el aporte de líquido rebasa la capacidad homeostática del colon, se produce una distensión cecal y como consecuencia un aumento del peristaltismo del colon y diarrea acuosa. Las heces contienen azúcar en abundancia y poco ácido láctico. Si la cantidad de agua que llega al ciego no es abundante, las bacterias fermentan los azúcares aumentando la concentración de ácidos grasos de cadena corta, que acidifican las heces y generan gases como H₂ y CH₄ que se eliminan por el aliento y flato (Fig. 8).

4.1.1.2 Pruebas bioquímicas de orientación diagnóstica, ante la sospecha de malabsorción de lactosa

Se describen en la Tabla 7.

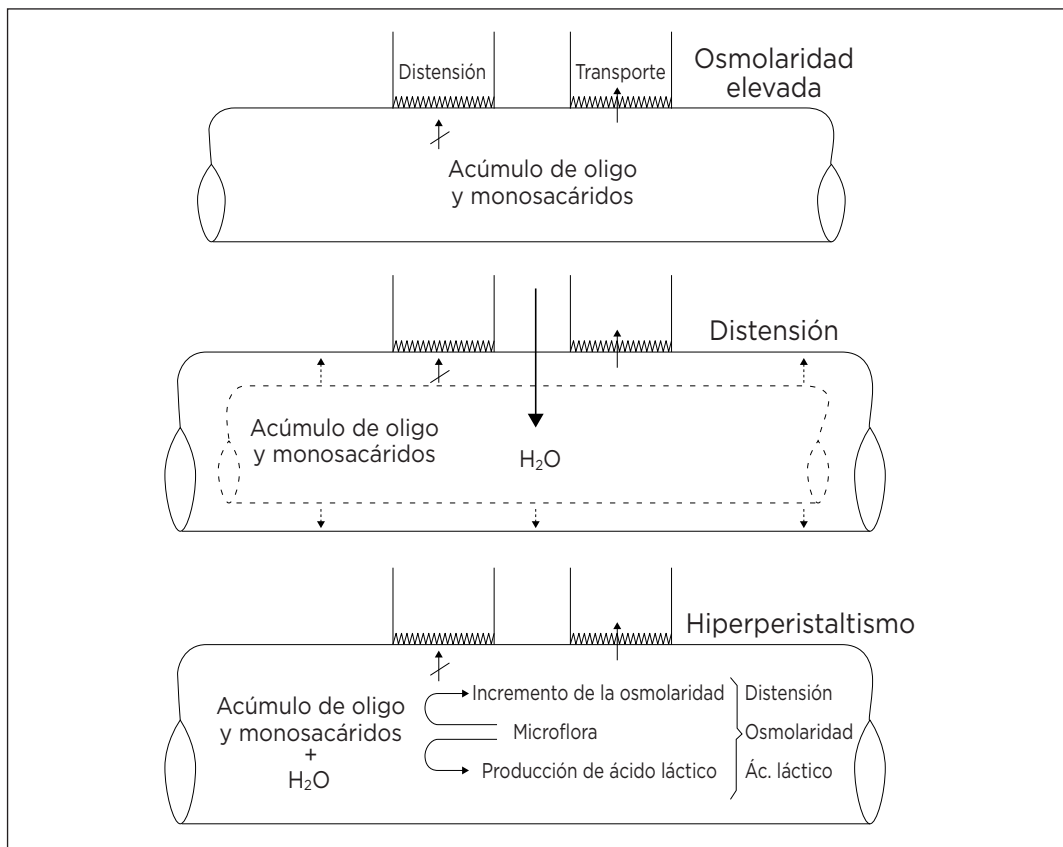


FIGURA 8. Fisiopatología de la malabsorción de la lactosa. La osmolaridad se eleva (hiperosmolaridad) porque se acumulan oligo y monosacáridos en el lumen intestinal. Distensión por paso rápido de agua al lumen intestinal que provoca hiperperistaltismo. (Fuente: Codoceo R, 1991)⁽³⁰⁾.

TABLA 7. Pruebas utilizadas en el laboratorio ante la sospecha de malabsorción de lactosa⁽³⁶⁾.

Pruebas	
	1. Anamnesis
	2. Determinación de la actividad enzimática de la lactasa
	3. Respuesta clínica al tratamiento
	4. Cribado de azúcares
	5. Test de sobrecarga oral o prueba de tolerancia
	6. Test del aliento sustrato marcado con isótopo estable
	7. Test genético en la malabsorción/intolerancia a la lactosa
	8. Prueba de la gaxilosa
	9. Test del H ₂ espirado para la lactosa

4.1.1.2.1 La anamnesis

Los datos clínicos orientan el diagnóstico. Es la acumulación de información más importante en el estudio de esta patología.

4.1.1.2.2 Determinación de la actividad enzimática de la lactasa

La determinación de lactasa en la biopsia intestinal es la prueba de referencia (estándar de oro). Sin embargo, una distribución irregular de lactasa en el intestino puede alterar los resultados. Además, la naturaleza inva-


siva de la prueba limita su uso como método de rutina⁽³⁰⁾. La actividad de las disacaridasas varía a lo largo del intestino delgado (duodeno-yeyuno-íleon). La actividad máxima de la lactasa se encuentra entre los 50-200 cm desde el ligamento de Treitz y está casi ausente en el íleon. La actividad de la sacarasa es constante en todo el intestino delgado, la maltasa su actividad es el doble en el íleon terminal comparada con el yeyuno proximal.

4.1.1.2.3 Respuesta clínica al tratamiento

La utilización de los síntomas clínicos como base para los cambios dietéticos no es fiable, puede contribuir a aumentar la ansiedad y la posibilidad de dietas insuficientes. Antes de embarcarse en estos cambios, la mejor práctica clínica es comprobar el diagnóstico de deficiencia de lactasa. Además de la determinación de la actividad enzimática descrita antes están las pruebas genéticas^(30,33,36).

4.1.1.2.4 Cribado de azúcares

El cribado de azúcar es un método rápido, simple y barato de orientación diagnóstica, ante la sospecha de una malabsorción de azúcares (Fig. 9). Los azúcares tienen en su molécula grupos funcionales que les confieren poder reductor (grupo aldehído o cetónicos), que permiten identificar en las heces azúcares o sus productos liberados de la fermentación (cuerpos reductores por la reacción de Benedict). La determinación de glucosa se hace con tiras reactivas utilizadas normalmente para la cuantificación de glucosa en sangre. La sacarosa no tiene poder reductor, es necesario realizar una hidrólisis ácida previamente y luego determinar la concentración de fructosa en el medio. Para el pH se utilizan tiras reactivas de pH⁽³⁰⁾.

• Muestra de heces conservada a 0°C			
• pH normal	6-8		
• pH patológico	< 5.0 intolerancia a hidratos de carbono		
	> 8.0 diarrea colérica		
• Cuerpos reductores	0,1-0,3	< ++	
• Glucosa	0-0	negativa	
• Sacarosa	0,1-0,75	< ++	






FIGURA 9. Los resultados descritos para cuerpos reductores, glucosa y sacarosa son los valores considerados normales. (Fuente: Codoceo R, 2013)⁽³⁶⁾.

4.1.1.2.5 Test de sobrecarga oral o prueba de tolerancia

Consiste en administrar una sobrecarga oral de azúcar (Fig. 10). Mide la capacidad de absorción del hidrato de carbono a nivel del intestino delgado y consiste en la determinación de la glicemia en sangre (capilar o venosa), mejora la precisión diagnóstica de las pruebas negativas. Nos permite identificar en un gran porcentaje los pacientes no productores de H₂ y los falsos negativos. La capacidad de absorción del sustrato puede ser medida por: la elevación de la glucosa en sangre > 25 mg^(30,33,36), para la lactosa y > 20 mg para la sacarosa sobre el valor basal indica que el paciente es absorbente, por el contrario, si la glicemia no se modifica, indica que el paciente no absorbe el azúcar administrado. Incluso si la prueba del H₂ es positiva una curva de glicemia plana le da más precisión diagnóstica al test. El problema es que es una prueba incómoda y consume tiempo. Tiene una sensibilidad y especificidad de un 75% y 98% respectivamente en adultos. La diabetes y el sobrecimiento bacteriano pueden producir resultados falsos negativos^(12,37,38,39).

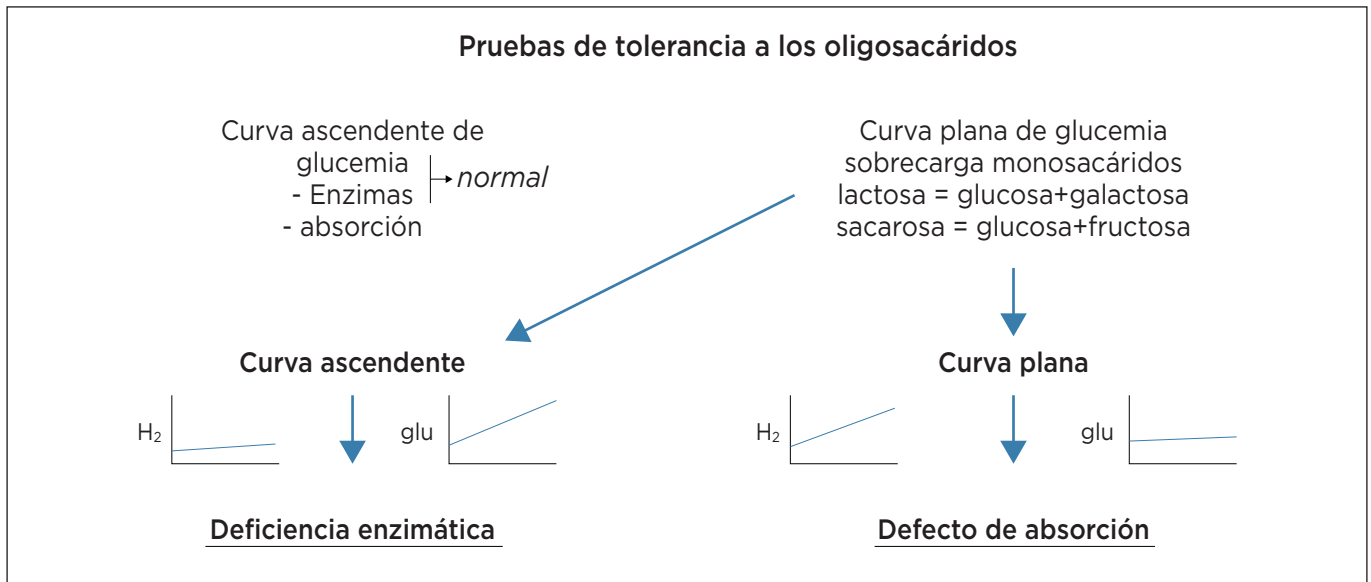


FIGURA 10. Después de la sobrecarga con el disacárido si la curva de glucosa se incrementa no hay deficiencia enzimática ni malabsorción. Si es plana, el defecto puede ser de absorción y enzimático. Se repite la prueba, pero ahora la sobrecarga se hace con los monosacáridos constituyentes del disacárido. (Ejemplo: lactosa= glucosa y galactosa), si la glucosa se eleva y el H₂ no se incrementa, este resultado sugiere una deficiencia enzimática (lactasa), si la glucosa no aumenta y el H₂ se eleva, el defecto está en la absorción. (Fuente: Codoceo R, 1991)⁽³⁰⁾.

Es una herramienta más a la hora de interpretar los resultados negativos de la prueba del H₂. Pero irregularidades en el vaciamiento gástrico y alteraciones del peristaltismo pueden producir falsos negativos en esta prueba^(38,39).

4.1.1.2.6 Test del aliento sustrato marcado con isótopo estable o radioactivo

El análisis de los componentes del aliento permite estudiar una función dinámica que utiliza los gases eliminados en el aire espirado para entender mejor tanto la fisiología como la fisiopatología, que dependen de la medida del gas que difunde libremente. La producción puede ser endógena o en respuesta a la administración oral de un sustrato. El gas se puede producir, ya sea como metabolito bacteriano o en respuesta a un daño celular seguido de un estrés oxidativo, producido por una inflamación. El gas detectado puede por lo tanto indicar la presencia o ausencia de infección o una inflamación.

La prueba del aliento que determina el CO₂ marcado radioactivamente o con isótopos estables es el producto de la oxidación de la glucosa absorbida. Se basa en que los individuos en reposo eliminan una cantidad constante de CO₂ por unidad de tiempo. El *CO₂ liberado depende del CO₂ endógeno del metabolismo basal, velocidad de vaciamiento gástrico, tránsito intestinal, número de gérmenes, transporte a través de la linfa y sangre, difusión en los alvéolos pulmonares. Por el contrario, el H₂ es el producto de la fermentación bacteriana del azúcar no absorbido. Ejemplo con la lactosa en el resumen y figura 11.

En resumen: en condiciones normales

El *CO₂ es el producto de la *C-lactosa hidrolizada ----- galactosa + glucosa ----- C-glucosa absorbida ----- Hígado ----- *C-glucosa oxidada ----- *CO₂. (aliento)

El H₂ es el producto de la fermentación bacteriana de la lactosa no absorbida

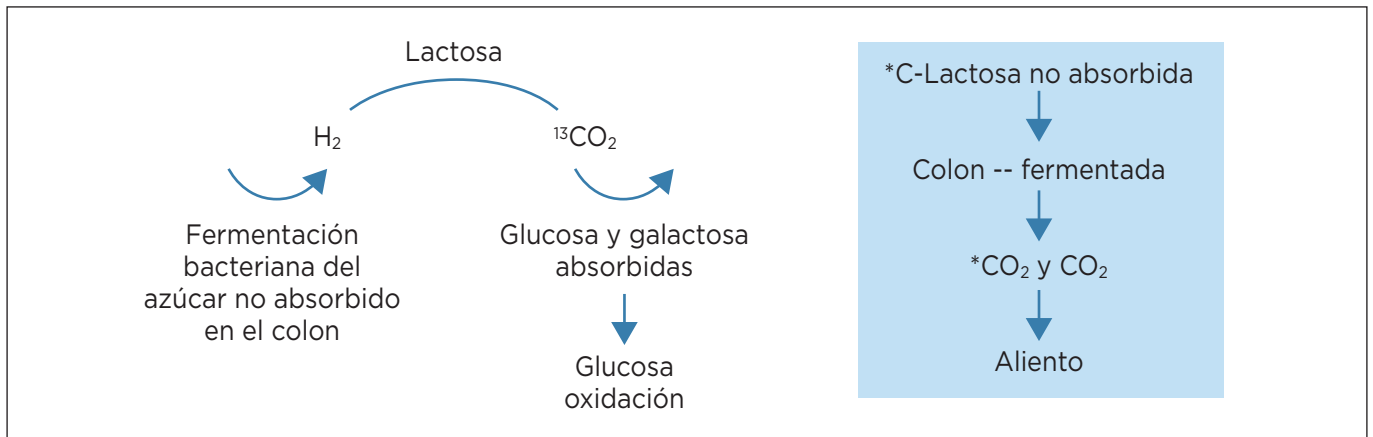


FIGURA 11. El $^{13}CO_2$ es el producto de la ^{13}C -lactosa hidrolizada y posterior oxidación de la glucosa en el hígado principalmente. La fermentación bacteriana aumenta la concentración de CO_2 que al medirlo en el aliento diluye la concentración del *CO_2 .

Los sustratos marcados con ^{13}C que no son absorbidos liberan, por la fermentación bacteriana, $^{13}CO_2$ que se detecta en el aliento. Este test puede ser interferido por el CO_2 (diluye la concentración de CO_2 marcado), que se produce durante la fermentación o por variaciones en la oxidación de la glucosa, que es la ruta metabólica normal del sustrato marcado absorbido⁽³⁹⁾. La producción de CO_2 se eleva en los estados febriles o cuando no hay reposo. Las dietas ricas en calorías aumentan la producción de CO_2 (Fig. 12).

Al interpretar los resultados de esta prueba es necesario considerar los factores que influyen en la producción o excreción de CO_2 endógeno y que afectan a los resultados como: la ingestión de alimentos, la actividad física, las enfermedades respiratorias, los trastornos del tiroides y la fiebre. La recuperación del carbono marcado nunca es completa, una cantidad sustancial es retenida en el pool de carbono del cuerpo, por lo que, se podría considerar esta prueba como una herramienta semi-diagnóstica^(40,41).

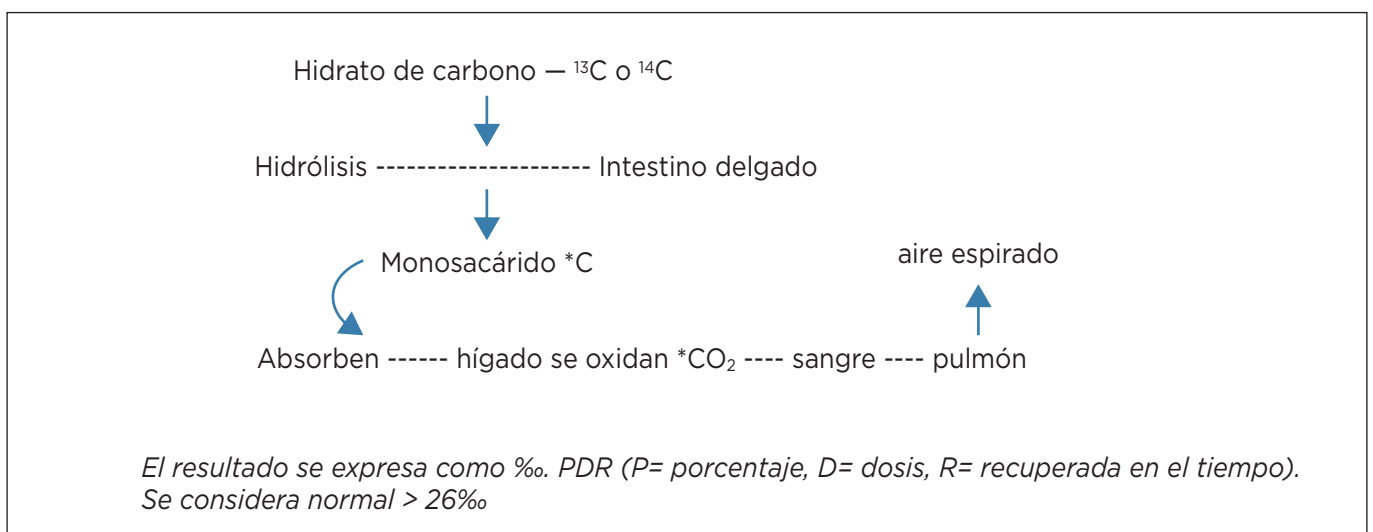


FIGURA 12. Producción y excreción del $^{13}CO_2$ en situación normal.

En los últimos años se han desarrollados instrumentos que, sin tener la sensibilidad analítica del espectrómetro de masa de relación isotópica, son de menor coste y se pueden utilizar con volúmenes más pequeños de

muestra. El NDIRS (*non-dispersive-isotope sensitive infrared spectrometer*) y el espectrómetro de absorción por diodos láser entre otros.

Se utiliza en: función hepática para desordenes funcionales (mitocondrial de los hepatocitos y beta oxidación), motilidad y vaciamiento gástrico, tránsito oro-cecal, infecciones como *Helicobacter pylori*, en funciones metabólicas como deficiencia de lactasa y función pancreática⁽⁴¹⁾.

4.1.1.2.7 Test genético en la malabsorción/intolerancia a la lactosa.

La expresión del gen de la enzima responsable de la hidrólisis de la lactosa (lactasa), está regulado por el polimorfismo genético determinante de los fenotipos lactasa persistente y no persistente (PL y NPL).

La lactosa es un disacárido compuesto por una molécula de glucosa y otra de galactosa (Fig. 7), estos monosacáridos se unen por enlace 1-4 alfa. La lactosa es hidrolizada en el borde en cepillo (zona apical), principalmente del yeyuno medio por una disacaridasa u oligosacaridasa la lactasa (EC3.2.1.23), en los monosacáridos constituyentes que se absorben en el intestino delgado. En el enterocito se sintetiza una pre-prolactasa que por glucosilaciones sucesivas y proteólisis se convierte en la enzima activa. La lactasa presenta 2 centros activos uno para la lactosa y otro para la floricina (Figs. 13 y 14). La floricina hidrolasa (LPH), hidroliza los cerebrosidos (glucoesfingolípidos).

La lactasa es una proteína que está codificada por el gen LCT, situado en el brazo largo del cromosoma 2, en la región 2q21 de las regiones intrónicas, del gen MCM6 (polimorfismo promotor de la lactasa). Las mutaciones del gen LCT cambian aminoácidos en la proteína enzimática que interfieren en su función o dan lugar a una enzima anormalmente corta. El gen MCM6, situado en el brazo largo del cromosoma 2, codifica parte del complejo MCM. El complejo MCM es un grupo de proteínas que funcionan como helicasas. Estas proteínas unen regiones particulares del ADN. Cuando una célula se prepara para dividirse la helicasa desenrolla el ADN para que pueda ser copiado. La proteína codificada por el gen MCM interviene en el complejo de replicación. Una secuencia específica del ADN es el gen MCM6 denominado elemento regulador ayuda a controlar la expresión del gen LCT. En el gen MCM se encuentran diferencias entre sus intrones 9 y 13, ambos relacionados indirectamente con la capacidad de sobre-expresar la lactasa. En el intrón 9 se encuentra el polimorfismo 22018. En este polimorfismo la guanina ha sido sustituida por la adenina. En el intrón 13 se encuentra el polimorfismo 13910 aquí se cambia la citocina por timina.

La expresión del gen LCT es controlada por una secuencia de ADN específica denominada elemento regulador (MCM6), que regula la cantidad de lactasa sintetizada.

La expresión del gen está regulada por tres polimorfismos (C/T 13910, G/A 22018, C/G 13907). Estas tres variantes genéticas definen el fenotipo como *productores de lactasa* (PL) y *no productores de lactasa* (NPL). Los individuos con genotipo homocigoto CC₋₁₃₉₁₀ y GG₋₂₂₀₁₈ son NPL. El genotipo C/T 13910 es una expresión intermedia. En el genotipo G/A 22018 situado en el intrón 9 del MCM6, el alelo A se asocia a PL y el C/G a los NPL^(42,43). Los genotipos homocigotos

TT₋₁₃₉₁₀ y AA₋₂₂₀₁₈ son LP, los heterocigotos presentan niveles intermedios. El patrón del déficit congénito es autosómico recesivo, ambas copias del gen en cada célula deben tener las mutaciones para que se exprese la alteración. Las variaciones que promueven la codificación continua de la lactasa se consideran autosómicas dominantes. El polimorfismo genético se describe en la tabla 8.

TABLA 8. Polimorfismo genético

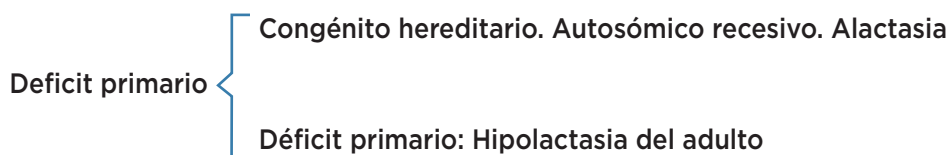
	Lactasa persistente	No lactasa persistente
LCT-13910	CT/TT	CC
LCT-22018	GA/AA	GG

Fuente: Infante D y col.(2015) Ref 25

La intolerancia a la lactosa se produce por una mala digestión o malabsorción, ya sea por deficiencia de lactasa o alteración de los transportadores de los monosacáridos que constituyen la lactosa. En ambos casos la microbiota anaeróbica del colon fermenta estos azúcares generando gases, ácidos grasos de cadena corta y toxinas que producen flatulencia, dolor abdominal y diarrea. Los síntomas están relacionados con la ingesta (cantidad ingerida), el grado de malabsorción y mecanismos de compensación del colon, capacidad fermentativa y distribución de la microbiota intestinal, alteración de la motilidad intestinal, estado de la mucosa del colon y otras patologías del intestino. Esto justifica que a veces no hay una buena correlación entre los síntomas y los resultados de las pruebas de malabsorción.

La malabsorción/mala digestión: Es la incapacidad para digerir la lactosa debida a causas primarias o secundarias. Se definen diversas formas de malabsorción de lactosa, la intolerancia más común es la digestión defectuosa y se debe a la deficiencia de lactasa que puede ser primaria o secundaria.

Existen dos tipos de déficit primario: alactasia congénita y deficiencia primaria en los niños mayores y adultos.



La *deficiencia primaria congénita* es un desorden autosómico recesivo, se manifiesta en el recién nacido la intolerancia a la lactosa, causa diarrea cuando ingiere leche (Fig. 13). No es reversible (mutación del gen LCT).

En la *deficiencia primaria conocida como hipolactasia* del adulto se produce una disminución de la enzima a lo largo del tiempo desde la niñez hasta la adolescencia. Se debe a una reducción gradual de la expresión del gen LCT. Aparece una disminución gradual de la capacidad para digerir lactosa (Figs. 13 y 14). No es reversible.

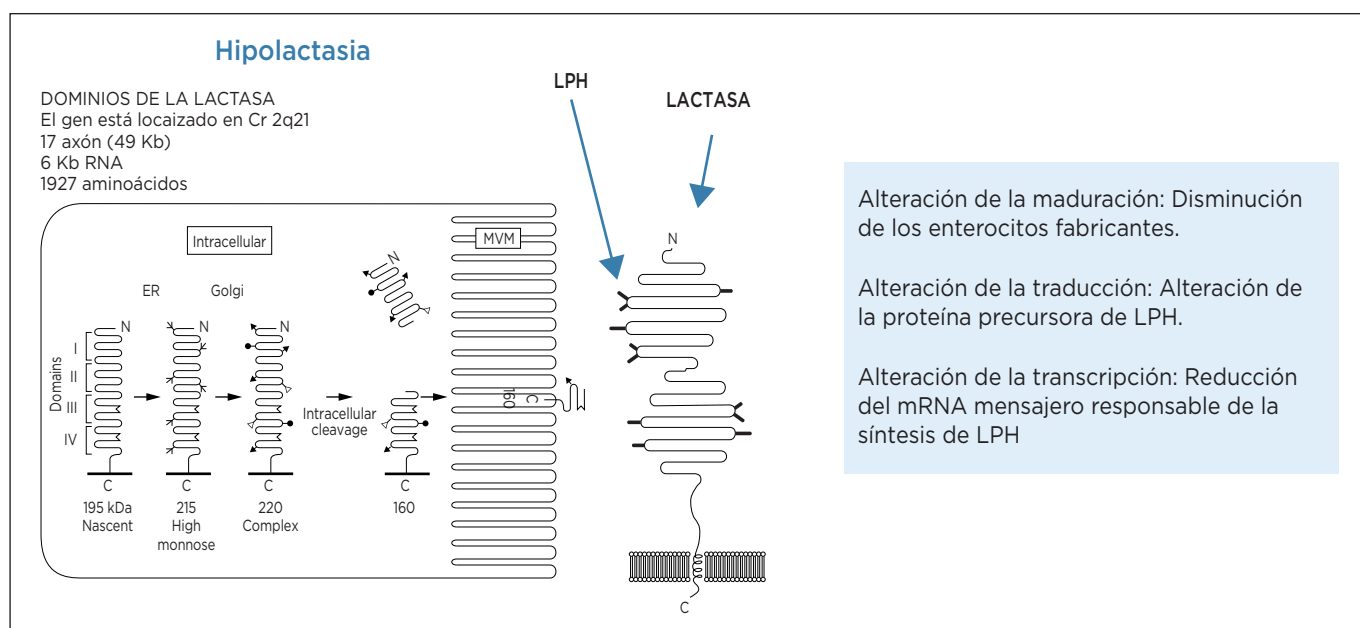


FIGURA 13. Hipolactasia. Alteración de la maduración, traducción o transcripción del gen LCT.

La *deficiencia secundaria o adquirida* se observa en la malnutrición, celiaquía, gastroenteritis, Crohn, infecciones intraluminales. Se produce cuando la pared intestinal está alterada por estas patologías.

La lactosa no digerida en el intestino delgado aumenta la presión osmótica intraluminal dando lugar a los síntomas: distensión, dolor abdominal, flatulencia y diarrea osmótica. La acumulación de moléculas pequeñas

ejerce efecto osmótico con la atracción de agua y electrolitos al lumen intestinal (Figs. 14 y 15). Los ácidos generados especialmente el ácido láctico bajan el pH e irritan la pared del colon aumentando el peristaltismo y la diarrea⁽³⁰⁾.

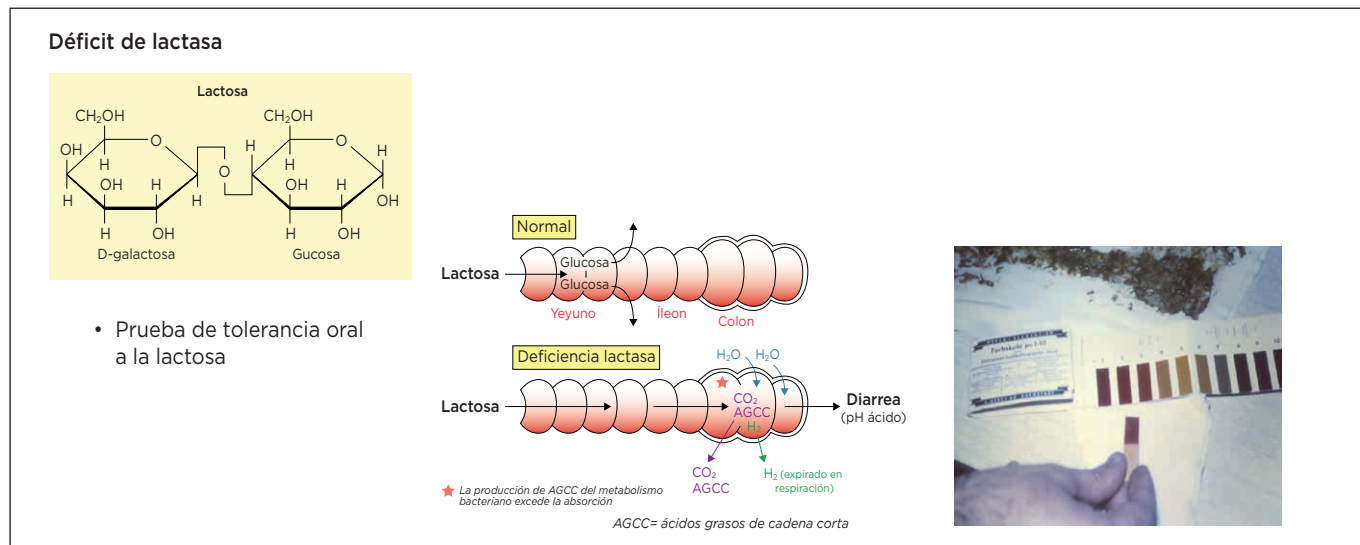


FIGURA 14. Patofisiología de la intolerancia a la lactosa. (Fuente: Codoceo R, et al. 2013 y Campuzano G, 2009)^(36,44).

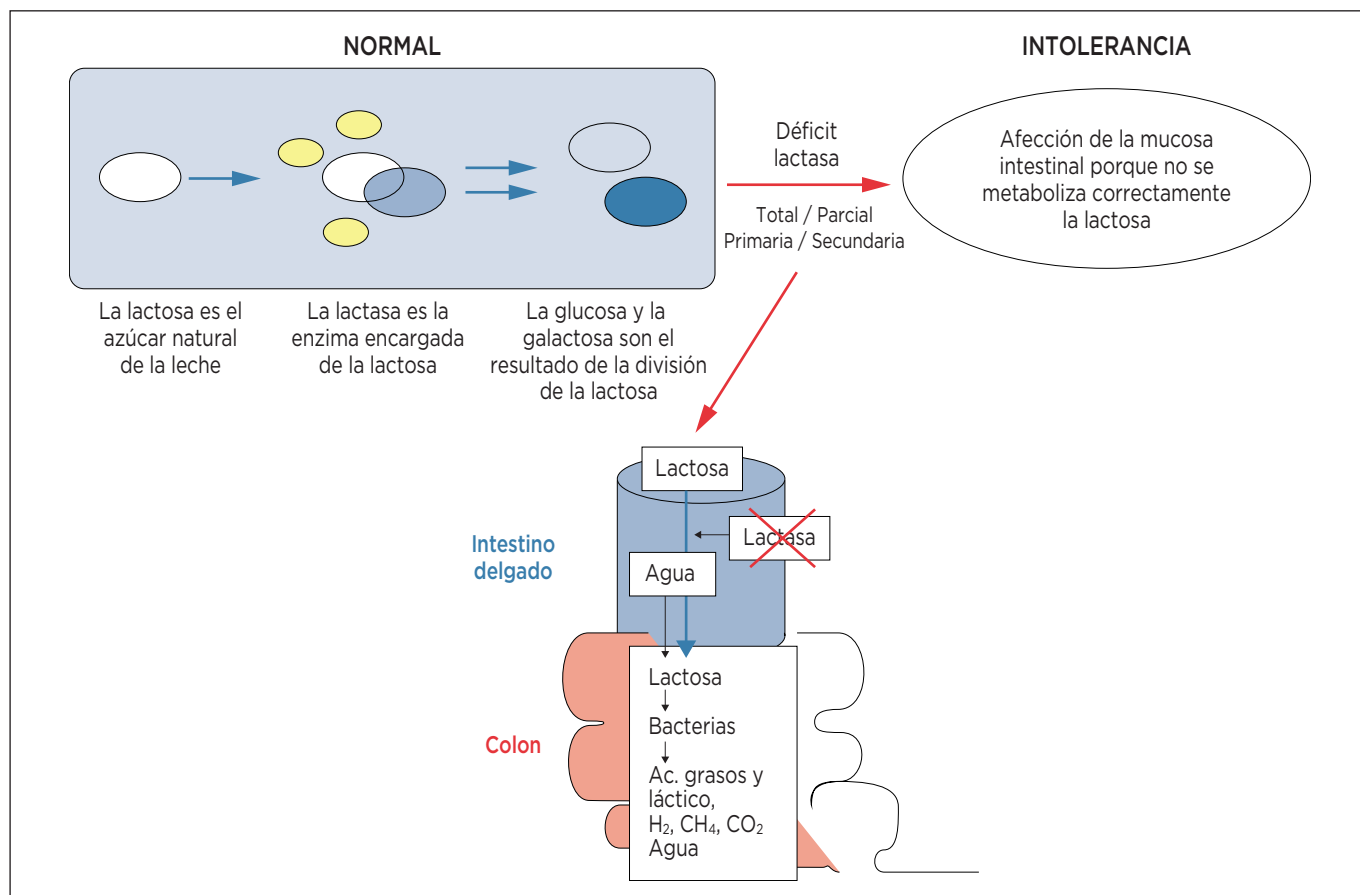


FIGURA 15. En condiciones normales la lactosa es hidrolizada por la lactasa en sus componentes glucosa y galactosa. En la deficiencia de lactasa, la lactosa llega al colon donde es fermentada por las bacterias y se liberan ácidos grasos de cadena corta, gases y agua. (Fuente: citogenfarma.com).

En el *déficit primario adquirido (hipolactasia del adulto)*, la concentración de lactasa que es elevada al nacer disminuye progresivamente independiente de la ingesta⁽⁴²⁾. La lactasa no persistente está genéticamente determinada y se conoce como la hipolactasia del adulto (intervienen factores étnicos o raciales). Este proceso está determinado genéticamente. La variante C/T 13910 es el principal determinante de LP/NLP en Europa del norte y población nómada africana. El genotipo C/C 13910 se asocia a un déficit primario adquirido de lactasa (< de 10 U/g de proteína) y el genotipo C/T 13910 y T/T 13910, con la lactasa persistente (capacidad para digerir la lactosa en la edad adulta). En la lactasa no persistente disminuye la actividad de la enzima en el tejido a partir de los 3-5 años a los 8 años ya presentan una actividad lactásica reducida a una capacidad mínima para ingerir lactosa (< 10 U/g de proteína). La menos común es la deficiencia congénita de lactasa o alactasia.

La malabsorción secundaria es causada por enfermedades intestinales como infecciones o inflamaciones que atrofian el villi en el intestino delgado. La lactasa por su localización distal en el villi es la primera disacaridasa afectada. Es una deficiencia reversible.

La determinación de la actividad de la lactasa en biopsia intestinal junto con el diagnóstico histológico nos permiten distinguir entre la intolerancia primaria o secundaria a la lactosa. Desde el punto de vista semiológico, hay malabsorción cuando el test del H₂ es positivo, hay intolerancia cuando a la prueba positiva o anormal y se asocian síntomas. En la hipolactasia tanto la anamnesis como los síntomas tras la sobrecarga no tienen suficiente rendimiento diagnóstico.

Prueba genética para la lactosa

La prueba es simple, requiere una muestra de ADN, que se obtiene de sangre periférica (EDTA). No tiene restricción dietética y el resultado es positivo o negativo. Se estudian los polimorfismos del gen MCM6, localizado en la proximidad del gen LCT, en el cromosoma 2q21-22. En el gen codificador de la lactasa se han identificado dos polimorfismos, el C/T 13910 (C>T) y el G/A 22018 (G>A), que se heredan ligados y se asocian con la persistencia de la lactasa⁽⁴²⁾.

Los pacientes con el genotipo CC del polimorfismo C/T 13910 y genotipo GG del polimorfismo G/A 22018 presentan una predisposición a una hipolactasia primaria. Esta prueba no permite realizar el diagnóstico de hipolactasia secundaria.

El estudio se puede realizar mediante la ampliación específica del ADN, donde están localizados los polimorfismos [C/T 13910 (C>T) y el G/A 22018 (G>A)], mediante la reacción en cadena de la polimerasa a tiempo real y marcaje con sondas fluoresceinadas.

La concordancia, entre la prueba genética y la prueba del H₂ para la lactosa, con la variante genética no persistente CC, fue de un 100% y con la lactasa persistente de un 95%⁽⁴³⁻⁴⁵⁾. Ambas pruebas son complementarias. La prueba del H₂ nos da el diagnóstico de malabsorción de lactosa, el test genético diagnostica la predisposición a desarrollar hipolactasia primaria.

Su validez no está establecida, podría ser válida en pacientes mayores de 8 años con clínica sugestiva y test del H₂ negativo. Si solo se estudia el genotipo C/T 13910, la prueba solo es válida para aquellas poblaciones en las que se ha encontrado una estrecha relación entre el genotipo/fenotipo⁽⁴⁵⁾.

El problema de la prueba genética en el diagnóstico, es que solo detecta hipolactasia primaria, no orienta a otras causas de una actividad de lactasa baja. Además, hay que tener en cuenta que la edad en la cual se desarrolla la hipolactasia en los transportadores del polimorfismo es variable. La prueba nos puede informar si un niño va a ser hipolactásico en la edad adulta.

Existen otros métodos no invasivos que nos pueden orientar y confirmar el diagnóstico, como las pruebas de tolerancia, test del H₂^(36,45), ya descritos anteriormente y el método de la gaxilosa^(46,47).

4.1.1.2.8 Prueba de la gaxilosa

Este es un nuevo método diagnóstico no invasivo que evalúa la hipolactasia en pacientes con síntomas de intolerancia. Se basa en la administración oral de un sustrato sintético análogo de la lactosa la 4-galactosilxilosa o gaxilosa. Este sustrato carece de efecto farmacológico, no es absorbido por el tracto digestivo, se hidroliza en el lumen intestinal por la lactasa del borde en cepillo liberando galactosa y xilosa. Ambas se absorben a nivel del intestino delgado. La xilosa se absorbe por transporte pasivo, alcanza el torrente sanguíneo, parte es metabolizada por el hígado aproximadamente entre el 30-50% y el resto se elimina por la orina. Estudios realizados por Aragón y col.⁽⁴⁸⁾, han demostrado en una población adulta que la xilosa presente en la orina se correlaciona positivamente con la actividad lactásica determinada en la biopsia intestinal. Estos autores también han investigado su eficacia diagnóstica en la malabsorción de lactosa haciendo un estudio comparativo con otras pruebas como la prueba del H₂ y test de tolerancia en sangre capilar, han utilizado como referencia la actividad de la lactasa en la biopsia intestinal.

El análisis farmacocinético de la xilosa acumulada en orina, recogida durante 5 horas, permitió obtener la dosis adecuada de sustrato que debe ingerir el paciente, determinándose que 0,45 g/100 ml de agua eran suficiente. En el caso de la determinación de la xilosa sérica, la dosis de sustrato establecida fue de 2,7 g/100 ml de agua y la determinación de la xilosa a los 90 minutos, después de la administración del sustrato. Con estas dosis los valores de *cut-off* encontrados fueron de 19,18 mg/dl en orina, por el método enzimático, y de 27,58 mg y 37,87 mg de xilosa en orinas recogidas durante 4 o 5 horas y de 0,97 mg/dl en sangre, si la determinación de la xilosa se realizaba por el método del floroglucinol. La prueba es positiva si la excreción de xilosa está por debajo de estos *cut-off*.

La D-xilosa puede ser medida en sangre u orina por un simple método colorimétrico (floroglucinol) o enzimático^(49,50). La combinación de ambas pruebas debería aplicarse en pacientes con disfunción renal, vaciamiento gástrico lento o hipertensión portal. La excreción de xilosa en orina en estos pacientes es baja.

Se ha encontrado una muy buena correlación entre esta xilosa excretada y la actividad lactásica en biopsia intestinal (S y E > 90%, respectivamente). Los estudios realizados^(36,38) sugieren que la gaxilosa refleja la actividad global de la lactasa intestinal. Se podría considerar un indicador en general de la capacidad digestiva de la lactosa^(48,51).

- *Ventajas de la prueba:* Cantidad de sustrato administrado 0,45 g de gaxilosa disueltos en 100 ml de agua. En los pacientes deficientes de lactasa no causa síntomas adversos. La dosis baja de gaxilosa es bien tolerada por los hipolactásicos.

La muestra es orina de 5 horas. Esto sería un inconveniente en niños, pero como la determinación de xilosa también se puede realizar en sangre en estos pacientes, sería la muestra adecuada cuando la prueba sea validada en niños.

Es un método simple, rápido, seguro, con buena sensibilidad y especificidad Para evaluar la actividad lactásica solo se requiere determinar la concentración de xilosa en sangre u orina, una determinación rutinaria en un laboratorio clínico. No necesita un aparataje complejo, solo un colorímetro o espectrofotómetro

- *Contraindicaciones:* enfermedad renal grave, hipertensión portal, mixedema, diabetes mellitus, gastrectomía total y/o vagotomía.

Los valores de *sensibilidad y especificidad* encontrados en la literatura con relación a la prueba de tolerancia de lactosa^(48,52) son muy variables, por esta razón lo expresamos dentro de un rango. El resto de los valores (Tabla 9) proceden de un estudio en más de 200 pacientes que realizaron todas las pruebas diagnósticas incluida biopsia intestinal como estándar de referencia⁽⁴⁸⁾.

TABLA 9. Validez diagnóstica de las metodologías utilizadas para el estudio de la malabsorción de la lactosa. Método de referencia la biopsia intestinal^(48,52).

Metodología	Condición/ Variable detectada	Tipo de hipolactasia	Invasividad	Efectos de la prueba	Validez diagnóstica	
					Sensibilidad %	Especificidad %
Test de hidrógeno espirado	Malabsorción de la lactosa	Primaria y secundaria	No invasivo	Puede provocar síntomas intensos	73,2	85,6
Test de tolerancia a la lactosa	Malabsorción de la lactosa	Primaria y secundaria	Mínimamente invasivo	Puede provocar síntomas intensos	76-94	77-96
Test de tolerancia a la lactosa (en sangre capilar)	Malabsorción de la lactosa	Primaria y secundaria	Mínimamente invasivo	Puede provocar síntomas intensos	69,4	78,4
Test genético	Predisposición a la deficiencia de lactasa	Primaria	Mínimamente invasivo	Ningún efecto salvo el pinchazo	68,5	92,2
Test de gaxilosa	Malabsorción de la lactosa	Primaria y secundaria	No invasivo	Sin efectos reseñables	93,5	91,8
Biopsia intestinal	Actividad lactasa	Primaria y secundaria	Invasivo	Los riesgos propios de una intervención	Estándar de referencia	

4.1.1.2.9 Prueba del H₂ espirado para la lactosa

Un adulto normal después de una noche de ayuno exhala muy poco o nada de H₂ en el aliento. Un adulto con hipolactasia después de la sobrecarga comienza a exhalar H₂ entre los 60-90 minutos, siendo el pico máximo a los 120 minutos. De las pruebas indirectas esta es la mejor para detectar la hipolactasia en el adulto. Es muy importante la preparación del paciente para una mayor precisión de los resultados en la contribución al diagnóstico.

Sustrato: lactosa.

La prueba ha sido validada y estandarizada con 50 g de lactosa por la mayoría de los investigadores^(1,2). Es una cantidad que se encuentra en un litro de leche, que normalmente no ingerimos de una sola vez. Por lo que se recomienda administrar la mitad 25 g que se acerca más a nuestros hábitos, en una solución acuosa al 10% (1 g/kg de peso máximo 25 g). No hay evidencia científica que la leche sea mejor sustrato que la lactosa.

Duración de la prueba: Se recomienda: duración de 4 horas. Test más cortos empeoran la sensibilidad.

Intervalos del muestreo: Muestras cada 30 minutos.

El cut-off: < 20 ppm sobre la línea base. Se ha comprobado que el *cut-off* de <10 ppm sobre la línea base aumenta la sensibilidad, pero empeora la especificidad.

La prueba se ha intentado simplificar⁽¹⁴⁾, ya sea reduciendo el número de muestras (4 muestras= 0-90-120-180 minutos) o acortando el tiempo de duración a 2 horas⁽¹⁵⁾. La determinación de un valor absoluto de excreción de H₂ mayor de 6 ppm a las 6 horas es otra alternativa diagnóstica con menos evidencia científica. Hay pocos datos disponibles para la adopción de estos nuevos criterios en la práctica clínica^(1,2).

En pediatría: La dosis de lactosa es 1g/kg máximo 25 g en una solución al 10%. El uso de leche como sustrato no es recomendable.

Cut-off: en el niño es similar al del adulto < 20 ppm sobre la línea base.

Muestras cada 30 minutos por un período de 3 horas.

En patrón absorbente de lactosa los niveles de H₂ están por debajo de 10 ppm y en el test de tolerancia los niveles de glucosa están por encima de 25 mg/dl (Fig. 16).

En la malabsorción de lactosa los niveles de H₂ aumentan después de los 90 min de la sobrecarga. No hay síntomas clínicos (Fig. 17). Puede elevarse el CH₄ a niveles antes de los 90 minutos y no hay síntomas clínicos. Los datos son sugerentes de malabsorción y sobrecrecimiento bacteriano de lactosa (Fig. 18).

- *Síntomas:* Es útil evaluar el comienzo y severidad de los síntomas intestinales (dolor abdominal, meteorismo, flatulencia y diarrea), durante la prueba y 8 h después, para determinar la intolerancia a la lactosa tanto en niños como adultos. (Figs. 19 a 23).

Concluyendo: En la hipolactasia aumenta el H₂ en el aliento, no hay incremento de la glicemia en sangre capilar. No cambia la excreción de galactosa en orina. Después de la sobrecarga de lactosa con una actividad lactásica normal la concentración de galactosa en orina es menor de 2 mg/3 h.

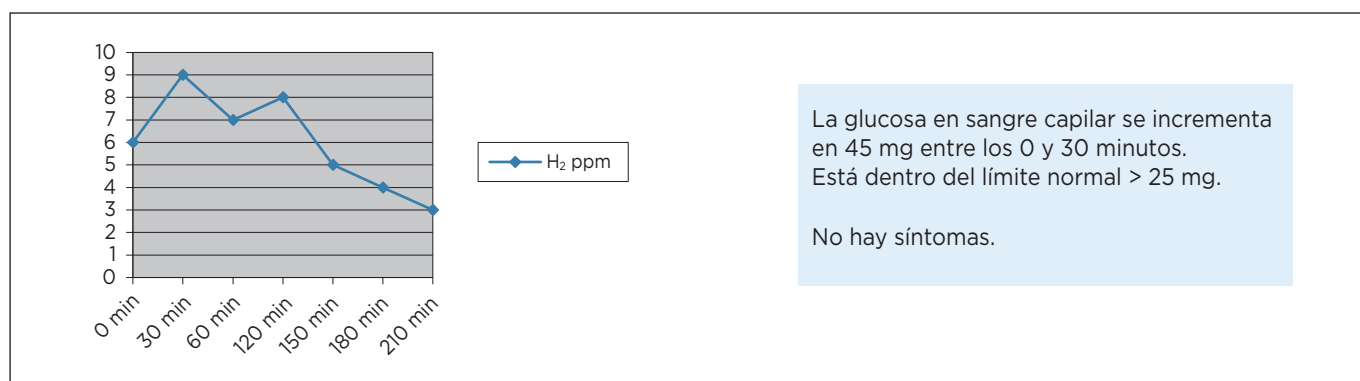


FIGURA 16. Prueba del H₂ y prueba de tolerancia: Patrón absorbente de lactosa.

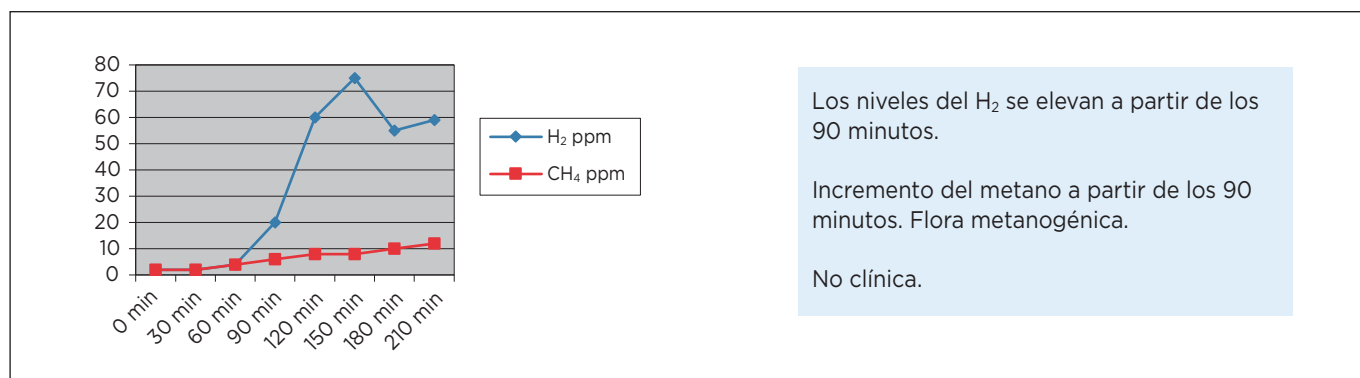
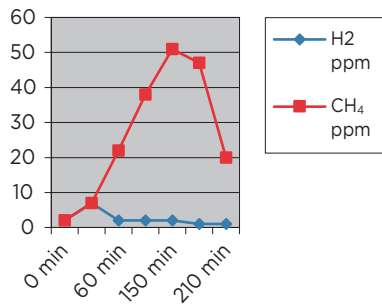


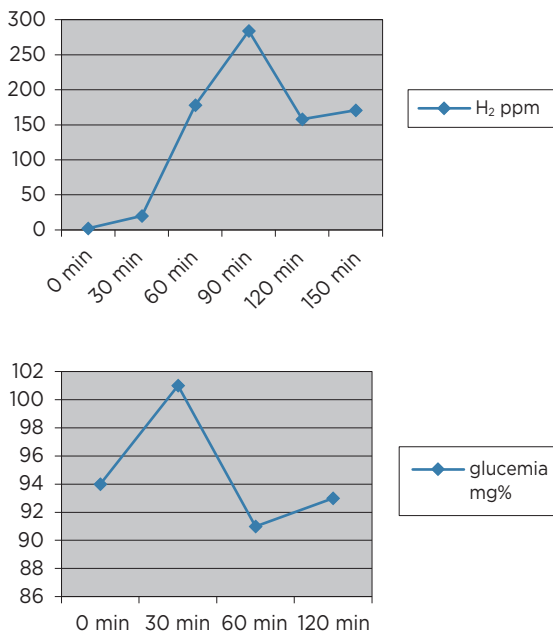
FIGURA 17. Prueba del H₂ y del CH₄: Malabsorción de lactosa. Incremento del H₂ en el intestino distal.



Incremento del CH₄ a los 60 minutos.

No clínica.

FIGURA 18. Prueba del H₂ y del CH₄: Flora metanogénica. Malabsorción de lactosa y sobrecrecimiento.



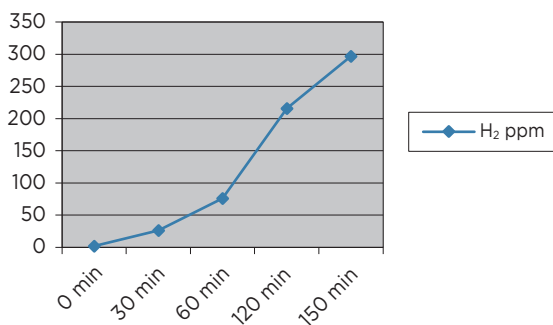
Síntomas: 30 min aerofagia y estómago revuelto.

60 min: diarrea, retortijones, borborigmo.

90 min: retortijones, aerofagia, borborigmo.

120 min: diarrea, retortijones, aerofagia.

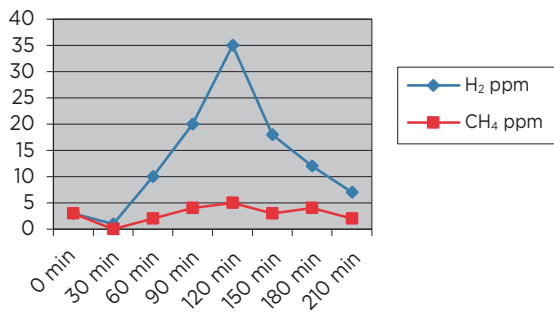
FIGURA 19. Prueba del H₂ y prueba de tolerancia. El incremento de la glucosa sérica (7 mg) se encuentra por debajo del límite de referencia (> 25 mg). El aumento significativo del hidrógeno espirado desde los 30 minutos de la sobrecarga, junto a la sintomatología sugiere una intolerancia a la lactosa con sobrecrecimiento bacteriano.



La glicemia en sangre capilar entre los 0 y 30 minutos se incrementa en 33 mg. Esta dentro del límite de referencia mayor de 25 mg.

Síntomas: comienza con diarrea a los 40 minutos seguidos de aerofagia los 60 minutos, retortijones, aerofagia y diarrea a los 90 minutos y retortijones, aerofagia a los 120 minutos

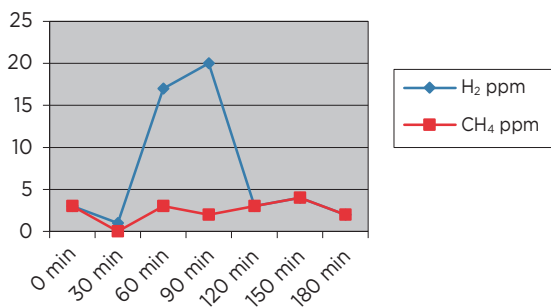
FIGURA 20. Prueba del H₂ y prueba de tolerancia: El resultado de la sobrecarga junto a los síntomas sugieren una intolerancia a la lactosa con sobrecrecimiento bacteriano.



Incremento del H₂ desde los 90 minutos. Flora metanogénica escasa.

Síntomas: dolor abdominal, gases, diarrea.

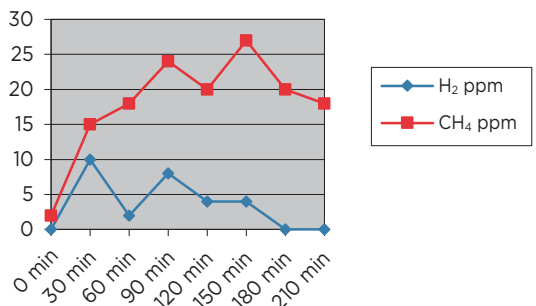
FIGURA 21. Prueba del H₂ y CH₄: El resultado de la sobrecarga junto a los síntomas sugieren una intolerancia a la lactosa.



Entre los 60 y 90 minutos hay un incremento del H₂ (con respecto al basal 19 ppm. El basal corresponde a los 30 minutos).

No hay síntomas.

FIGURA 22. Prueba del H₂ y CH₄: El resultado de la sobrecarga sugiere sobrecrecimiento bacteriano o tránsito rápido.



Los niveles de CH₄ aumentan a partir de los 30 minutos. Abundante flora metanogénica.

Síntomas: dolor abdominal y flatulencia.

FIGURA 23. Prueba del H₂ y CH₄: El resultado de la sobrecarga con lactosa, junto a los síntomas sugieren: Intolerancia a la lactosa y Sobrecrecimiento bacteriano.

4.1.2 Sacarosa. Utilidad de la prueba del H₂

La sacarosa es un disacárido constituido por una molécula de glucosa y otra de fructosa unidos por un enlace (alfa 1-2), entre el radical aldehído de la glucosa y el ceto de la fructosa (Fig. 24). No tiene poder reductor. Es hidrolizada por la sacarasa en el lumen intestinal.

Se ha aislado la proteína del complejo sacarasa-isomaltasa (**S-I**) y la genética está muy avanzada⁽⁵³⁾. Tanto la deficiencia primaria como secundaria pueden ser diagnosticadas con la prueba del H₂. En la deficiencia primaria

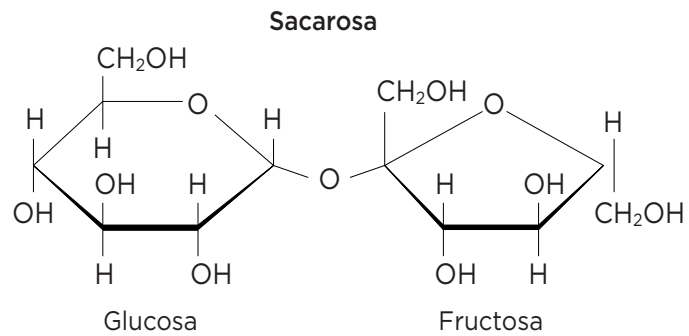


FIGURA 24. Fórmula estructural de la sacarosa.

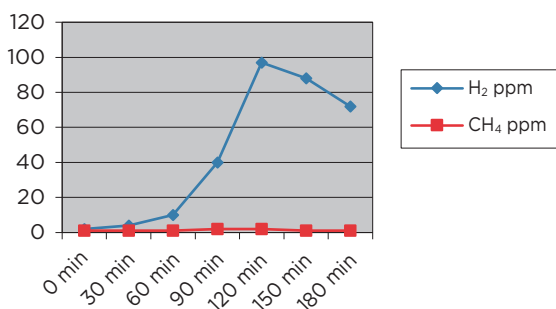
la confirmación diagnóstica la da la determinación de la actividad enzimática en la biopsia^(30,54). Este desorden genético se presenta desde el nacimiento y persiste durante toda la vida.

El complejo sacarasa-isomaltasa es un dímero cuya estructura son 2 unidades similares en forma y tamaño, se separan por destrucción selectiva de cada una, está localizado en el cromosoma 3 (3q16), PM 210 kDa. Se inserta en la membrana apical por el terminal tN de la isomaltasa. El complejo maduro está formado por las dos enzimas sacarasa e isomaltasa. Después de la síntesis la proenzima es transportada e insertada en la membrana apical del enterocito. La tripsina pancreática hidroliza esta cadena extracelular, la sacarasa queda libre y la isomaltasa anclada a la pared. Ambas proteínas permanecen unidas por interacciones no covalentes.

La deficiencia S-I es la patología en este campo más estudiada por los investigadores^(53,55,56). Es un desorden autosómico recesivo. El complejo S-I sufre una mutación en el borde en cepillo lugar donde está anclada. Los fenotipos varían desde una reducción de la actividad de la sacarasa hasta una ausencia total. La actividad de la isomaltasa es variable, el almidón se absorbe mal, la histología intestinal es normal.

El papel dominante del complejo S-I para liberar glucosa de las dextrinas límites determina la velocidad de absorción de la glucosa del almidón durante el ayuno. Los productos ramificados del almidón que son hidrolizados por la isomaltasa se conocen como “productos de digestión lenta”. Los síntomas están en función de la cantidad de almidón y azúcar consumido. En los lactantes los zumos, la sacarosa y maltodextrinas que contienen las fórmulas infantiles juegan un papel en las manifestaciones clínicas de la deficiencia de S-I.

En nuestro laboratorio, para valorar la precisión diagnóstica de la prueba del H₂, utilizamos los resultados obtenidos en los pacientes con sospecha de deficiencia de sacarasa-isomaltasa (Fig. 25), a los que se les realizó la prueba del H₂ con sobrecarga de sacarosa, la determinación de la actividad enzimática en la biopsia intestinal y el estudio histológico⁽³⁰⁻³²⁾.



La glucemia se incrementa en 15 mg /dl.
Lo normal es > de 20 mg/dl.

Los niveles de H₂ se elevan a partir de los 60 minutos.

No hay síntomas.

FIGURA 25. Prueba del H₂ y CH₄ y prueba de tolerancia con sobrecarga de sacarosa. Los resultados sugieren malabsorción de sacarosa y sobrecrecimiento bacteriano.

La prueba del H₂ permitió identificar a todos los pacientes (100%), a pesar de la gran variabilidad individual. Los niveles de H₂ fluctuaron entre 51-190 ppm, entre los 90 y 120 minutos la mayoría de los pacientes presentaron un pico de H₂. El diagnóstico fue confirmado con la determinación de la actividad de la sacarasa en la biopsia intestinal que se encontró disminuida y el estudio histológico que fue normal. En niños con FQ y función de colon anormal la prueba del aliento demostró una alta prevalencia de malabsorción secundaria a la sacarasa⁽³⁰⁾.

En otros estudios, se ha encontrado correlación entre el test del H₂ con los métodos que utilizan ¹³CO₂ en el aliento, la genética y la actividad enzimática en la deficiencia de sacarasa-isomaltasa^(51,53,55). La metodología es similar al de la lactosa, solo cambia el sustrato.

4.1.3 Fructosa: Malabsorción e intolerancia y prueba del H₂ en el aliento

Es un monosacárido que se encuentra en la dieta como fructosa libre (fruta y miel), como constituyente de la sacarosa o fructanos (polímeros de la fructosa contenido en los oligosacáridos de vegetales) y en el trigo. La fuente principal son las frutas, pero también es abundante en la miel, vegetales como puerro, cebollas, lechuga y gramíneas. Industrialmente se obtiene por isomerización enzimática de la glucosa (glucosa isomerasa). El jarabe conocido como isoglucosa es una mezcla de fructosa (42%) y glucosa. Se comercializa como polvo cristalino. Es una cetohexosa que se encuentra en forma de beta-D-fructofuranosa.



FIGURA 26. La principal fuente de fructosa es la fruta.

La fructosa es un isómero de la glucosa (aldehído), a diferencia de ella es una cetosa. Como su nombre lo indica está presente en las frutas. Se le conoce como el azúcar de la fruta (Fig. 26). Es una hexosa que cicla en forma de furano, el resto de las hexosas lo hacen en pirano. Es una cetohexosa que pertenece a la serie D (1,3,4,5,6 pentahidroxil 2-hexanona). Todas las células del cuerpo pueden metabolizar la glucosa, sin embargo, la fructosa solo es metabolizada por el hígado. El hígado la metaboliza y almacena en forma de glucógeno, que sirve de reserva en situaciones de esfuerzo. Durante su metabolización se ha observado que los niveles de ghrelina en sangre se elevan y que los niveles de insulina y leptina se reducen, como ambas disminuyen el apetito, el individuo ingiere más alimento, por lo que se relaciona a la fructosa con la obesidad⁽⁵⁷⁾.

Lo más importante es que la fructosa se metaboliza principalmente en el hígado, por un mecanismo distinto a la glucosa, que favorece la formación de triglicéridos, y por tanto el almacenamiento final en forma de grasa. El

metabolismo hepático de la glucosa ocasiona también niveles más elevados de ghrelina en sangre, reduciendo los niveles de insulina y leptina. Como la insulina y la leptina inhiben el apetito y la ghrelina lo incrementa, la ingesta de fructosa no calma el apetito y el individuo se ve inducido a ingerir más alimentos, en muchos casos conteniendo también fructosa. De esta forma, la fructosa se ha relacionado también con la obesidad⁽⁵⁷⁾.

En cantidades iguales la fructosa endulza seis veces más que la glucosa. Esta alta capacidad edulcorante que posee unido a menos calorías y bajo índice glicémico ha aumentado el consumo de la fructosa.

Los síntomas clínicos de malabsorción de fructosa (flatulencia, diarrea y dolor abdominal), se correlacionan positivamente con la prueba del H₂ espirado especialmente con la diarrea⁽⁵⁸⁾.

Helwig y cols.⁽⁵⁸⁾ han intentado estandarizar el *cut-off*, que hasta ahora era una extrapolación del *cut-off* de la lactosa, y observaron que elevándolo a 40 y 60 ppm el valor predictivo no era mejor que el establecido en 20 ppm.

Mientras que la intolerancia a la fructosa se caracteriza por un defecto enzimático hereditario del hígado, la malabsorción primaria se debe probablemente a un defecto del transporte de monosacáridos en el intestino y la secundaria por enfermedades que alteran la mucosa de los tramos altos del intestino delgado (celíacos, enfermedad de Crohn, enfermedad de Whipple o infecciones agudas).

La prueba del H₂ es útil para estudiar la malabsorción de la fructosa^(16,58,59) (Figs. 27 a 30), y la prueba ¹³C-fructosa evalúa su metabolismo interno (cantidad de glucosa sintetizada a partir de la fructosa y fructosa oxidada).

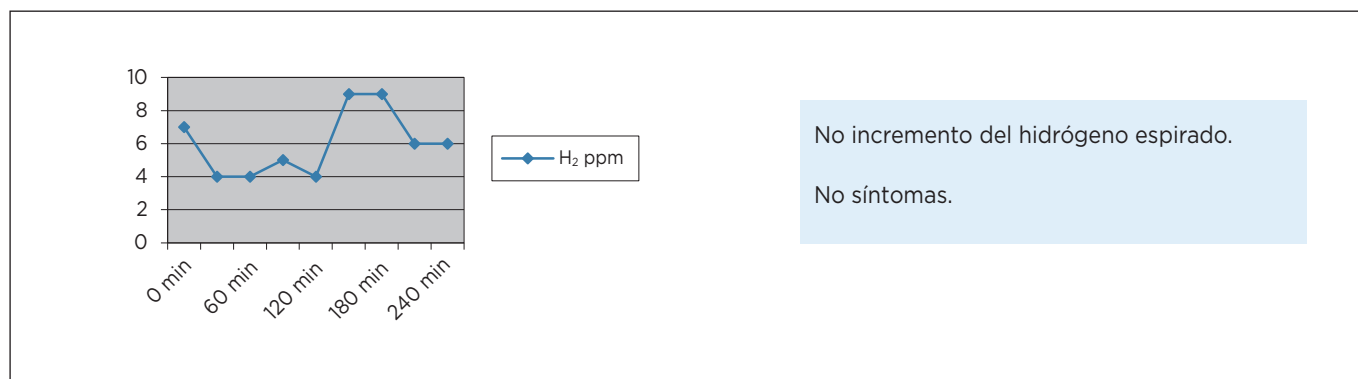


FIGURA 27. Prueba del H₂ y CH₄: Patrón absorbente de fructosa.

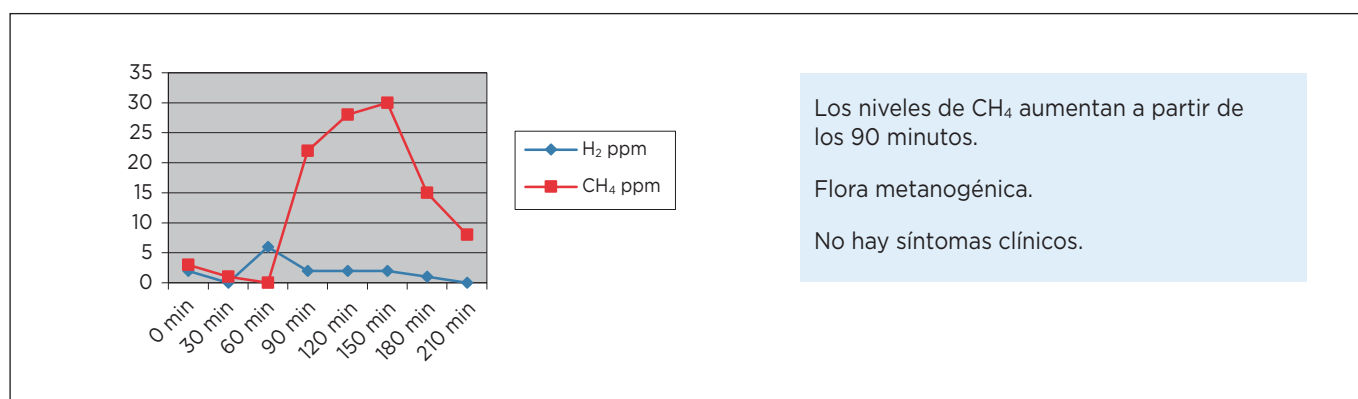


FIGURA 28. Test del H₂ y CH₄ con fructosa: Los resultados de la sobrecarga con fructosa y la ausencia de síntomas sugieren: Malabsorción de fructosa.

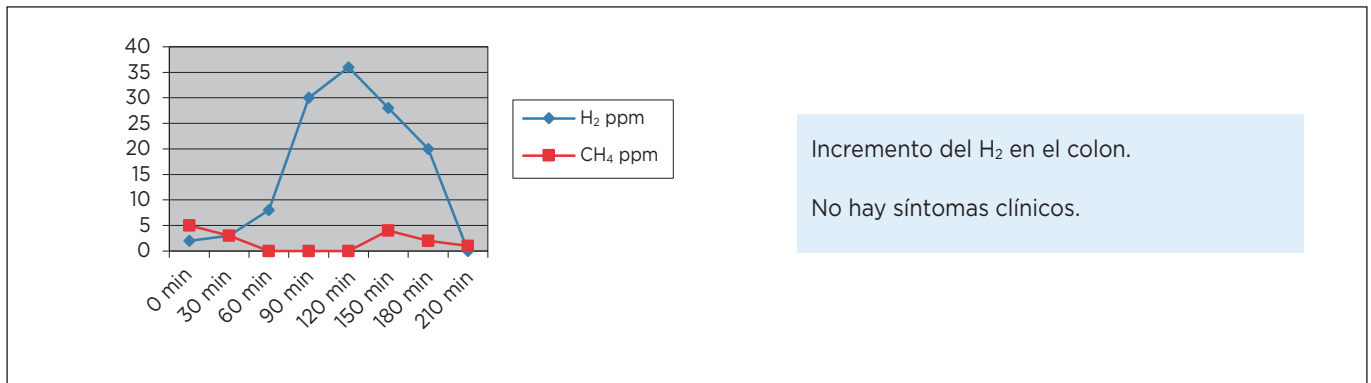


FIGURA 29. Prueba del H₂ y CH₄ espirado en la fructosa: Los resultados de la sobrecarga con fructosa y la ausencia de síntomas sugieren: Malabsorción de fructosa.

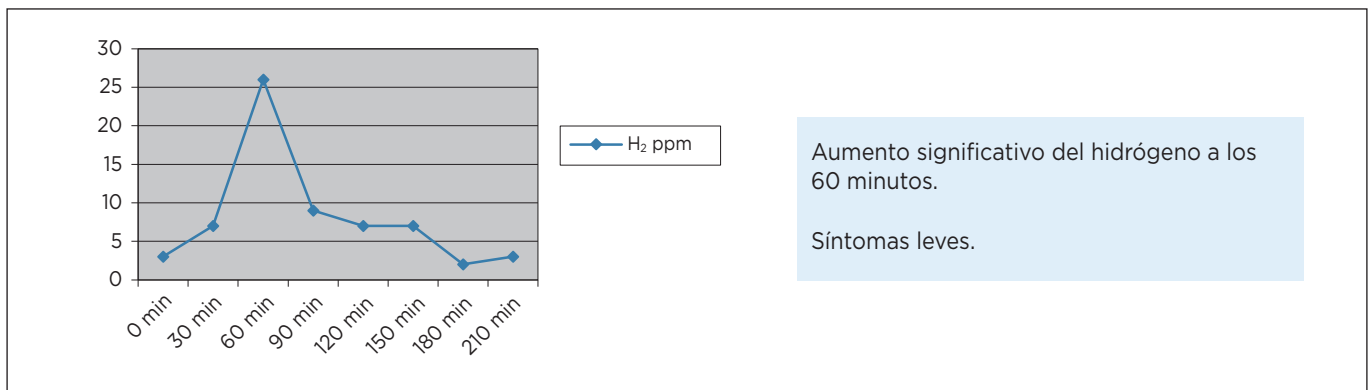


FIGURA 30. Los resultados de la sobrecarga con fructosa sugieren: Intolerancia o sobrecrecimiento bacteriano. Se sugiere descartar sobrecrecimiento con la prueba de la lactulosa o glucosa.

Metabolismo de la fructosa. La fosfo-fructoquinasa fosforila la fructosa en el hígado su deficiencia produce fructosuria enfermedad carente de síntomas. La deficiencia de la aldolasa “B” en el hígado por la mutación del gen ALDOB que codifica esta enzima, origina una Intolerancia hereditaria autosómica recesiva a la fructosa (Figs. 31 y 32). Se acumula Fruc-1P que produce una inhibición de la glicolisis, aumentando los depósitos de glicógeno en el hígado. En la fosforilación de la fructosa se libera AMP (adenosín monofosfato), que se acumula y causa daño renal y hepático, inhibe la síntesis de las proteínas y aumenta los niveles de ácido úrico en sangre⁽⁵⁹⁾.

La malabsorción primaria se debe a un sistema de transporte inefectivo (Fig. 33). En su absorción el transporte se realiza de forma pasiva a favor de un gradiente de concentración. Los transportadores son: la proteína GLUT5 localizada en el borde en cepillo y el GLUT2 localizado en la membrana basolateral del enterocito, este transportador lo comparte con la glucosa y galactosa. La actividad de este transportador depende de la concentración de glucosa en el medio celular. La mezcla en el lumen intestinal de glucosa y fructosa facilita la absorción de fructosa permitiendo que pacientes intolerantes a la fructosa puedan consumir sacarosa⁽⁶¹⁾.

Se consideran prebióticos los fructo-oligosacáridos que son polímeros de la fructosa, no se absorben, son hidrolizados en el colon por las bacterias que sintetizan beta fructofuranosidasas (*bifidobacterium, lactobacillus*).

Los adultos entre un 37-80% presentan malabsorción a la fructosa si ingieren 50 g en una solución al 10% y, mayor aún, si la solución es al 20%, porque se sobrepasa la capacidad para absorberla del intestino (Fig. 33). Los niños entre 1 mes y 17 años absorben incompletamente la fructosa, cuando se le administraron 2 g/kg.

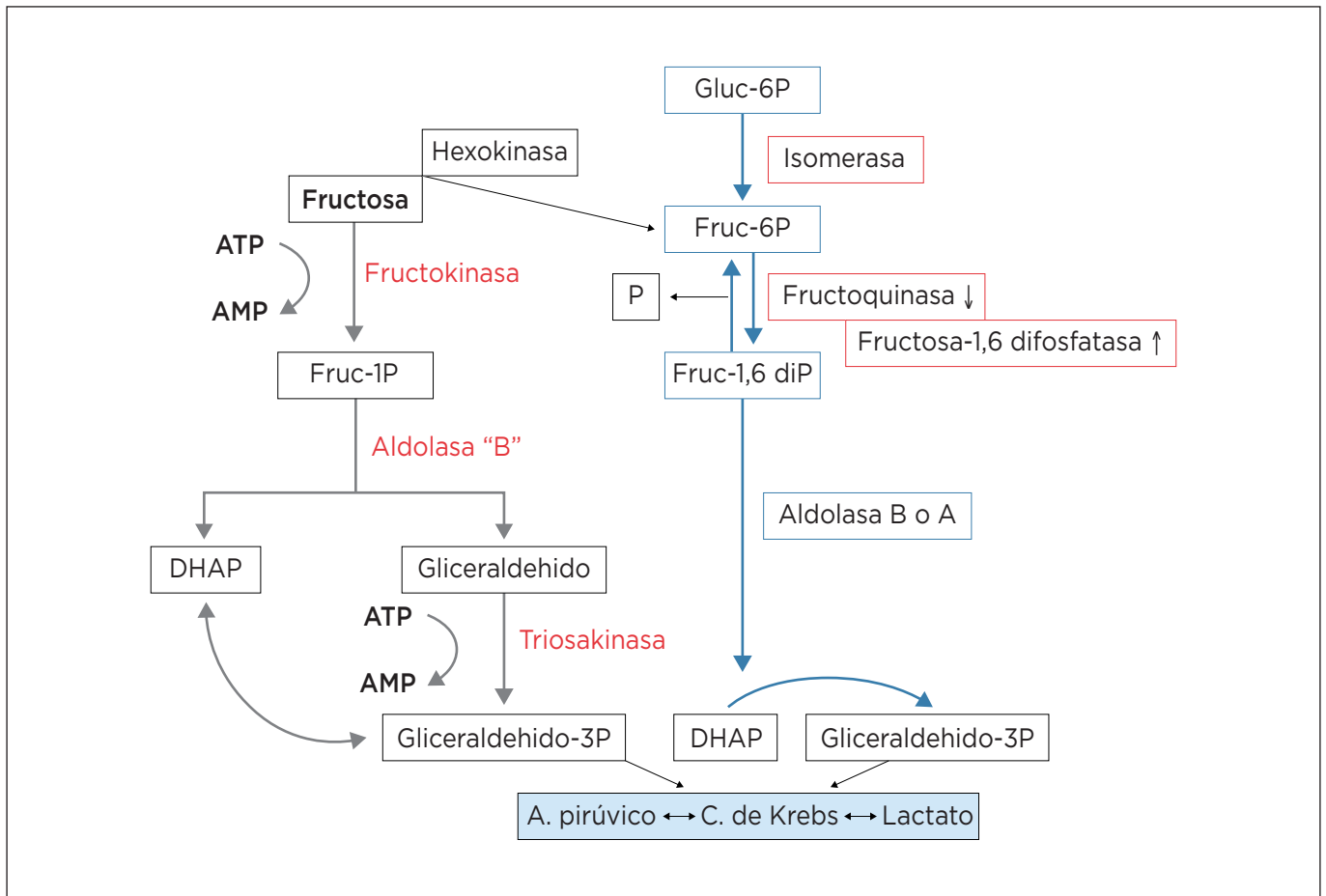


FIGURA 31. Metabolismo de la fructosa: existen dos rutas para el catabolismo de la fructosa. La primera: la de la enzima fructoquinasa (abundante en el hígado, riñón e intestino), que fosforila a la fructosa en el carbono-1 (Fru-1P). Y la segunda, una ruta menos importante que se realiza principalmente en los músculos, por unas hexoquinasa que fosforilan la fructosa en la posición 6 (F-6-P). Todas las células del cuerpo pueden metabolizar la glucosa, en cambio la fructosa sólo es metabolizada por el hígado y por un mecanismo distinto a la glucosa. La fructosa tiene tránsito hepático, por lo cual su metabolismo es lento e interfiere con el metabolismo de los ácidos grasos. (Fuente: Cornejo V, et al. 2004)⁽⁵⁹⁾

Cuanto mayor sea la dosis administrada, mayor será la malabsorción, por lo que, se sugiere una dosis de 25 g para el adulto que se asemeja más a un consumo diario y para el niño sería más adecuada una dosis de 1 g/kg de peso^(1,2,63) (Figs. 27 a 30).

La malabsorción se debe a un déficit o malfuncionamiento de su transportador (GLUT₅)⁽⁶³⁾.

La intolerancia hereditaria (Fig. 32) a la fructosa se diagnostica mediante estudios enzimáticos y genéticos. Los pacientes con defecto en el transporte de la fructosa presentan dolores cólicos y gases, los niños además diarrea osmótica y gases. Las dietas sin fructosa mejoran los síntomas. Por ser sustrato de la flora bacteriana del colon dosis muy elevadas producen los mismos síntomas en individuos normales. Si la respuesta es similar después de la ingestión de sacarosa, esto sugiere que hay una deficiencia de sacarasa-isomaltosa, aunque la actividad enzimática en la biopsia sea normal. Se puede decir que hay una tolerancia disminuida a la fructosa para diferenciarla de la hereditaria, producida por la deficiencia de la aldolasa B hepática^(1,2,63).

El diagnóstico la malabsorción es muy frecuente y desconocido para el médico y paciente. Está infradiagnosticada. El tiempo que transcurre desde la ingesta de fructosa y la aparición de los síntomas depende de muchas

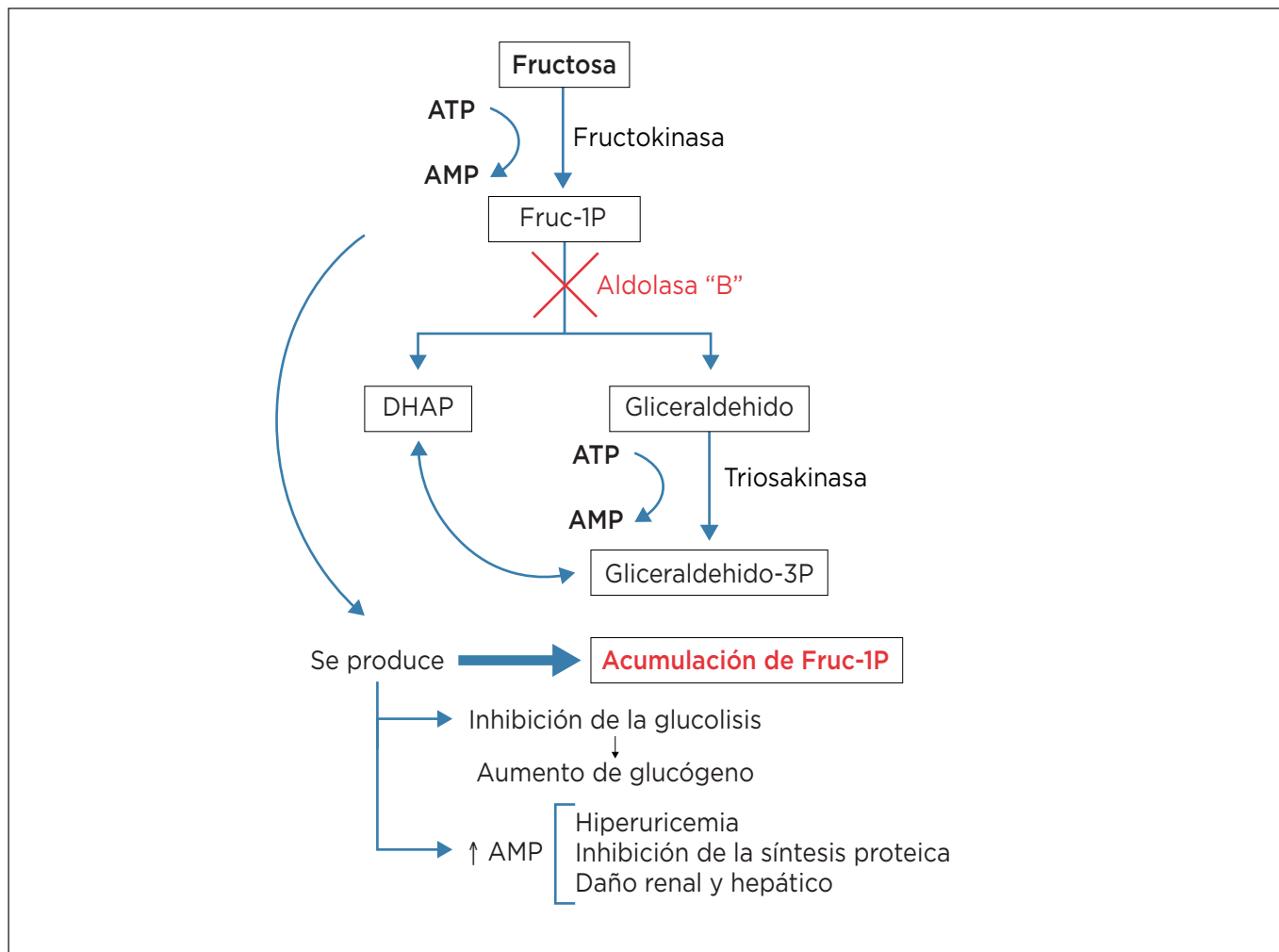


FIGURA 32. Intolerancia hereditaria a la fructosa. Esta deficiencia genera que se acumule un producto intermedio de la degradación de la fructosa que es tóxico para el organismo. La fructosa es absorbida por las células intestinales, pero el organismo es incapaz de metabolizarla correctamente ya que carece de la enzima fructosa-1-fosfato-aldolasa. Se acumula fructosa 1-fosfato en el hígado. La intolerabilidad a la fructosa, debida al déficit de fructosa aldolasa, ocasiona síntomas digestivos agudos, con o sin hipoglucemias, o manifestaciones hepáticas o renales que pueden comprometer el pronóstico vital si no se instaure rápidamente una dieta exenta de fructosa. La acumulación de fructosa 1 fosfato inhibe la síntesis de glucosa (glucogenólisis) produciendo hipoglucemia. El ATP utilizado para su fosforilación se degrada en AMP (adenosín monofosfato), luego en IMP (inositol monofosfato), y finalmente en ácido úrico, responsable de la gota, que también se asocia a dietas ricas en fructosa.

La disminución del *pool* de fósforo inorgánico activa las AMP deaminasas aumentando el catabolismo de los nucleótidos.

Esta deficiencia es hereditaria (autosómica recesiva). La incidencia es 1:20000. Por tanto, es una situación que se mantiene de por vida y que se diagnostica, generalmente, a una edad temprana mediante test bioquímicos y test genéticos. (Fuente: Suárez J, 2018)⁽⁶⁰⁾.

variables. La prueba está contraindicada para pacientes con intolerancia hereditaria, se pondría en riesgo la vida del paciente^(60,61).

Conclusión: La prueba del H₂ para la fructosa, solo se puede utilizar para detectar o excluir malabsorción, siempre que se descarten otros desordenes gastrointestinales. Hay que confirmar el diagnóstico con dieta libre de fructosa.

Tratamiento: Dieta libre de fructosa, sacarosa y sorbitol.

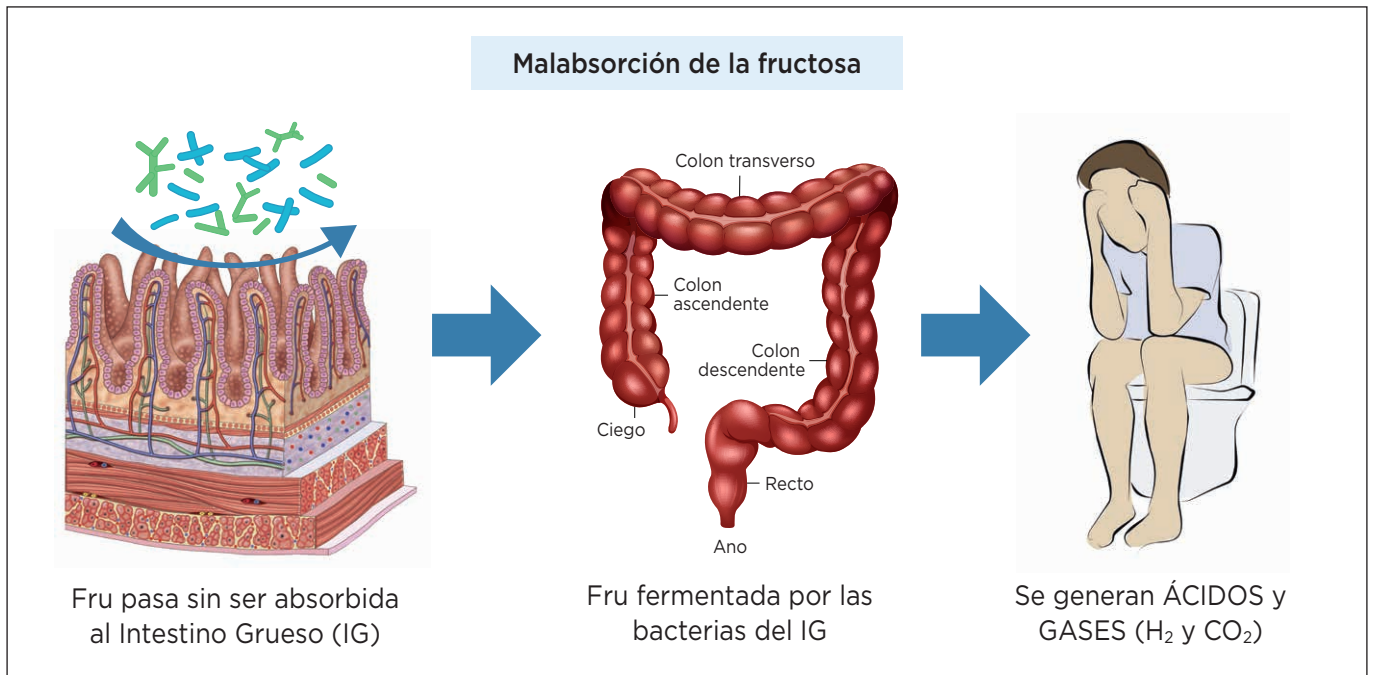


FIGURA 33. Malabsorción de la fructosa. (Fuente: Steinman B, et al. 2012)⁽⁶²⁾.

4.1.4. Sorbitol o alfa glucitol

El sorbitol es un poliol (alcohol de azúcar) que se utiliza como edulcorante. Es un alcohol presente en rosáceas y algas rojas (membrillo, manzana, pera, melocotón, albaricoques ...).

Este compuesto es muy utilizado en los productos dietéticos como edulcorante, espesante y humectante (chicles, gominolas, bollería, zumos), para absorberse compite con la fructosa por el transportador GLUT5 interfiriendo en su absorción. Un gramo de sorbitol es igual a 2,4 calorías, bastante menos que las 4 de la sacarosa y el almidón.

Cinco gramos de sorbitol incrementan el H₂ en el aire expirado en 20 ppm causando diarrea en las personas sanas (Fig. 34). Es un laxante a mayor concentración produce diarrea osmótica. Se absorbe completamente en el intestino delgado (Fig. 35).

“Para la fructosa y sorbitol la prueba del H₂ no está estandarizada y su impacto clínico no está claro”.

Por lo que no es recomendable su realización. Aunque puede ser útil para la orientación diagnóstica en algunos casos; una elevación de > 20 ppm sobre el valor basal se considera la prueba positiva^(1,2,57-59,63).

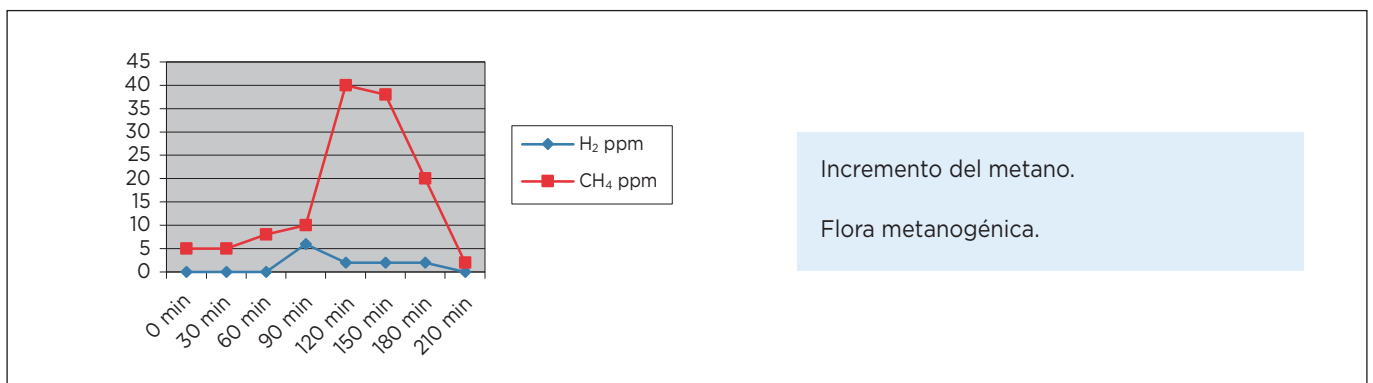


FIGURA 34. Los resultados de la sobrecarga con sorbitol sugieren que hay malabsorción del sorbitol.

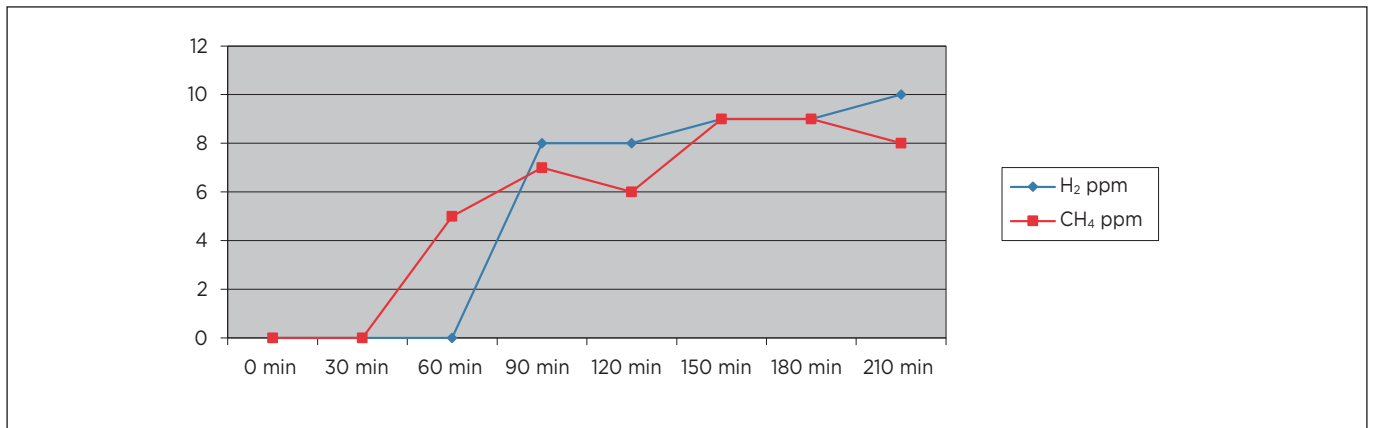


FIGURA 35. Los resultados de la sobrecarga con sorbitol sugieren que la absorción del sorbitol es normal.

Conclusión: Para el diagnóstico de malabsorción o intolerancia a la fructosa y/o sorbitol, no hay test de referencia con el que podamos comparar los resultados obtenidos. La dosis ideal de sustrato se desconoce. Se aconsejan 25 g en una solución acuosa al 10% de fructosa en la población pediátrica 1 g/kg en solución acuosa al 10%. El sorbitol 10 g dosis máxima en solución acuosa al 10%⁽⁶⁵⁾.

4.2 Sobrecrecimiento bacteriano

Definición: El sobrecrecimiento bacteriano se define como una concentración elevada de bacterias alrededor de 10^5 CFU/ml (Colony-Forming Units) por ml de aspirado yeyunal^(1,2,66,67), y más recientemente por los gases medibles en el aire espirado que producen estos microorganismos al metabolizar los hidratos de carbono. En el consenso norteamericano definen la concentración de bacteria como menos de 10^3 CFU/ml. Estas bacterias nativas o no nativas están en elevadas concentraciones produciendo una fermentación excesiva y como consecuencia inflamación o malabsorción. Esta elevación se asocia a anomalías anatómicas, desórdenes de la motilidad o causas multifactoriales (pancreatitis crónica, cirrosis hepática).

En el tracto digestivo normalmente las bacterias están limitadas al colon. La acidez gástrica elimina a la mayoría de los microorganismos ingeridos con los alimentos por lo tanto en el intestino delgado hay muy pocas bacterias, pero en ciertas condiciones en estas zonas del tracto digestivo, pueden encontrarse concentraciones elevadas (comúnmente en el yeyuno), esto se conoce como sobrecrecimiento bacteriano.

Tanto en el sobrecrecimiento bacteriano como en el síndrome de estasis, existe una colonización anormal de microorganismos que puede estar asociado con el aumento de la fermentación de los azúcares en el intestino delgado, originando síntomas de intolerancia. Se sospecha porque el pico de H₂ en el aliento es muy precoz durante la sobrecarga.

No está indicada la realización de esta prueba en episodios de diarreas agudas o episodios diarreicos. La razón son cambios en la flora, cambios en la motilidad, por la flatulencia y medicación (antibióticos). Además, las toxinas de la flora bacteriana (gastroenteritis), inhiben la actividad de las disacaridasas en el lumen intestinal causando malabsorción a los carbohidratos.

En los pacientes con celiaquía hay una correlación inversa estricta entre la lesión histológica y el incremento de H₂ en el aliento. Mientras más grave es la lesión anatómica antes se produce el incremento del H₂.

Interpretación de resultados de la prueba del H₂ en este proceso. En caso de malabsorción de hidratos de carbono en el intestino delgado, la excreción de H₂ aumenta entre los 90-120 min.

En la proliferación bacteriana se eleva la excreción de H₂ entre 15-45 min después de la sobrecarga. Se acepta que el incremento del H₂ se debe producir antes de los 90 minutos desde el inicio de la prueba^(1,2).

4.2.1 Microbiota del tracto gastrointestinal

El conocimiento de la composición de la flora bacteriana ha permitido identificar dos tipos de sobrecrecimiento bacteriano. El provocado por la flora del tracto respiratorio alto que es secundario a un fallo de la barrera gástrica y el provocado por las bacterias del colon por una alteración de la barrera ileocecal^(66,67).

La microbiota humana crea una ecología polimicrobiana compleja que se caracteriza por una alta densidad, amplia diversidad e interacciones que son bidireccionales con el sistema inmune, con la digestión, el metabolismo y la comunicación cerebro-intestino.

La microbiota está formada por un complejo ecosistema poli-microbiano, compuesto por virus, parásitos, hongos y bacterias, que viven en perfecta simbiosis con el hombre (Fig. 36). Su composición permanece constante en la edad adulta y es distinta en cada individuo. La flora varía cuali y cuantitativamente a lo largo del intestino. Se considera como un órgano metabólico escondido. En el estómago, duodeno y yeyuno (tracto intestinal alto o proximal), predomina la flora Gram positiva. En el íleon y colon (intestino medio y distal), predominan los coliformes y anaerobios.

El duodeno y yeyuno proximal contienen habitualmente un pequeño número (< 10⁴/ml) de bacterias aeróbicas (*Lactobacillus* y enterococos Gram positivos), o facultativos anaeróbicos (coliformes y bacteroides), estos últimos no se encuentran en el yeyuno del sujeto sano.

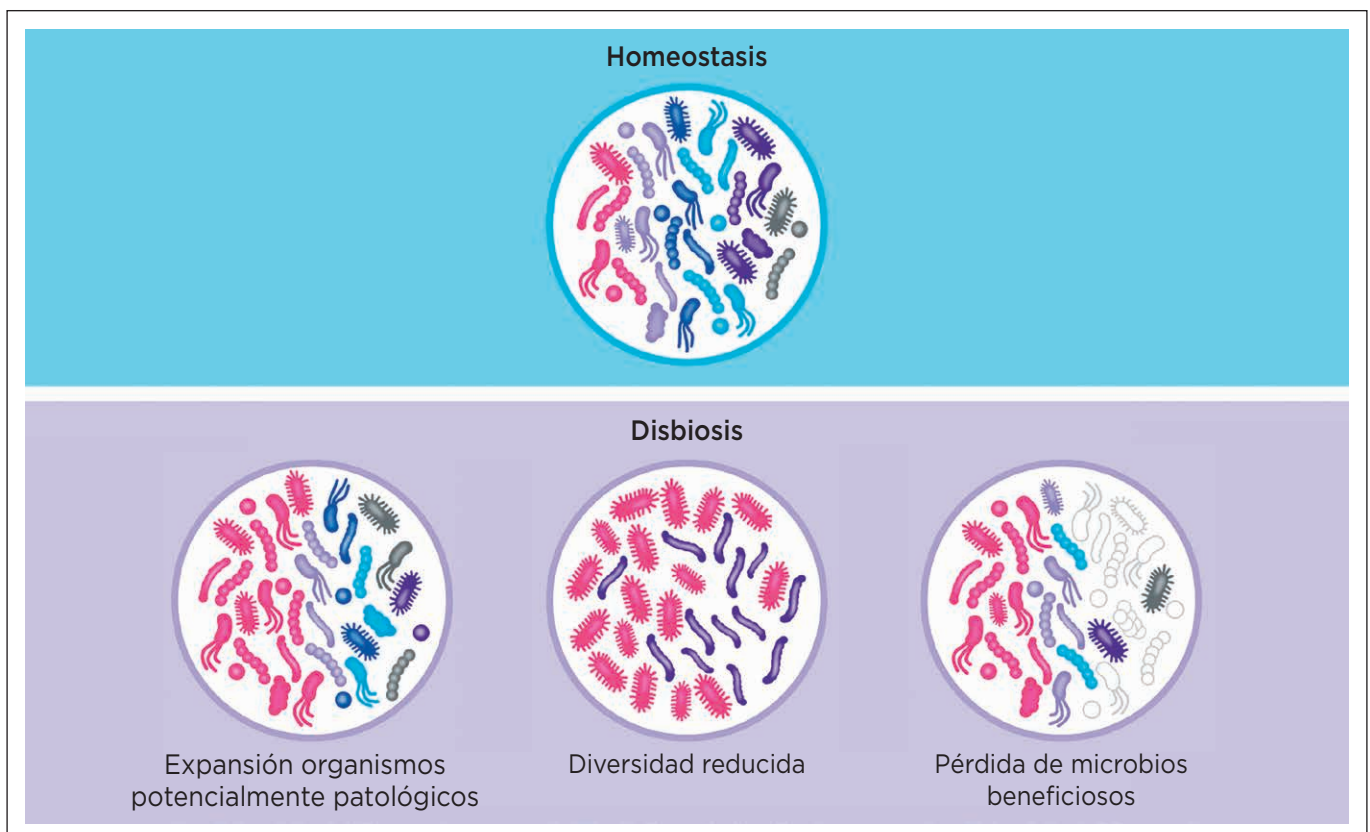


FIGURA 36. Definición de disbiosis. La pérdida de los microorganismos beneficiosos para el huésped, la expansión de los organismos potencialmente patógenos y la pérdida de la diversidad son los acontecimientos que se producen en la disbiosis. (Fuente: Petersen C, et al. 2014)⁽⁶⁷⁾.

El íleon distal es una zona de transición entre intestino proximal y distal con una escasa población anaeróbica del primero y una densa población anaeróbica estricta del intestino distal (colon). Las funciones fisiológicas normales del colon dependen de una concentración elevada de estas bacterias. Las fibras que no son digeridas en el intestino delgado son fermentadas por las bacterias del colon liberándose ácidos grasos de cadena corta que se absorben y son beneficiosos para la salud. Los ácidos grasos de cadena corta disminuyen el pH a nivel del colon (pH ácido que irrita la mucosa contribuyendo a la estimulación del peristaltismo ocasionando la diarrea), algunos de estos ácidos protegen del cáncer y mejoran la absorción de Ca, Mg y zinc y contribuyen a la formación del bolo fecal^(67,68).

4.2.2 La prevalencia del sobrecrecimiento bacteriano

Se desconoce porque en general el sobrecrecimiento bacteriano se queda sin diagnosticar, por ser asintomático o con síntomas inespecíficos, que pueden ser incorrectamente adscritos a otra patología o permanecer como subclínico. Un ejemplo: En pacientes celíacos y cirróticos se ha diagnosticado en el 50% de los casos^(69,70), en mayores de 70 años malabsorbente a la lactosa en el 90%, y en obesos vs no obesos en el 17% vs 2,5% respectivamente. Los estudios dependen de la población estudiada y del método utilizado para el diagnóstico (test del aliento con glucosa o lactulosa o sustrato marcado radioactivo o isótopo estable). Los síntomas son inespecíficos generalmente atribuidos a otros procesos de base que sufre el paciente.

4.2.3 La etiología

Es compleja y se asocia a desórdenes en los mecanismos antibacterianos protectores (aclorhidria, insuficiencia pancreática exocrina, síndromes de inmunodeficiencia), anomalías anatómicas (obstrucciones en el intestino delgado, divertículos, fistulas o resección de la válvula ileocecal) y los desórdenes de la motilidad. Los mecanismos de defensa determinan el número y tipo de bacterias que se encuentren en el intestino delgado. Los mecanismos protectores que impiden la colonización del intestino delgado son principalmente el jugo gástrico, la bilis, las enzimas proteolíticas del páncreas que digieren a estos microorganismos, la integridad de la mucosa intestinal y sus secreciones, la capa de moco que las atrapa, la válvula ileocecal que es una barrera que impide la traslocación y el sistema inmune (la IgA impide la traslocación). La homeostasis intestinal la mantiene el peristaltismo, la barrera ácida (ácido clorhídrico) del estómago, el efecto protector de la flora comensal y la continencia de la válvula ileocecal. Cualquier alteración de estos mecanismos anatómicos y/o funcionales en el individuo modifica la flora del intestino proximal. Si falla la barrera gástrica con alteración del peristaltismo se puede producir sobrecrecimiento bacteriano (senectud, consumo de inhibidores de la barrera de la bomba de protones). La válvula ileocecal evita el reflujo de contenido colónico hacia el íleon⁽⁶⁶⁾.

Como consecuencia del desbalance cualitativo y/o cuantitativo del complejo sistema microbiológico se produce malabsorción de nutrientes, fermentación aumentada e inflamación de la mucosa intestinal que se asocian a un aumento del número o especies de bacterias en el intestino delgado. Este concepto fue introducido en 1939 por Baker y Hammel⁽⁷¹⁾. Estos investigadores observaron anemia macrocítica en pacientes con un sistema gastrointestinal estructurado.

4.2.4 Síntomas

Pueden ser inespecíficos, como dolor abdominal, diarrea acuosa, dispepsia o fallo para ganar peso en el niño. Los efectos secundarios a la malabsorción son pérdida de peso, esteatorrea, deficiencia de vitaminas liposolubles y vitamina B₁₂. En los casos severos (cirugía con bypass intestinal o intestino corto), puede aparecer tetania (por la hipocalcemia inducida por deficiencia de vitamina D), ceguera nocturna (por deficiencia de vitamina A), dermatitis, artritis y daño hepático. La anemia es generalmente macrocítica debido a malabsorción de B₁₂,

las bacterias anaeróbicas consumen B₁₂ generando la anemia. El ácido fólico sérico es normal, pero a veces está aumentado y también puede aparecer indicán en orina. Al dañar estos microorganismos la permeabilidad intestinal altera la absorción de las proteínas (enteropatía pierde proteínas), deconjugan los ácidos biliares (malabsorción de grasas y vitaminas liposolubles), aumentando la excreción de ácido litocólico, D-lactato y poliglicanos. Estimulan las secreciones de citocinas pro y/o inflamatorias^(66,71). En conclusión, cualquier alteración de estos mecanismos anatómicos y/o funcionales como: secreciones intestinales, biliares y pancreáticas, la continencia de la válvula ileocecal y el efecto protector de la flora comensal, en el individuo pueden modificar la flora del intestino proximal (Fig. 37).

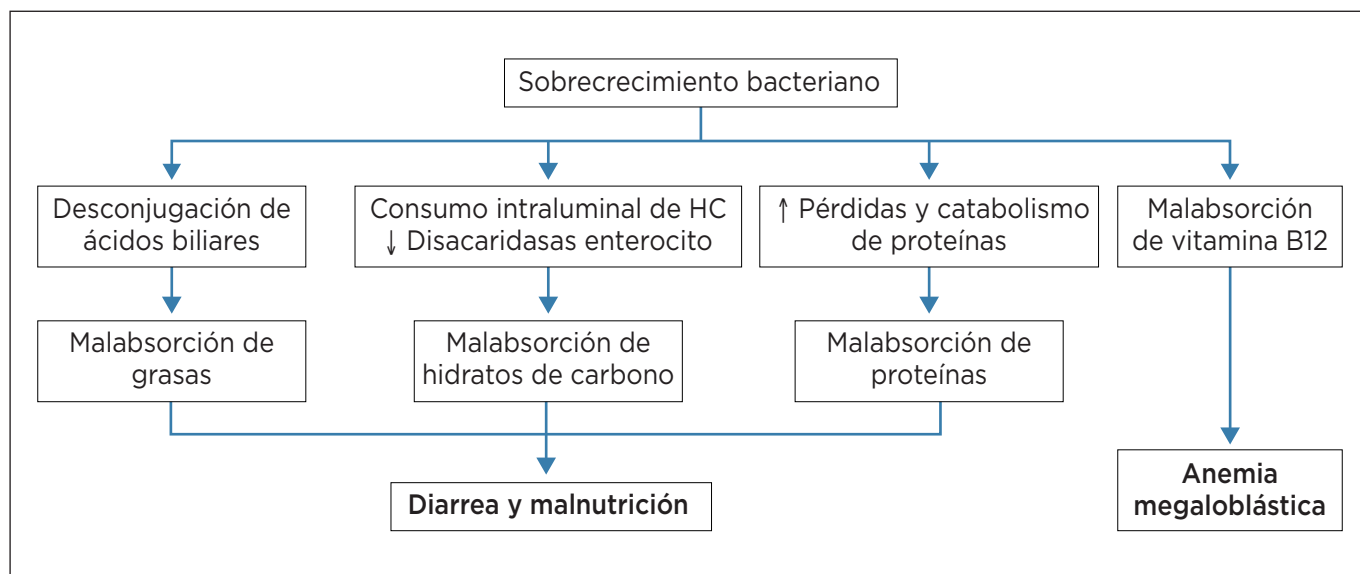


FIGURA 37. Alteraciones metabólicas que produce el sobrecrecimiento bacteriano.

4.2.5 Diagnóstico

El diagnóstico de sobrecrecimiento bacteriano se debe hacer en pacientes con características clínicas típicas y con una prueba de H₂ y/o un aspirado yeyunal positivo. Para establecer las causas de esta patología hay que realizar las pruebas adicionales para descartar otras enfermedades asociadas en el tracto gastrointestinal, o que tengan síntomas similares (celiaca, pancreatitis crónica, enfermedad inflamatoria intestinal...).

La prueba del H₂ debe estar incluido en el diagnóstico diferencial de los síntomas arriba descritos^(66,72). Además de los síntomas clínicos, en el sobrecrecimiento bacteriano se produce la alteración de parámetros bioquímicos y de la motilidad.

4.2.5.1 Diagnóstico. Parámetros bioquímicos alterados

En los test de laboratorio se detecta la anemia, bajas concentraciones de B₁₂ (test de Schilling más factor intrínseco), y signos de malnutrición (linfopenia y bajos niveles séricos de prealbúmina y transferrina).

El sobrecrecimiento bacteriano debería sospecharse si existe hipomotilidad, obstrucción parcial, dilatación, divertículos, o cualquier otro factor que retrase la motilidad intestinal. La biopsia solo identifica la inflamación asociada al sobre-desarrollo bacteriano. La deficiencia de B₁₂ (test de Schilling), que se produce en el sobrecrecimiento bacteriano si se normaliza después de un tratamiento con antibióticos confirma el diagnóstico^(66,68). Otras pruebas de cribado para detectar los metabolitos o productos bacterianos son: los niveles en niños de D-lactato en suero, la presencia de alcohol en sangre e indicán en orina.

Los carbohidratos no absorbidos son degradados por las bacterias entéricas, que reducen el transporte de monosacáridos y producen acidosis D-láctica. Los antígenos bacterianos absorbidos pueden causar inflamación en el intestino delgado y colon e inhibición de la actividad de las disacaridasas^(63,65). Estimulan la secreción de citocinas (Fig. 38) pro y/o inflamatorias⁽⁷²⁾.

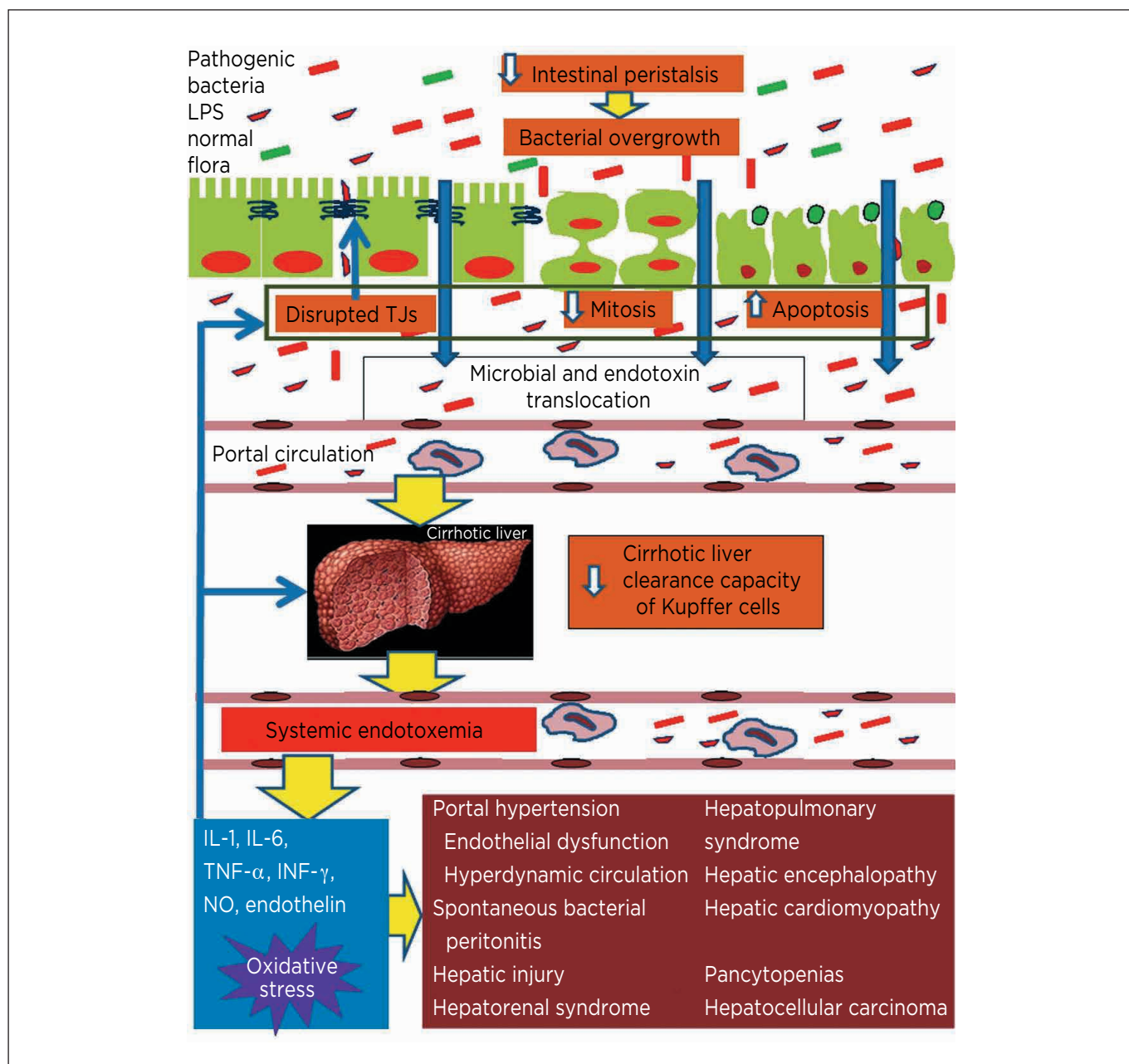


FIGURA 38. Disfunción de la barrera intestinal en la cirrosis. Patofisiología e implicaciones clínicas. (Fuente: Tsiaoussis G, 2015)⁽⁷³⁾.

Las proteínas al ser degradadas por las bacterias, generan urea que se transforma en amonio y puede ocasionar encefalopatías. Las bacterias Gram-negativas producen peptidoglicanos que interfieren con la circulación portal y reducen la captación de aminoácidos por la mucosa.

Los pacientes presentan bajos niveles séricos de tiamina y nicotinamida. Los folatos y la vitamina K están normales o aumentados. Las grasas fecales están aumentadas.

Los hallazgos endoscópicos no son requeridos en el diagnóstico del sobrecrecimiento bacteriano. La histopatología del intestino delgado y colon en la mayoría de estos pacientes es normal salvo en casos severos.

La esterilización del tracto gastrointestinal no es la terapia adecuada. Las bacterias son necesarias para mantener unas funciones gastrointestinales normales, tales como: las inmunes, la digestión de nutrientes, la producción de vitaminas (vitamina K y folatos). Las bacterias no patógenas protegen al huésped de las reacciones adversas ocasionadas por las bacterias patógenas.

4.2.5.2 Pruebas diagnósticas en el sobrecrecimiento bacteriano.

Las pruebas diagnósticas^(72,74,75), se dividen en test invasivos (requieren intubación y aspiración del contenido yeyunal), y los no invasivos (estos miden la concentración de productos del metabolismo bacteriano en aire espirado, suero y orina (Tabla 10).

TABLA 10. Pruebas diagnósticas: se clasifican en invasivas y no invasivas.	
Invasivas	• Aspirado yeyunal con conteo de bacterias y cultivo
	• Análisis del genoma en aspirado yeyunal
	• Ácidos biliares deconjugados en aspirado duodenal
No invasivas	• Prueba del aliento del H ₂ (glucosa y lactulosa)
	• Indicanuria
	• Ácidos biliares en suero
	• Análisis del genoma en heces (flora del colon)

4.2.5.2.1 Método del aspirado yeyunal

El estudio del aspirado yeyunal es la técnica de referencia considerada como la de oro en el diagnóstico del sobrecrecimiento bacteriano. Se obtiene por intubación del paciente y aspiración en múltiples sitios más allá del ángulo de Treitz. Se mide el volumen del líquido extraído. Se cuentan las bacterias y realiza el cultivo. La prueba es positiva si el conteo de bacterias sobrepasa $> 10^5$ microorganismos/ml, lo normal son $\leq 10^4$ microorganismos/ml. Estos valores se han cuestionado porque los estudios realizados en sujetos controles sugieren que la presencia de $> 10^3$ organismos por ml son sugestivos de sobrecrecimiento bacteriano^(69,74).

Hay que ser cauto cuando se compara el conteo de bacterias con el resultado del cultivo y con respecto a la muestra que solo corresponde a una zona del intestino. Por lo tanto, no siempre representan a la microbiota causante de los síntomas⁽⁷⁶⁾ (Tabla 11).

TABLA 11. Limitaciones de la prueba de aspirado yeyunal, a tener en cuenta a la hora de interpretar los resultados. Estos factores limitantes probablemente sean los responsables de la poca reproducibilidad de los cultivos.	
Factores limitantes del aspirado yeyunal	a. Identificación de bacterias
	b. Especies numerosas
	c. Cultivo difícil
	d. Contaminación orofaríngea
	e. Localización e invasión
	f. Alto coste
	g. Estandarización pendiente

Limitaciones de la prueba del sobrecrecimiento bacteriano que se basa en el estudio del **aspirado yeyunal**

- a. *Muy pocas bacterias pueden ser identificadas.*
- b. *Existen entre 400-500 especies en el intestino delgado.*
- c. *El cultivo de anaerobios es delicado y solo entre el 30 al 40% de las bacterias se pueden cultivar aplicando técnicas de cultivo convencionales.*
- d. *La muestra se puede contaminar con flora orofaríngea (test falso positivo).*
- e. *El sobrecrecimiento bacteriano puede ser parcheado o localizado en sitios inaccesible.*
- f y g. *La sensibilidad y especificidad de la prueba se ve afectada por la malabsorción.*

Además de los problemas metodológicos, tiene un alto coste, es de naturaleza invasiva, hay pérdida de estandarización y necesidad de infraestructura específica. El cultivo yeyunal tiene poca reproducibilidad. La precisión diagnóstica del cultivo en el caso de sobrecrecimiento distal está sin resolver especialmente cuando afecta al íleon^(1,2,66,74).

El aspirado yeyunal se puede obtener durante la endoscopia del tracto digestivo proximal, utilizando un tubo estéril, el aspirado se transfiere a un vial para su transporte anaeróbico. El cultivo se realiza tanto para microorganismos aeróbicos como anaeróbicos.

4.2.5.2 Análisis del genoma bacteriano

La secuenciación del gen 16SrARN contiene regiones hipervariables que pueden proporcionar secuencias específicas muy útiles para la identificación de bacterias. Por lo que la identificación de este gen se ha vuelto prevalente en la microbiología médica. Es una alternativa rápida y económica que identifica bacterias por su fenotipo y ha permitido describir nuevas especies que nunca han podido ser cultivadas⁽⁷⁵⁾.

Es una técnica de secuenciación de alto rendimiento. Se basa en que el gen 16S componente de la unidad 30S de los ribosomas procariontes, es común para todas las bacterias. En la secuencia de nucleótidos tiene regiones constantes y otras variables que permiten caracterizar las bacterias de una comunidad.

El método consiste en extraer el ADN de la muestra, seguido de la ampliación por PCR de la región 16SrARN, a continuación, la secuenciación, análisis bioinformático e interpretación de los resultados ribosomales.

En las heces podemos mediante esta técnica identificar y cuantificar las bacterias residentes en el colon⁽⁷⁵⁾. Otra metodología que cada día se utiliza más en la microbiología clínica es la espectrofotometría de masa (MALDI-TOF), identifica los microorganismos basándose en el perfil proteico. Es un método rápido y fiable.

4.2.5.3 Pruebas no invasiva en el sobrecrecimiento bacteriano: Prueba del aliento con carbohidratos (glucosa y lactulosa)

La prueba de referencia sigue siendo la investigación del aspirado yeyunal, pero por los inconvenientes que tiene esta metodología, la prueba de H₂ y CH₄ son los métodos diagnósticos más utilizados. Las pruebas se basan en el principio que en el metabolismo de un sustrato (glucosa, lactulosa o D-xylosa*¹⁴C) (77), por la flora bacteriana contaminante se producirán unos analitos como H₂, CH₄ y *CO₂ que son absorbidos por la mucosa intestinal y a través del torrente sanguíneo llegan al pulmón donde son excretados en el aliento (Fig. 39). El H₂ y el CH₄ son producidos exclusivamente por las bacterias intestinales principalmente del intestino grueso en sujetos sanos y también por el intestino delgado en el sobrecrecimiento bacteriano. El 80% de estos gases se elimina por el flato y el 20% restante por los pulmones.

En la población caucásica solo el 30-50% producen metano mientras que el 90-98% son productores de H₂^(66,78).

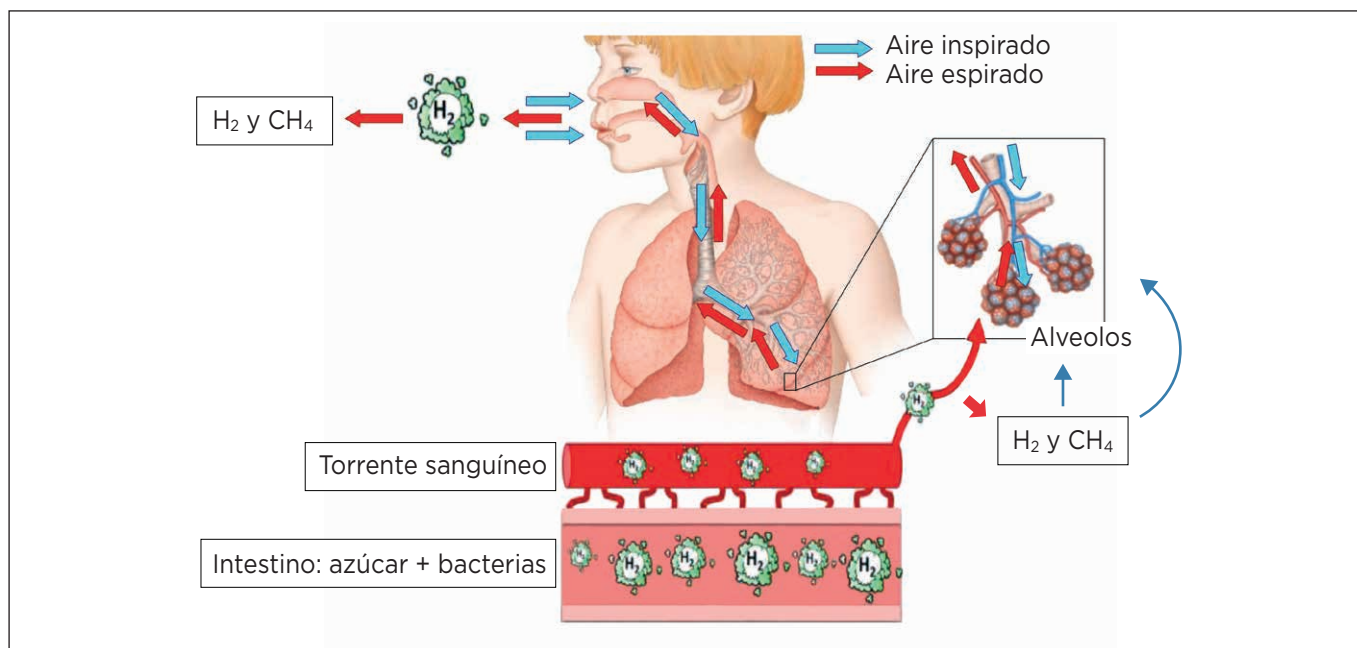


FIGURA 39 En el intestino las bacterias hidrolizan los azúcares liberando H₂ y CH₄ que difunden al torrente sanguíneo, llegan a los pulmones (alvéolos) y se eliminan por el aire espirado.

Los sustratos más frecuentemente utilizados son glucosa y lactulosa. Ambos sustratos han sido muy estudiados^(1,27,66). Ambos azúcares son fermentados por las bacterias del intestino delgado produciendo H₂ y CH₄. La glucosa en condiciones normales se absorbe completamente en el intestino proximal. La lactulosa es un disacárido que no se absorbe y que llega al colon donde es metabolizada por las bacterias^(1,66,74).

Se han hechos estudios comparativos de la prueba del aliento versus cultivo en aspirado duodenal observándose que la glucosa como sustrato tiene una mayor precisión diagnóstica que la lactulosa. Es más específica, aunque menos sensible. El porcentaje de falsos positivos es mayor^(66,74).

4.2.5.3.1 Test del aliento con glucosa

La glucosa en caso de sobrecrecimiento es metabolizada por las bacterias en el lumen del intestino delgado antes de absorberse, produciéndose la liberación de H₂ y CH₄. Ambos gases pasan al torrente circulatorio y se eliminan con el aire espirado, se produce un pico de excreción de H₂ dentro de los 90 minutos después de la sobrecarga con el sustrato. Se han hecho estudios con 50, 75 y 100 g de glucosa. La OMS recomienda 75 g de glucosa en el adulto porque abarata la prueba y es más fácil de conseguir preparados con esta concentración⁽²⁾.

Esta prueba no detecta el sobrecrecimiento distal (Fig. 40, Tabla 12).

Entre el 15-30% de la población en su flora intestinal contiene *Methanobrevibacter smithii* que convierte 4 átomos de hidrogeno en una molécula de metano. No está claro que la producción de metano pueda ser interpretado igual que el H₂⁽⁷⁸⁾.

TABLA 12. Protocolo del test del aliento con glucosa^(1,2).

Sustrato	Glucosa
Dosis	50-75 g/250 ml de agua
Duración	120 minutos
Intervalos de las muestras	15 minutos
Cut-off	12-20 ppm sobre la línea base

Positividad de la prueba

Test positivo si la elevación del H₂ sobre la línea base ≥ 20 ppm e indica sobrecrecimiento. El pico de elevación del H₂ debe estar dentro de los 90 min después de ingerir el sustrato (Fig. 40).

En el consenso de Norteamérica se sugiere que para una concentración de bacterias $\geq 10^3$ o $\geq 10^5$ la prueba es positiva si el incremento del H₂ es ≥ 20 ppm porque la especificidad con este *cut-off* es mayor que con 12 ppm. S= 32 y E= 86 vs S= 78 y E= 78, respectivamente⁽²⁾.

Test positivo para el CH₄: el incremento del CH₄ es ≥ 10 ppm.

Un test negativo no descarta sobrecrecimiento bacteriano en el yeyuno distal y/o colon.

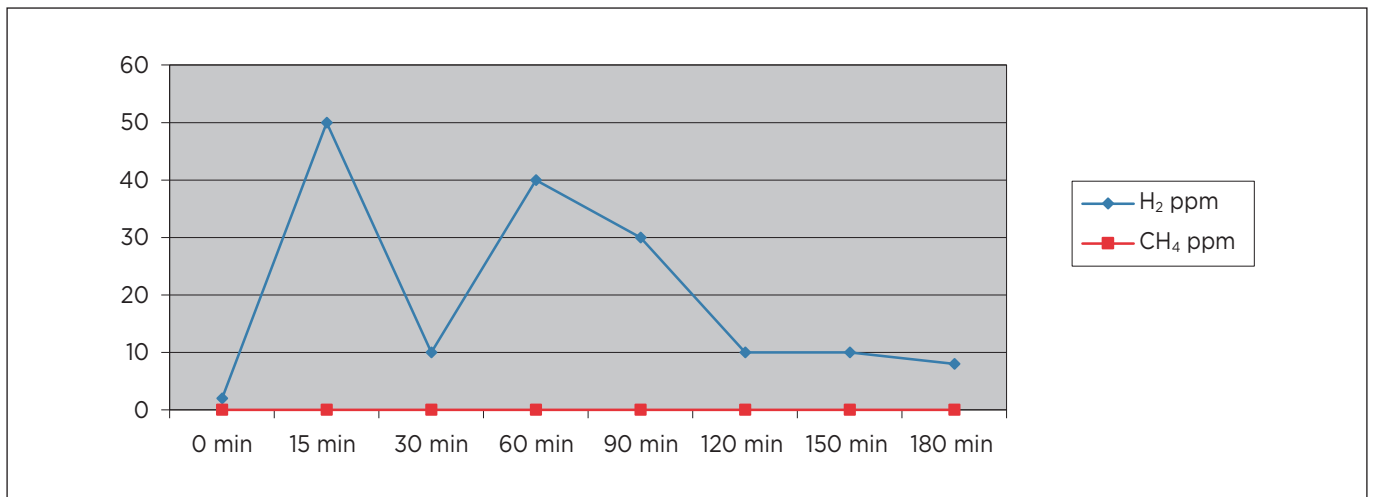


FIGURA 40. Prueba sobrecarga de glucosa. Hay un aumento de los niveles de hidrógeno dentro de los 90 minutos (15 y 60 min), tras la sobrecarga. Sin síntomas. Para detectar mejor la elevación del H₂ las muestras se recolectaron cada 15 minutos hasta los 30 minutos. Diagnóstico sobrecrecimiento bacteriano.

Falso positivo puede ocurrir en un tránsito acelerado.

Falso negativo por vejez o cirrosis, flora no productora de H₂

La sensibilidad varía 20-93% y la especificidad entre 30-86%. El criterio no es uniforme entre los investigadores^(2,79).

Indicaciones de la prueba del aliento con glucosa.

Si se detectan síntomas con predisposición al sobrecrecimiento. No hay conclusiones evidentes de su utilidad en pacientes con síndrome de intestino irritable.

El diagnóstico se confirma si el paciente ha tenido una prueba de glucosa positiva y si al tratarle con antibióticos desaparecen los síntomas. En este caso se puede afirmar que la causa de los síntomas era un sobrecrecimiento bacteriano.

Conclusión: Test positivo es diagnóstico de sobrecrecimiento bacteriano en intestino delgado. Una prueba negativa no descarta esta patología en el intestino distal, la glucosa no llega al yeyuno distal y/o íleon^(2,66).

4.2.5.3.2 Test del aliento con lactulosa

Características de la lactulosa

Es un disacárido sintético cuya molécula está constituida por galactosa y fructosa y se caracteriza por su no absorción por vía digestiva, no existe una enzima que sea capaz de hidrolizarla en las moléculas constituyentes (Fig. 41). Tras su administración se favorece el incremento del bolo fecal por un efecto osmótico y estimula el peristaltismo intestinal. Sus principales indicaciones terapéuticas incluyen el estreñimiento habitual y crónico y el tratamiento y prevención de la encefalopatía portosistémica.

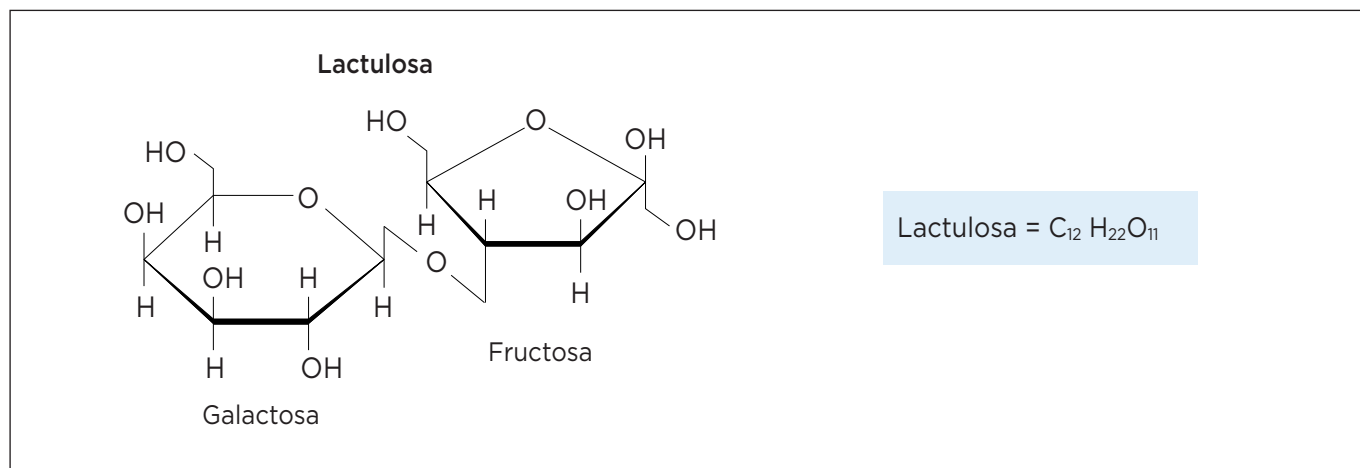


FIGURA 41. Estructura química de la lactulosa.

Propiedades farmacodinámicas de la lactulosa

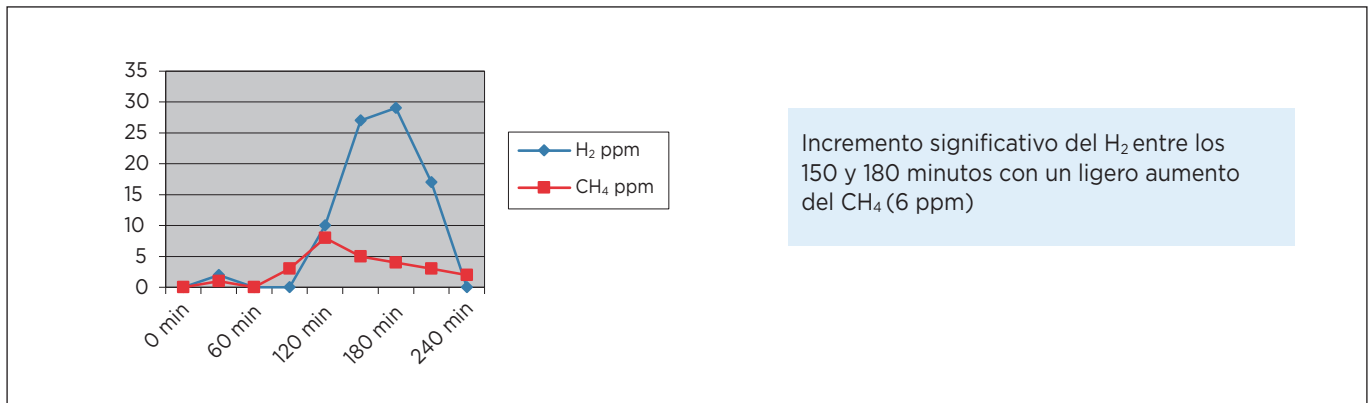
No se absorbe y su efecto se observa a las 24 a 48 horas tras su administración. Tiene un efecto osmótico a nivel del íleon terminal y colon. Por la acción bacteriana forma lactato y otros ácidos orgánicos que se absorben parcialmente, reduce el pH, aumenta la motilidad y secreciones intestinales. Reduce la absorción de amonio, al disminuir su producción, aumentan el consumo por las bacterias (*lactobacillus*) y favorecer su excreción al bajar el pH de las heces.

La metodología de la prueba se describe en la tabla 13^(1,2).

TABLA 13. Protocolo de la prueba con H₂ en el aliento para la lactulosa.

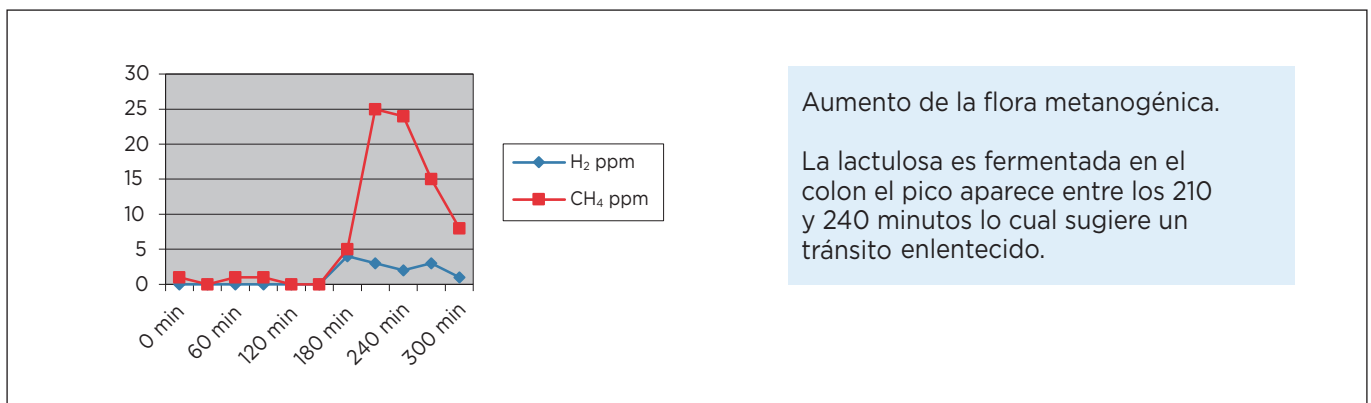
Sustrato	Lactulosa
Dosis	10 g/200 ml de agua <i>Dosis en niños:</i> 0,2 g/kg máximo 10 g
Duración	2-4 horas
Intervalos de las muestras	30 minutos
Cut-off	20 ppm sobre la línea base

Para descartar sobrecrecimiento bacteriano o determinar el tiempo de tránsito, el azúcar idóneo es la lactulosa. No se absorbe a lo largo del intestino y es metabolizada por las bacterias del colon (Figs. 42 y 43).



Incremento significativo del H₂ entre los 150 y 180 minutos con un ligero aumento del CH₄ (6 ppm)

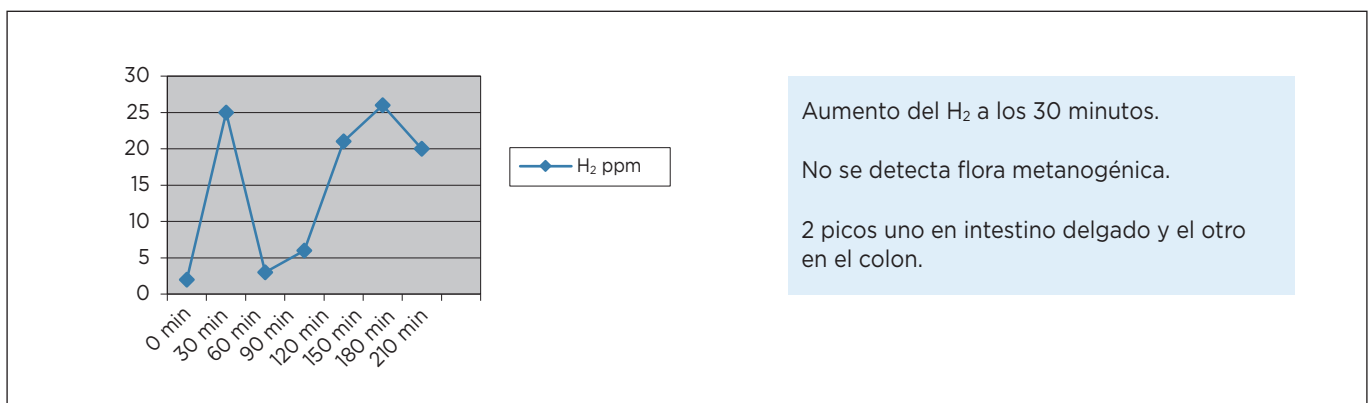
FIGURA 42. Prueba del H₂ espirado con lactulosa. No hay sobrecrecimiento bacteriano.



Aumento de la flora metanogénica. La lactulosa es fermentada en el colon el pico aparece entre los 210 y 240 minutos lo cual sugiere un tránsito enlentecido.

FIGURA 43. Prueba del H₂ y CH₄ espirado con lactulosa. No hay sobrecrecimiento bacteriano. Tránsito enlentecido.

En el sobrecrecimiento bacteriano, se observan dos picos, uno dentro de los 90 minutos y el otro entre las 120 y 180 minutos después de ingerir el sustrato. El primero representa la fermentación de la lactulosa en el intestino delgado. El pico tardío corresponde cuando el sustrato llega al colon (Figs. 44 y 45).



Aumento del H₂ a los 30 minutos. No se detecta flora metanogénica. 2 picos uno en intestino delgado y el otro en el colon.

FIGURA 44. Prueba del H₂ espirado con lactulosa: sobrecrecimiento bacteriano.

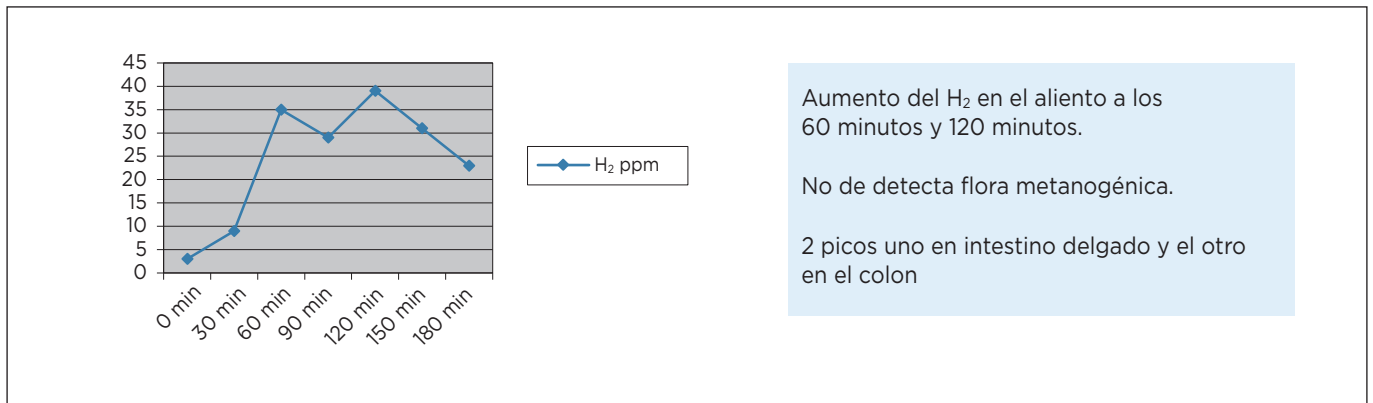


FIGURA 45. Prueba del H₂ espirado con lactulosa. El incremento del H₂ se produce en intestino delgado y colon (con doble pico). Sobrecrecimiento bacteriano.

Criterios para definir la positividad de la prueba con lactulosa

Test positivo si la excreción de H₂ es >20 ppm sobre la línea base o la presencia de doble pico, uno dentro de la hora después de la ingestión del sustrato y el otro cuando el sustrato llega al colon dentro de las 2 o 3 horas, o un aumento precoz del H₂ dentro de los 90 minutos \geq 20 ppm (Figs. 44 a 49). La elevación de CH₄ durante la prueba \geq 3 ppm se considera positivo. La lactulosa acelera el tránsito orocecal, es un agente osmótico. Una prueba positiva no distingue entre el sobrecrecimiento o un tránsito oro-cecal rápido^(1,2,66).

Conclusión: La lactulosa es normalmente metabolizada por las bacterias del colon, sin embargo, pueden aparecer 2 picos en el sobrecrecimiento bacteriano^(1,27). El primero por una elevación precoz del H₂ liberado por la fermentación de los azúcares no absorbidos en el intestino proximal, seguido del segundo por un incremento posterior que se origina en el colon^(2,66). La prueba del H₂ y CH₄ como es fácil de realizar, es una herramienta de elección como cribado y para monitorizar terapias sobre todo en niños y mujeres embarazadas.

Existe un nuevo isótopo estable ¹³C-ureido tiene mayor especificidad y sensibilidad. Los sustratos marcados con isótopos estables por su alto coste no se utilizan como métodos de rutina.

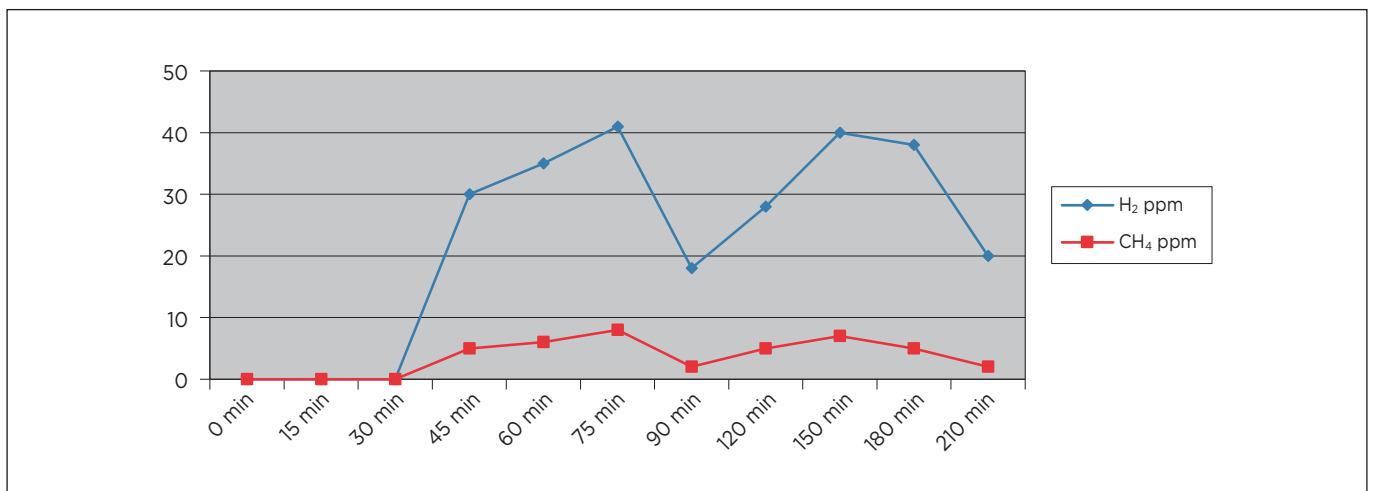


FIGURA 46. Prueba del H₂ y CH₄ espirado con lactulosa. A los 75 min y 150 hay un aumento significativo del H₂ en el aliento. Para visualizar mejor el aumento del H₂, en los primeros 90 minutos, se recogieron muestras del aliento cada 15 minutos. Presencia de flora metanogénica. Diagnóstico: Sobrecrecimiento bacteriano.

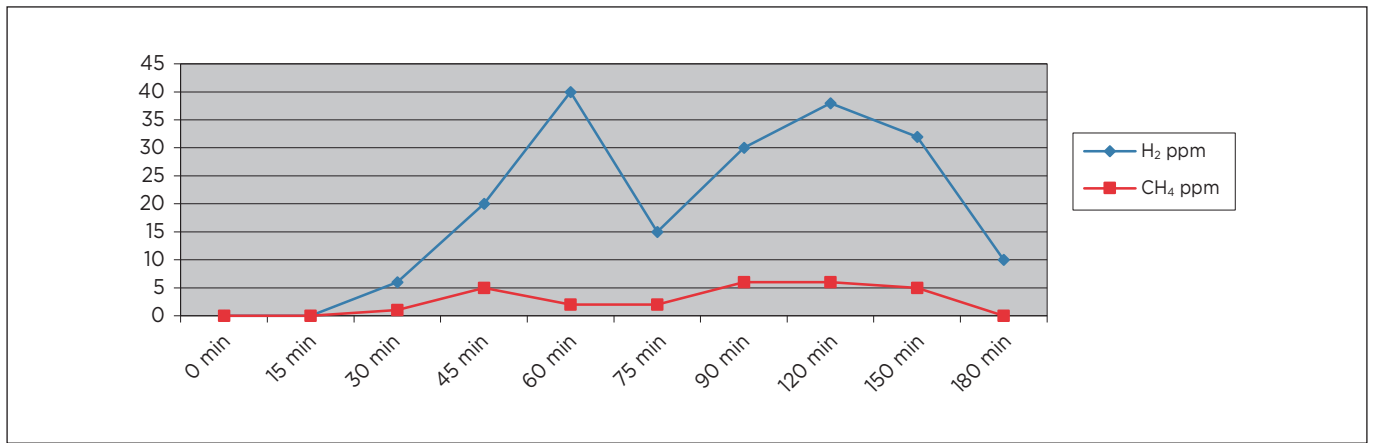
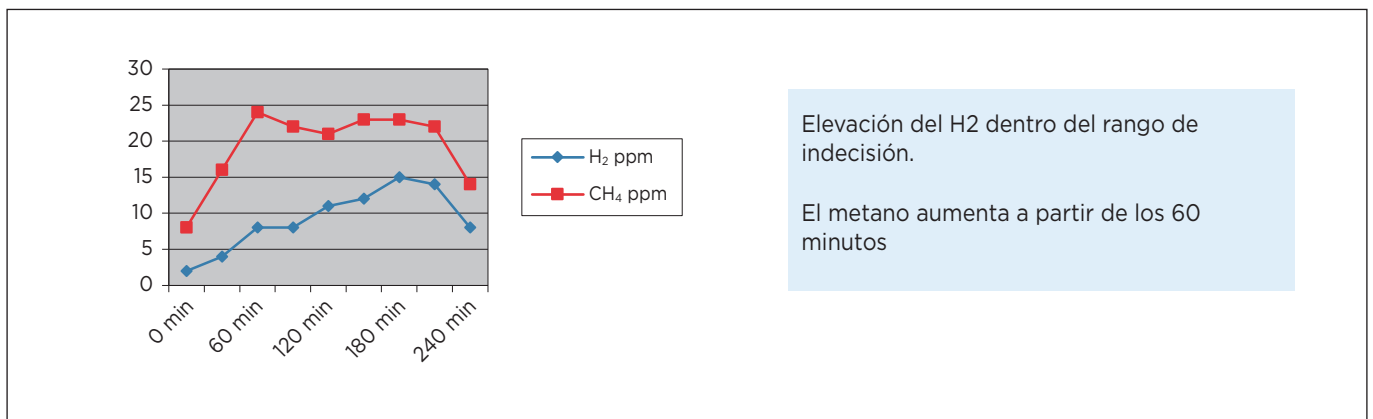
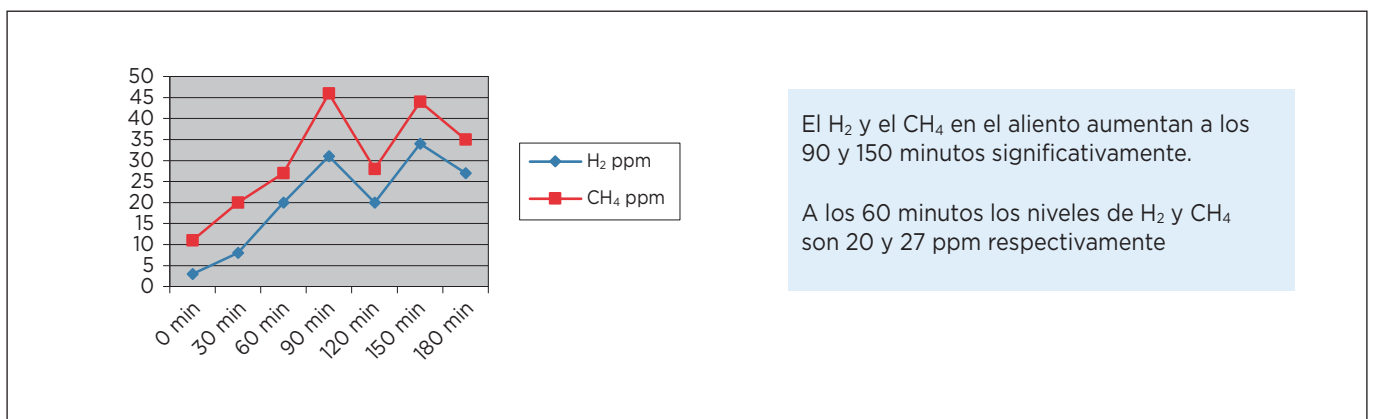


FIGURA 47. Prueba del H₂ y CH₄ espirado con lactulosa. Aparece doble pico. En el primer pico el incremento del H₂ empieza a los 45 minutos y en el segundo a los 90 minutos. Para visualizar mejor el aumento del H₂, en los primeros 90 minutos se recogieron muestras del aliento cada 15 minutos. Presencia de flora metanogénica. Diagnóstico: Sobrecrecimiento bacteriano.



Elevación del H₂ dentro del rango de indecisión.
El metano aumenta a partir de los 60 minutos

FIGURA 48. Prueba del H₂ espirado con lactulosa. Flora metanogénica. Sobrecrecimiento bacteriano.



El H₂ y el CH₄ en el aliento aumentan a los 90 y 150 minutos significativamente.
A los 60 minutos los niveles de H₂ y CH₄ son 20 y 27 ppm respectivamente

FIGURA 49. Prueba del H₂ espirado con lactulosa. Sobrecrecimiento bacteriano por flora mixta.

En la tabla 14 se describe la precisión diagnóstica de la prueba del H₂ realizado con ambos sustratos. La lactulosa es más sensible mientras que la glucosa tiene mejor precisión diagnóstica (DA).

TABLA 14. Precisión diagnóstica ⁽¹⁾ .					
	% SE	%SP	vpp	vpn	DA
Glucosa	62,5	81,8	80,0	65,5	71,7
Lactulosa	52,4	85,7	61,5	53,6	55,1

DA= Diagnostic Accuracy (precisión diagnóstica).

4.2.5.3.3 Preparación del paciente

Para la realización de la prueba del aliento H_2 y CH_4 en el sobrecrecimiento bacteriano tanto para la glucosa como lactulosa.

“Las limitaciones de la prueba se eliminan si la preparación del paciente es adecuada”.

- Debe ingerir la noche anterior a la prueba una cena ligera sin residuos (pan, patatas, fibras).
- Ayuno de 8-12 h. No tabaco ni antes ni durante la prueba.
- No ejercicio. Debe evitarse la hiperventilación 2 horas antes de realizar la prueba y durante la prueba.
- No drogas pro-motilidad o anti-motilidad.
- No antibióticos. No inhibidores de la bomba de protones.
- Para evitar un pico precoz producido por las bacterias de la cavidad oral debería lavarse la boca con un antiséptico.
- Para asegurarse una mayor precisión deben realizarse 2 test consecutivos.
- Se debe informar de los síntomas después de ingerir el sustrato.
- En el sobrecrecimiento bacteriano se puede producir un pico de H_2 , cuando el sustrato llega al intestino delgado distal, que puede ser una dificultad para discriminar el pico de H_2 normal que se produce cuando el sustrato llega al colon.
- El doble pico que genera la lactulosa uno en el intestino delgado y otro cuando llega al colon no se consideran diagnóstico. Pimentel y cols.⁽⁶⁶⁾ sugieren que 20 ppm sobre el basal se debe considerar diagnóstico de sobrecrecimiento bacteriano, teniendo en cuenta que el tiempo de tránsito es alrededor de 90 minutos⁽⁸⁰⁾. Pero en la población asiática el tiempo de tránsito es menor de 90 minutos, en esta población la lactulosa no se debe usar en el diagnóstico de esta patología^(1,2,66). Si es lento el tiempo de tránsito la prueba puede prolongarse más de 5 horas.

La lactulosa como no se absorbe detecta sobrecrecimiento en cualquier parte del intestino, pero en el colon la fermentación es más sensible que específica. Los falsos positivos aumentan en los tratamientos con antibióticos innecesarios. Por la no estandarización de los criterios y la baja precisión diagnóstica se ha desestimado su uso. Pero es una herramienta diagnóstica y sobre todo en el seguimiento de los efectos del tratamiento en las dispepsias funcionales^(81,82).

En las tablas 15 y 16 se describen las limitaciones de la prueba.

TABLA 15. Factores que interfieren en la prueba H_2 con lactulosa.

- Las enfermedades pulmonares interfieren en la interpretación de los resultados.
- Un resultado *Falso positivo* se puede interpretar en el síndrome del intestino corto por la rapidez con que el sustrato llega al colon.

Resultados *Falsos negativos* se producen entre el 30-40% de los pacientes con una cantidad de microorganismos anaeróbico muy bajo.

4.2.5.3.4 Recomendaciones de la prueba del H₂ y CH₄

Las recomendaciones de la prueba del H₂ y CH₄ para ambos sustratos se describen en la tabla 16.

TABLA 16. Factores que alteran la prueba del aliento (glucosa y lactulosa), en el sobrecrecimiento bacteriano.

• Dosis y forma de administrar el sustrato
• Ayuno insuficiente
• La presencia de vómitos
• Exceso de carbohidratos ingeridos la víspera
• Ingestión de algún alimento durante la realización de la prueba
• Sobrecarga de fibra en la dieta previa (falsos negativos)
• Flora intestinal
• Cambio de pH
• Diarrea
• Factores respiratorios
• Sueño
• Condiciones ambientales

- **Flora intestinal.** Es flora no productora de H₂, o está disminuida por el empleo de antibióticos orales, el empleo de enemas para limpieza del colon, influencia de la flora orofaríngea y la manipulación o intervención a nivel colónico (cirugía abdominal).
- **Cambio de pH en el lumen intestinal (pH ácido).**
- **Diarrea.** Alteraciones de la motilidad intestinal. La aceleración del tránsito reduce el tiempo de fermentación bacteriana. La hipomotilidad gástrica o intestinal retrasa la llegada del azúcar al colon en el periodo de la prueba (medicación gastroquinética). El tránsito es lento. La hipermotilidad reduce el tiempo de contacto del contenido intraluminal con la mucosa, el colon recibe más líquido del que puede absorber. Debido a ello, se produce un vaciamiento prematuro del colon por la alteración del contenido, irritabilidad o inflamación de la mucosa.
- **Factores respiratorios.** El llanto del niño puede diluir la tasa de H₂ (falsos negativos), hay cambios en la ventilación pulmonar.
- **Sueño.** El sueño concentra la excreción de H₂.
- **Condiciones ambientales del laboratorio** como humedad y humo de tabaco alteran los resultados.

La síntesis de metano por las bacterias es diferente a la del H₂ por lo tanto su producción durante el sobrecrecimiento bacteriano no puede ser interpretada igual que el H₂⁽⁸³⁾.

4.2.6 Recomendaciones generales en el sobrecrecimiento bacteriano

Es necesario encontrar una prueba de referencia para esta patología. La concentración de bacterias en aspirado yeyunal sigue siendo estándar de oro. El aspirado yeyunal y cultivo son de naturaleza invasiva, no están estandarizados, necesitan infraestructuras y sus costes son altos.

Las pruebas del aliento para sobrecrecimiento bacteriano deberían ser incluidas en el diagnóstico diferencial de los pacientes que presentan dolor abdominal, borborigmo, diarrea y pérdida de peso u otros estigmas de malabsorción.

Tanto el H₂ como el CH₄, son liberados por las bacterias en el intestino grueso en los sujetos sanos y en el intestino delgado en los pacientes con sobrecrecimiento bacteriano.

Combinados con determinaciones seriadas de xilosa, estas pruebas pueden servir para monitorizar los tratamientos. La combinación H₂/¹³CO₂ es más sensible que uno solo. La medida del metano mejora la precisión de la prueba H₂ ^(40,78).

La prueba del H₂ se puede hacer también con alimentos sólidos. La duración de la prueba son 8 horas, debido a que el tránsito oroceal es más lento que con líquidos.

Las pruebas del aliento que utilizan H₂, ¹⁴CO₂ o ¹³CO₂ ^(32,33), son útiles en el diagnóstico de carbohidratos específicos (lactosa, fructosa, sacarosa, etc.).

Los resultados falsos negativos pueden ser de un 2-9% por flora no productora de H₂ ^(1,66).

Se ha intentado realizar la prueba con solo dos muestras, la basal y a los 120 minutos. Pero no ha habido uniformidad de criterios.

Es importante resaltar que el aumento de la concentración H₂ para el diagnóstico en anomalías, es generalmente mayor si la fermentación del sustrato se produce en el colon y no en el intestino delgado por esa razón se ha marcado un *cut-off* de 20 ppm en la malabsorción de azúcares (lactosa, fructosa, sacarosa), en contraste con el sobrecrecimiento bacteriano en el intestino delgado, en el cual se ha marcado el *cut-off* de 12 ppm sobre el basal, aunque no hay uniformidad de criterio aún^(1,2).

4.2.7 Asociación con otras enfermedades

Las manifestaciones clínicas dependen de la severidad de la enfermedad, así como de las causas subyacentes responsables del sobrecrecimiento (derivación yeyuno-ileal o síndrome de intestino corto). Los pacientes afectados pueden estar asintomáticos o tener uno o más síntomas: gases, disconfort abdominal, diarrea acuosa, dispepsia y pérdida de peso o fallo para ganar peso en el niño.

Fialho y cols.⁽⁸⁴⁾ sugieren que los lipopolisacáridos (LPS) y las metilaminas (TMA) producidas por las bacterias en el intestino en el sobrecrecimiento (la TMA es oxidada en el hígado) favorecen la formación de ateromas en las arterias (Fig. 50).

Se sospecha que existe una relación entre la enfermedad de las arterias coronarias y los productos metabólicos de las bacterias intestinales. Durante el sobrecrecimiento bacteriano (SIBO), se produce una alteración de la permeabilidad de la pared intestinal que permite la entrada al torrente circulatorio de metabolitos bacterianos inflamatorios y pro-aterogénicos como los lipopolisacáridos (LPS) y óxido de N-trimetilamina (TMAO). Estos autores recomiendan descartar sobrecrecimiento bacteriano mediante la prueba del H₂ en estos pacientes⁽⁸⁴⁾.

La prueba del H₂ es una herramienta diagnóstica en la dispepsia intestinal. La dispepsia funcional es un desorden común, existe una interacción cerebro-intestino con una fisiopatología que aún no se comprende. La prueba del H₂ con lactulosa no solo discrimina la dispepsia funcional de la enfermedad inflamatoria y HV, sino que también, es una herramienta diagnóstica y sobre todo en el seguimiento de los efectos del tratamiento^(81,82).

En pacientes con el síndrome del intestino irritable es controvertido el papel que juegan las bacterias en la patogénesis de la enfermedad. La prevalencia del sobre-desarrollo en estos pacientes es más bien baja. Hasta ahora no ha sido posible encontrar claramente una correlación entre el sobrecrecimiento y el síndrome del intestino irritable por lo que la prueba del H₂ no está recomendado⁽⁸⁵⁻⁸⁷⁾.

El sobrecrecimiento también puede estar implicado en la patogénesis asociada a la rosácea⁽⁸⁸⁾. Los pacientes con fibrosis quística (FQ) tienen más riesgo de padecer el sobrecrecimiento bacteriano porque la motilidad intestinal está disminuida, la flora bacteriana está alterada por el uso continuo de antibióticos y de agentes supresores del ácido en el estómago. El defecto del CFTR contribuye a la disbiosis (Ver Fig. 36), tanto en el

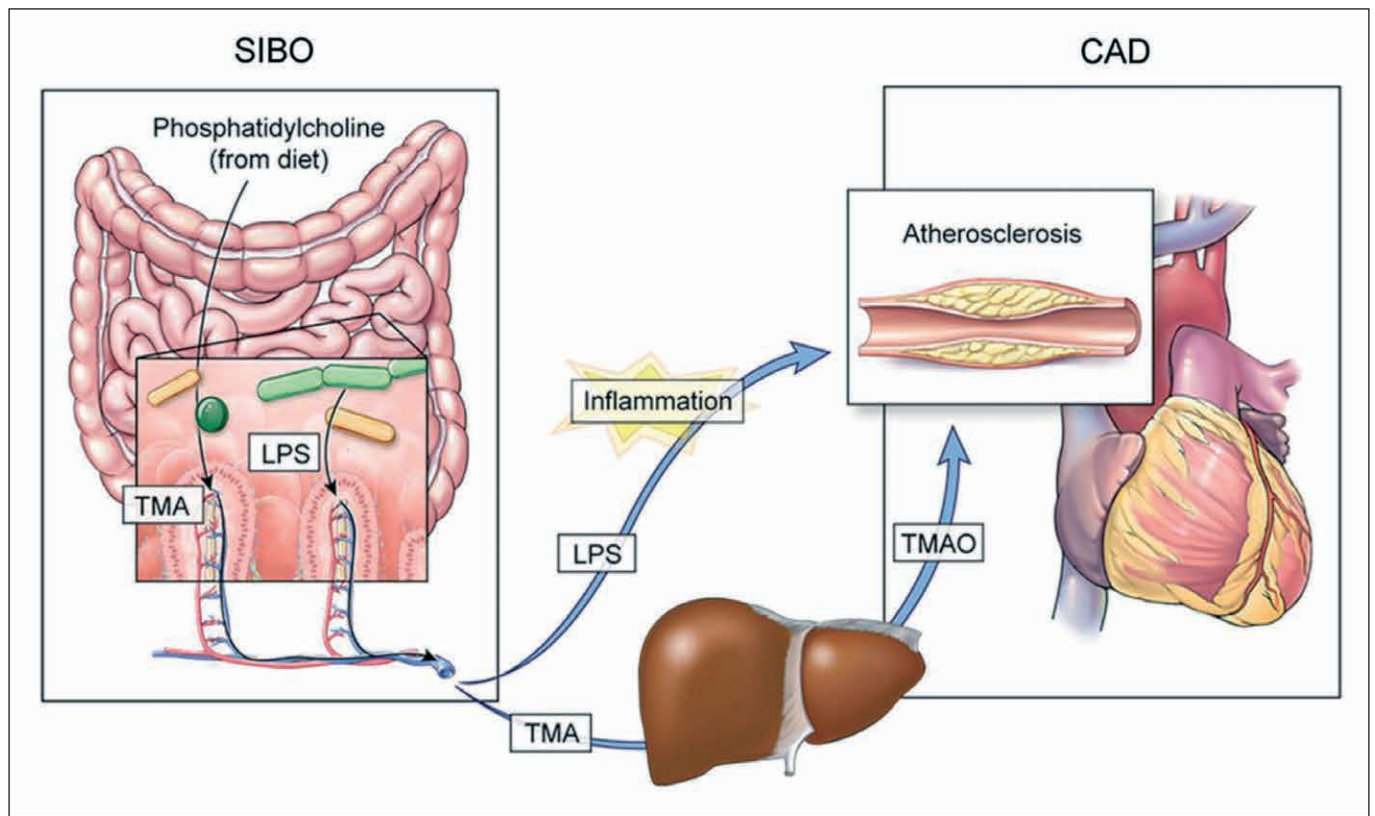


FIGURA 50. Los lipopolisacáridos (LPS) y las metilaminas oxidadas (TMAO), contribuyen a la formación de ateromas. (Fuente: Fialho A, et al. 2018)⁽⁸⁴⁾.

tracto gastrointestinal como en el pulmón. Los falsos positivos de la prueba del H₂ en la FQ se deben a la malnutrición y dismotilidad. En estos pacientes el significado clínico de una prueba de H₂ anormal no está claro.

El sobrecrecimiento bacteriano, también se ha asociado a la dismotilidad y a la insuficiencia pancreática (pancreatitis crónica), en esta última se ha encontrado en el 40% de los pacientes^(66,88).

4.2.8 Sugerencias prácticas

Confirmar el diagnóstico antes de iniciar el tratamiento con antibióticos.

Aumentar la sensibilidad de la prueba cuantificando el H₂ y el CH₄.

Dejar como último recurso el cultivo o tratamiento empírico con antibióticos.

Esta patología va a estar siempre presente en pacientes en los que falla la barrera gástrica (gastritis atróficas), o la válvula ileocecal (cirugía).

4.2.9 Tratamiento

La terapia es compleja e individualizada, hay que tratar las enfermedades subyacentes, administrar un soporte nutricional corrigiendo déficit (vitaminas, oligoelementos, minerales...) y/o un tratamiento cíclico con antibióticos selectivos. La mayor experiencia se tiene con la rifaximina con buena actividad bactericida y baja absorción intestinal^(66,88).

Los prebióticos y probióticos refuerzan la función de la barrera intestinal, inhiben a numerosos patógenos, modifican la respuesta inflamatoria del intestino grueso y reducen la hipersensibilidad visceral, aunque no se recomiendan para un uso clínico general. Si el sobrecrecimiento es secundario a un estasis intestinal por defecto de motilidad estaría indicado administrar un procinético. En pacientes con riesgo de D-láctico acidosis está contraindicado el *lactobacillus* como probiótico.

Mejorar la absorción de los principios inmediatos como las grasas, proteínas y almidón mediante tratamiento con enzimas pancreáticas necesarias para la digestión.

En cualquier caso, el tratamiento con antibióticos debe estar individualizado, teniendo en cuenta el tipo de infección, duración del tratamiento, resistencia y coste. En el sobrecrecimiento recurrente los antibióticos se deben rotar para prevenir la aparición de resistencias.

5. Indicaciones de la prueba del H₂

Las indicaciones de la prueba del H₂ se muestran en la tabla 17.

TABLA 17. Pruebas del H₂ y CH₄ usadas en la práctica clínica.

Test del H ₂	Diagnóstico de la malabsorción intestinal de hidratos de carbono
Test del H ₂ con lactosa	Para el seguimiento del tratamiento sustitutivo de la enzima lactasa; en exámenes epidemiológicos de hipolactasia
Test del H ₂ con sacarosa	Sospecha de deficiencia de las enzimas sacarasa-isomaltosa o intolerancia a la sacarosa
Test del H ₂ con otros polícarbohidratos y monosacáridos	Estudio del metabolismo de la fibra de la dieta en el colón.
Test del H ₂ para el diagnóstico del sobrecrecimiento bacteriano	Para comprobar la efectividad de los antibióticos utilizados en el sobrecrecimiento bacteriano.
Test del H ₂ para la determinación de la motilidad gastrointestinal (tiempo de tránsito oro-cecal)	

Indicaciones clínicas: Malabsorción de hidratos de carbonos (azúcares)

Sobredesarrollo bacteriano: Sustrato recomendado glucosa

Fructosa y sorbitol: Test no recomendado en la práctica clínica

Tránsito oro-cecal: Desde el punto de vista clínico la prueba no está indicada

6. Recomendaciones de la prueba del H₂ y CH₄ espirado

Las recomendaciones generales se describen en la tabla 18.

TABLA 18. Recomendaciones de la prueba del H₂ y CH₄ espirado

Apoyándonos en los grupos de expertos^(1,2) y en nuestra experiencia, la prueba del H₂ en el aliento tendrá utilidad diagnóstica si se cumplen las siguientes recomendaciones.

Preparación del paciente	Muy importante para evitar falsos resultados.
Sustrato y dosis adecuada	Según la sospecha clínica.
Instrumentos	Los instrumentos no portátiles tienen muy buena precisión.
Recogida de muestra	Bolsas o tubos Haldane-Priestly.
Pacientes pediátricos	Mascarilla facial y un detector automático de la fase final del aire espirado.
Pacientes colaboradores	Inspiración máxima seguida de un período de apnea de 15 segundos y espiración lenta y prolongada.
Almacenaje	La muestra es estable 6 horas a temperatura ambiente. Si se retrasa la medida conservar a -20°C.
Interferencias	Antibióticos, enemas, laxantes, cigarro, hiperventilación y flora orofaríngea
Cantidad de sustrato	Está estandarizada con 50 g de sustrato, pero es más fisiológico 25 g en solución acuosa al 10%. Sobrecrecimiento bacteriano: glucosa 50-75 g en 250 ml de agua. En los niños es 1 g/kg de peso máximo 25 g. Solución acuosa al 10%.
Recogida de muestra	Cada 30 minutos durante 240 minutos.
Sobrecrecimiento bacteriano	Cada 15-30 minutos durante 120 minutos, para la glucosa, y 180 o más para la lactulosa.
Cut-off	Para la lactosa son 20 ppm sobre la línea basal. En el sobrecrecimiento bacteriano se ha estimado 12 ppm.

7. Tránsito oro-cecal

La técnica se basa en la observación de que cuando el hidrato de carbono no absorbido, es fermentado por las bacterias del colon se produce un aumento de la excreción del H_2 en el aliento. Por lo tanto, el tiempo que transcurre entre la ingestión de un sustrato no absorbible como la lactulosa y la elevación del H_2 representa el tiempo del tránsito en el intestino delgado (Figs. 51 y 52). Hay una relación inversa entre el tiempo de tránsito y la lactulosa ingerida. No se ha encontrado una correlación significativa con el método radiológico cuando se utiliza como sobrecarga un desayuno normal. Una de las dificultades en valorar este tiempo es el considerable contenido de bacterias del íleon terminal causantes de la elevación prematura del H_2 en el aliento^(1,2,78,89). La lactulosa acorta el tiempo de tránsito, tiene poca reproducibilidad y amplia variación entre sujetos sanos⁽¹⁾. Se ha sugerido la inulina que es menos osmóticamente activa como sustrato alternativo a la lactulosa^(1,2).

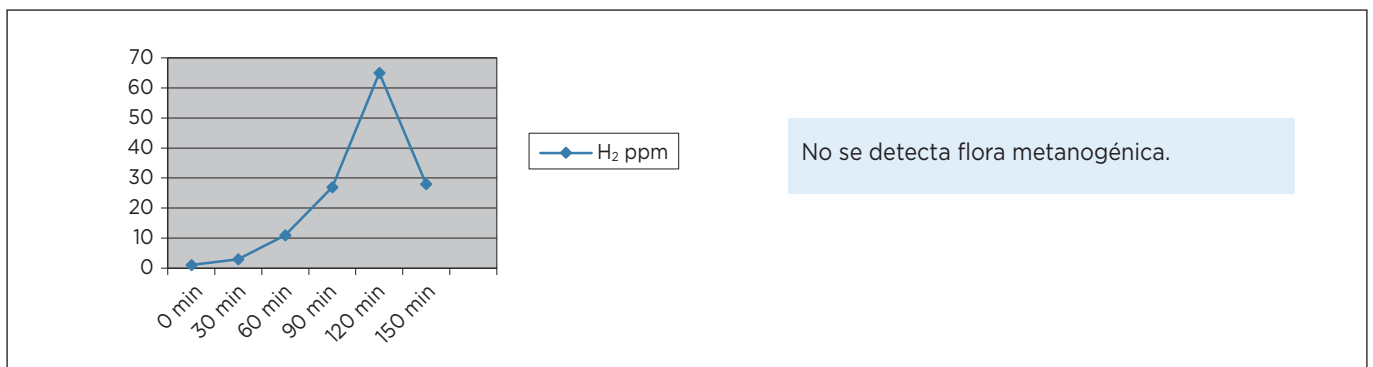


FIGURA 51. Prueba del H_2 en el aliento con lactulosa. Tiempo de tránsito normal.

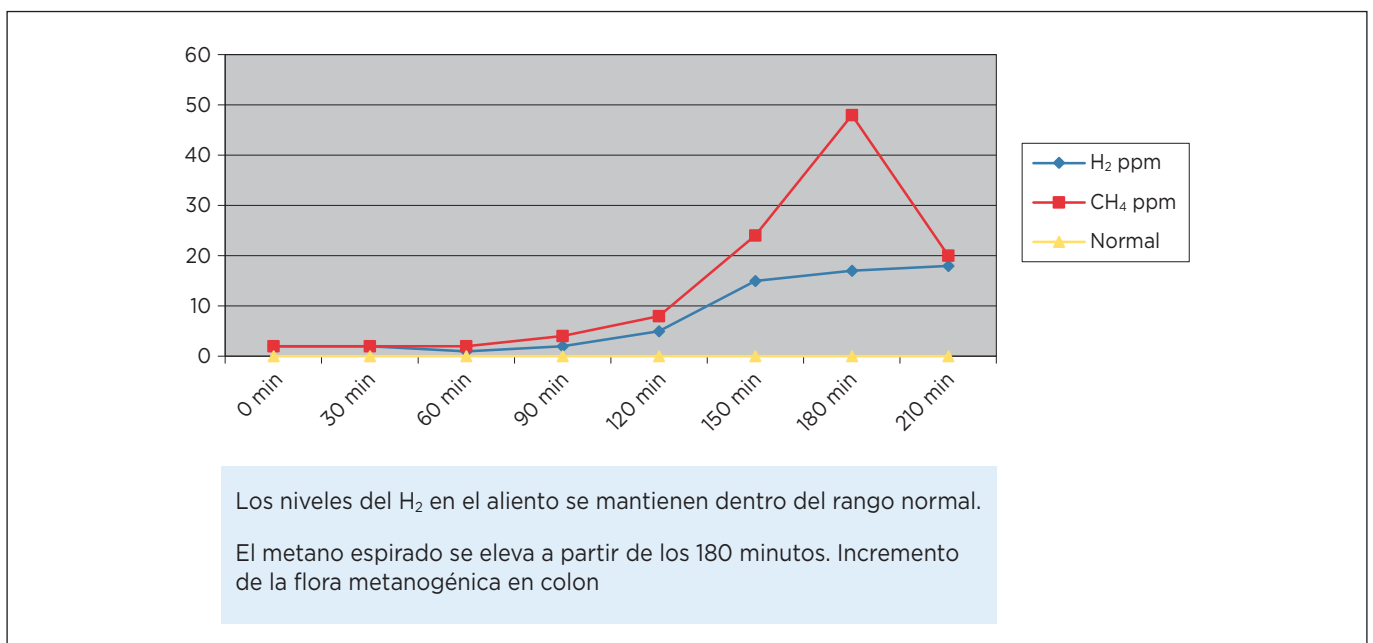


FIGURA 52. Prueba del H_2 y CH_4 en el aliento con lactulosa. Incremento de la flora metanogénica en colon. Tiempo de tránsito normal.

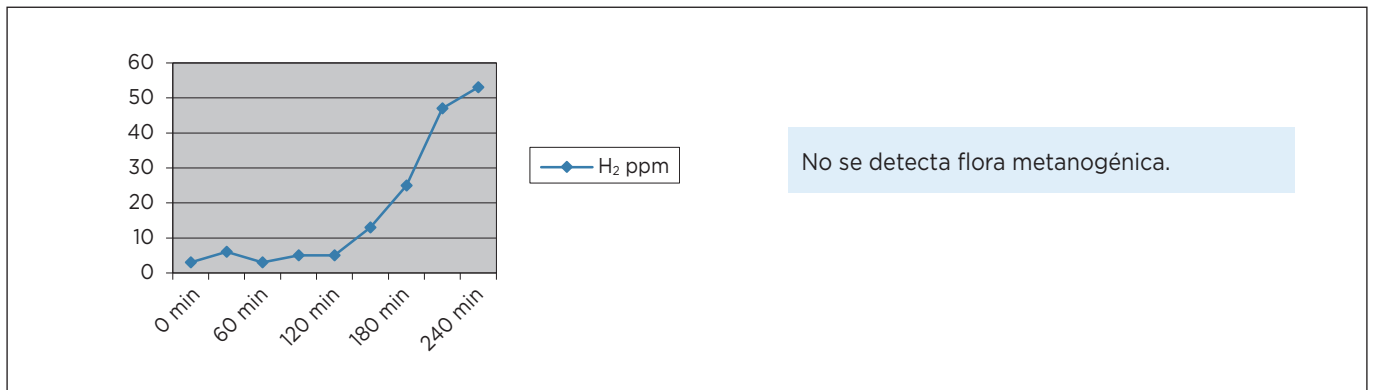


FIGURA 53. Prueba del H₂ y CH₄ en el aliento con lactulosa. El incremento del H₂ a partir de los 150 minutos sugiere un tránsito enlentecido.

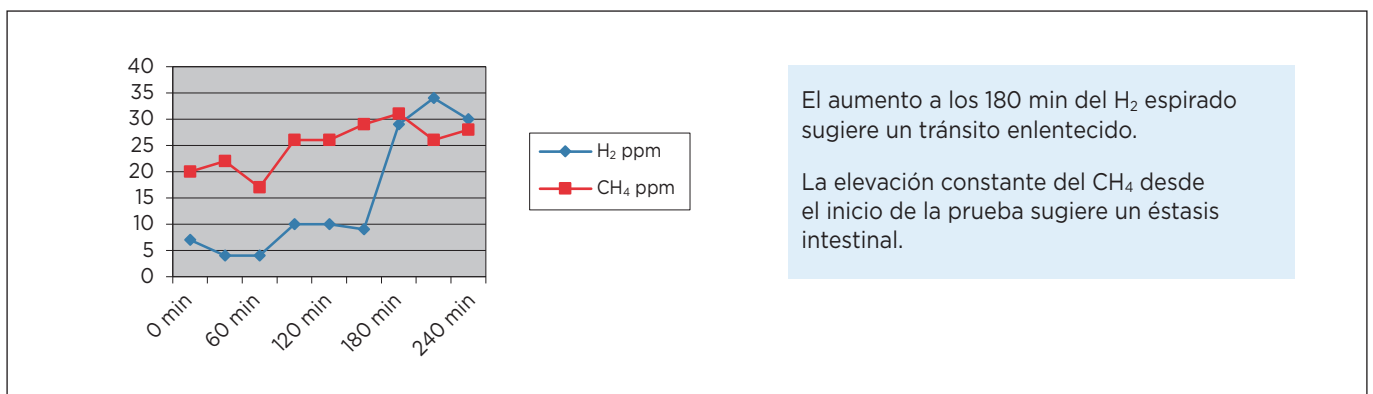


FIGURA 54. Prueba del H₂ y CH₄ en el aliento con lactulosa. Estos resultados sugieren un tránsito enlentecido y un éstasis intestinal.

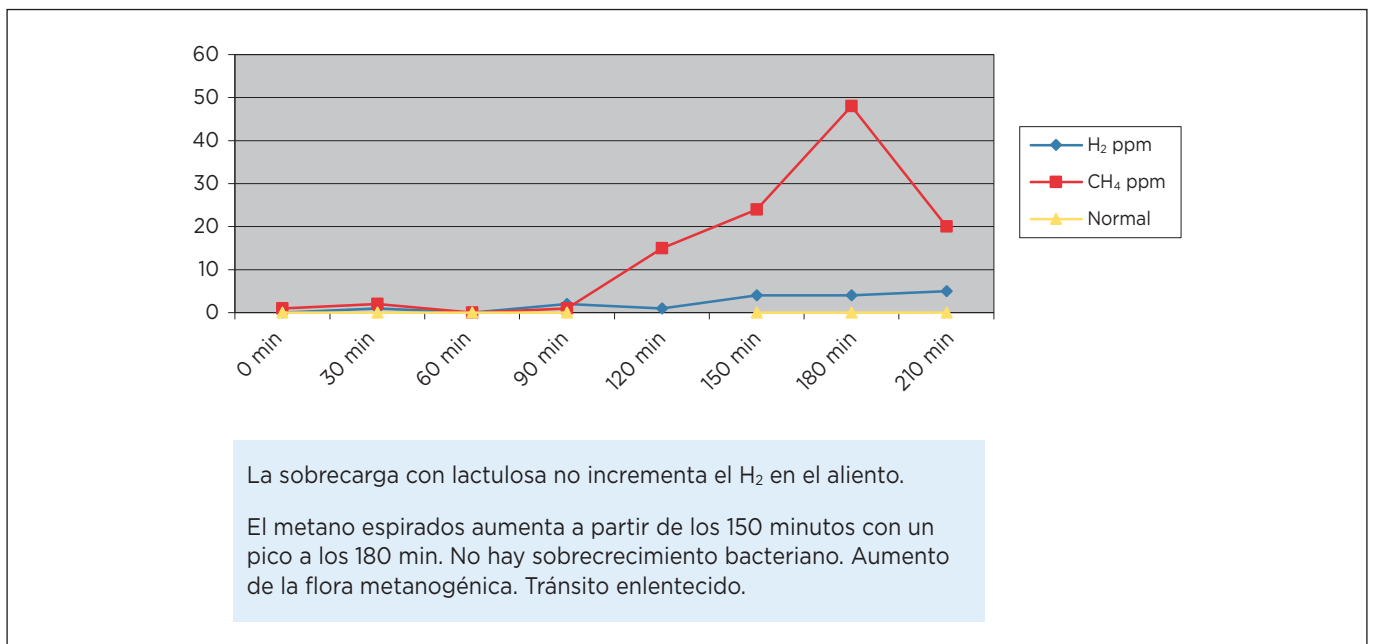


FIGURA 55. Prueba del H₂ y CH₄ en el aliento con lactulosa. Tránsito enlentecido. Aumento de la flora metanogénica en colon.

Sobrecarga con lactulosa: duración de 4 horas con recogida de muestra cada 30 minutos. Test positivo concentración de $H_2 > 75$ ppm y/o de $CH_4 > 45$ ppm respecto al basal. Si el incremento mayor de los gases aparece después de los 280 min se considera retraso en el tiempo de tránsito⁽⁸⁹⁾ (Figs. 53, 54 y 55).

A pesar de la simplicidad, no invasividad y seguridad de la prueba, su aplicación para valorar el tránsito oro-cecal es limitada^(1,2,89).

No tiene aplicación clínica definitiva por la amplia variación de los resultados en la población, una de las causas son los no productores de H_2 (entre el 5-27% de los sujetos sanos), otra es la pobre reproducibilidad de la prueba con los alimentos líquidos^(1,2,66,89).

8. Bibliografía

1. Gasbarrini A, Corazza G, Gasbarrini G, et al. Methodology and indications of H₂ - breath testing in gastroenterology diseases: The Rome Consensus Conference. *Aliment Pharmacol Ther.* 2009; 29 (suppl.1): 1-49.
2. Rezaie A, Buresi M, Lembo A, et al. Hydrogen and methane based breath testing in gastrointestinal disorders: The North American Consensus. *Am J gastroenterol* 2017; 112: 775-84.
3. Steggerda F, Dimmick J. Effect de bean diets on concentration of carbon dioxide in flatus. *Am J Clin Nutr.* 1966; 19: 120-4.
4. Calloway D, Calasito D, Mathew R. Gases produced by human intestinal flora. *Nature.* 1966; 212: 1238-9.
5. Koetse H, Vonk R, Pasterkamp S, et al. Variations in colonic H₂ and CO₂ production as a cause of inadequate diagnosis of carbohydrate maldigestion in breath test. *Scand J Gastroenterol.* 2000; 35: 607-11.
6. Levitt M. Production and excretion of hydrogen gas in man. *N Engl J Med.* 1969; 281: 122-7.
7. Levitt M, Donaldson R. Use of respiratory hydrogen (H₂) excretion to detect carbohydrate malabsorption. *J Lab Clin Med.* 1970; 75: 937-45.
8. Newcomer A, McGill B, Thomas P, et al. Prospective comparison of indirect methods for detecting lactose deficiency. *N Engl Med.* 1975; 293: 1232-6.
9. Perman J. Sucrose malabsorption in children. Non invasive diagnosis by interval breath hydrogen determination. *J Pediatr.* 1978; 93: 17-22.
10. Ravich V, Bayless T, Thomas M. Fructose: incomplete intestinal absorption in humans. *Gastroenterology.* 1983; 84: 26-9.
11. Gudmand-Hoyer E, Krasilnikoff P, Slovbjerg H. Sucrose-isomaltose malabsorption. *Adv Nutr Res.* 1984; 6: 233-69.
12. Domínguez-Jiménez J, Fernández A, Ruiz S, et al. Test de tolerancia a la lactosa reducido a 30 minutos: un estudio exploratorio de su facilidad e impacto. *Rev Esp Enferm Dig.* 2014; 106: 381-5
13. Levitt M, Ellis C, Furne J. Influence of method of alveolar air collection on results of breath test. *Dig Dis Sci.* 1998; 43: 1938-45.
14. Yang J, D'Fox M, Chu H, et al. Four-sample lactose hydrogen breath test for diagnosis of lactose malabsorption in irritable bowel syndrome patients with diarrhea. *World J Gastroenterol.* 2015; 21: 7563-70.
15. Casellas F, Malagelada J. Applicability of short hydrogen breath test for scanning of lactose malabsorption. *Dig Dis Sci.* 2003; 48: 1333-8.
16. Ghoshal UC. How to interpret Hydrogen breath test. *J Neurogastroenterol Motil.* 2011; 17: 312-7.
17. Álvarez M, Miquel JF, Ibáñez P. Intolerancia a la lactosa. En: *Enfermedades del colon e intestino.* 2007.
18. Fleming S. Evaluación del monitor portátil de hidrógeno en el diagnóstico de la deficiencia de lactosa. *Ann Clin Biochem.* 1990; 27: 499-500.
19. Corazza G, Sorge M, Maurino E, et al. Methodology of breaths test. Collection and storages for gas measurement. *J Gastroenterol.* 1990; 22: 200-4.
20. Vogelsang H, Ferenci P, Frotz S, et al. 5-Acidic colonic microclimate-possible reason for false negative hydrogen breath test. *Gut.* 1988; 29: 21-6.
21. Petschow B, Doré J, Hibberd P, et al. Probiots, prebiots and the host microbiome: The science of translation. *Am N Y Acad Sci.* 2013; 1306: 1-17.
22. Quigley E. and Quera R. Small intestinal bacterial overgrowth: Roles of antibiotics, prebiotics and probiotics. *Gastroenterology.* 2006; 30 (suppl 2): 578-90.
23. Rosenthal A, Solomons N. Time course of cigarette smoke contamination of clinical hydrogen breath test analysis test. *Clin Chem.* 1983; 29: 1980-1.
24. Payne D, Welsh J, Claypool P. Breath hydrogen response to carbohydrate malabsorption after exercise. *J Lab Clin Med.* 1983; 102: 147-150.
25. Infante D, Peña L, Sierra S. Intolerancia a la lactosa. *Act Pediatr Esp.* 2015; 73: 249-58.
26. Sahakian A, Jeess S, Pimentel M. Methane and gastrointestinal tract. *Dig Dis Sci.* 2010; 55: 2135-43.
27. Saad R, Chey W. Breath testing for small intestinal bacterial overgrowth. Maximizing test accuracy. *Clin Gastroenterol Hepatol.* 2014; 12: 1964-72.

28. De Lacy Castello B, Ledochowski M, Ratcliffe N. The importance of methane breath testing: a review. *J Breath Res.* 2013; 7: 024001.
29. Kalham S. Microbial fermentation of starch: Its impact on the range of acceptable carbohydrate intake. *JPNG.* 2018; 66: S42-5.
30. Codoceo R. Azúcares. En: *Gastroenterología. Pruebas básicas del diagnóstico.* Madrid: Ed AEBC; 1991. p. 95-196.
31. Codoceo R, Fernández Calle P, Tenias JM, et al. Oligodisacaridasas: cuantificación e implicaciones fisiopatológicas en la absorción de azúcares. *Química Clínica.* 1990; 9: 389-412.
32. Prieto G, Miralles T, Carrasco S, et al. Deficit primitivo de sacarosa-isomaltasa observaciones en 20 años. *An Esp Pediatr.* 1990; 3: 317-20.
33. Babu J, Kumar C, Babul P, et al. Frequency of lactose malabsorption among healthy southern and northern indian population by genetic analysis and lactose hydrogen breath test and tolerance test. *Am J Clin Nutr.* 2009; 91: 140-6.
34. Bond J, Levitt M. Use of breath hydrogen (H₂) in the study of carbohydrate absorption. *Am J Dig Dis.* 1977; 22: 379.
35. Di Stefano M, Veneto G, Malservisi A, et al. Lactose malabsorption and intolerance in the elderly. *Scand J Gastroenterol.* 2001; 12: 1274-8.
36. Codoceo R, Ariza MJ, Sarrión MD, et al. Análisis macro y microscópico de las heces y métodos de cribaje de orientación diagnóstica. En: Codoceo R, Ariza MJ, Sarrión MD, Lezana JM (editores). *Atlas de Coprología.* Madrid: Ergon; 2013. p. 93-8.
37. Domínguez Jiménez J, Fernández Suárez A. Can we shorten the lactose tolerance test? *Eur J Clin Nutr.* 2014; 68: 106-8.
38. Van Rossum H, Van Rossum, Van Geenen E, et al. The one-hour lactose tolerance test. *Clin Chem Lab Med.* 2013; 51: 201-3.
39. Domínguez Jiménez J, Fernández Suárez A. Correlation between capillary and venous blood glucose in the lactose tolerance test. *Dig Dis Sci.* 2016; 61: 208-14.
40. Vonk R, Stellaard F, Priebe M, et al. The ¹³C/H₂ glucose test for determination of small intestinal lactase activity. *Eur J Clin Invest.* 2001; 31: 226-33.
41. D'Angelo G, Di Rienzo T, Del Zompo F, et al. Thricks for interpreting and making a good report on hydrogen and ¹³C breath tests. *Eur Rev Med Pharmacol Sci.* 2013; 17 (suppl 2): 90-8.
42. Enattah N, Sahi T, Savilahti E, et al. Identification of a variant associated with adult-type hypolactasia. *Nat Genet.* 2002; 30: 233-7.
43. Krawczyk M, Wolska M, Schwartz S, et al. Concordance of genetic and breath test for lactose intolerance in a tertiary referral centre. *J Gastrointestin Liver Dis.* 2008; 17: 135-9.
44. Campuzano G. Prueba del aliento basada en el H₂. *Medicina & Laboratorio.* 2009; 15: 431-456.
45. Rollan A, Vial C, Quesada S, et al. Diagnóstico e intolerancia a la lactosa en adulto: rendimiento comparativo de la clínica, test del H₂ espirado y test genético. *Rev Med Chile.* 2012; 140: 1101-8.
46. Hermida C, Guerra P, Martínez-Costa O, et al. Phase I and phase Ib clinical trials for the noninvasive evaluation of intestinal lactase with 4-galactosylxylose (gaxilose). *J Clin Gastroenterol.* 2013; 47: 501-8.
47. Newcomer A, MaxHill D, Thomas P, et al. Prospective comparison of indirect method for detecting lactase deficiency. *N Engl J Med.* 1975; 293: 1232-6.
48. Aragón J, Hermida C, Martínez-Costa O, et al. Noninvasive diagnosis of hipolactasia with 4. galactosylxylose (gaxilose): A multicenter, open-label. Phase IIB-III. Nonrandomized trial. *J Clin Gastroenterol.* 2014; 48: 29-36.
49. Craig R, Ehunpreis E. D-xilose testing. *J Clin Gastroenterol.* 1999; 29: 143-50.
50. Hermida C, Martínez-Costa O, Canales G, et al. Improvement and avalidation of d-xylose determination in urine and serum as a new tool for the noninvasive evaluation of lactose activity in humans. *J Clin Lab Anal.* 2014; 28: 478-86.
51. Hermida C, Canales G, Martínez-Costa O, et al. Non-invasive evaluation of intestinal lactase with 3-and2-galactoxylxylose and optimization of method in rats. *Clin Chem.* 2006; 52: 270-7.
52. Arola H. Diagnosis of hypolactasia and lactose malabsorption. *Scand J Gastroenterol.* 1994; 202 (295 suppl): 22-35.
53. Robayo-Torres C, Díaz-Sotomayor M, Hamaker B. ¹³C-labeled-starch breath test in congenital sucrase-isomaltase deficiency. *JPGN.* 2018; 66 (suppl 3): S61-4.
54. Rose D, Chaudet M, Jones K. Structural studies of intestinal α-glucosidases, maltase-glucoamylase and sucrose-iso-maltase. *JPNG.* 2018; 66 (suppl 3): S11-3.
55. Chumpitazi B, Robayo C, Opekun A, et al. Congenital sucrase-isomaltase deficiency: summary of an evaluation in one family. *JPGN.* 2012; 55 (suppl 2): S36.
56. Lama R, Álvarez J, Prieto G, et al. Malabsorción congénita de glucosa-galactosa. ¿Es siempre un diagnóstico precoz? (Comunicación-poster). *Acta Pediatr Esp.* 1990; 48 (supl 3): 21.

57. Pérez E, Serralde A, Menéndez G. Efectos benéficos y deletéreos del consumo de fructosa. *Rev Endocrinol Nutr.* 2007; 15: 67-74.
58. Helwig U, Koch A, Koppka N, et al. The predictive value of the hydrogen breath test in diagnosis of fructose malabsorption. *Digestion.* 2019; 99: 140-7.
59. Cornejo V, Raimann E. Alteración del metabolismo de la fructosa. *Rev Chil Nutr.* 2004; 31: 93-9.
60. Suárez J. Exploraciones digestivas funcionales. Intolerancia a la fructosa y sorbitol. Monografía 2018.
61. Wilder-Smith C, Li X, Ho S, et al. Fructose transports GLUT5 and GLUT2 expression in adult patients with fructose intolerance. *United European Gastroenterol J.* 2014; 2: 14-21.
62. Steinman B, Santer R. Disorders of fructose metabolism. En: Sandubray JM, Van den Bergh G, Walter J (editores). *Inborn metabolic diseases. Diagnostic and treatment (5th ed.)* New York: Springer; 2012 p. 157-72.
63. Gibson P, Newman E, Barret J, et al. Fructose malabsorption and the bigger picture. *Aliment Pharmacol Ther.* 2007; 25: 349-363.
64. Choi Y, Johlin F, Summers R, et al. Fructose intolerante: an underrecognized problem. *Am. J Gastroenterol.* 2003; 98: 1348.
65. Montalto M, Gallo A, Ojetti V, et al. Fructose, trehalose and sorbitol malabsorption. *Eur Rev Med Pharmacol Sci.* 2013; 17(suppl 2): 26-9.
66. Pimentel M, Lamont J, Grover S. Clinical manifestation and diagnosis of small intestinal bacterial overgrowth. Up to Day 2017. Disponible en: www.UpToDate.com
67. Petersen C, Round L. Defining dysbiosis and its influence on host immunity and disease *Cellular Microbiology.* 2014; 16: 1024-33.
68. Hall A, Versalovic J. Microbial metabolism in the mammalian gut: molecular mechanisms and clinical implications. *JPGN.* 2018; 66(suppl 3): S72-9.
69. Rubio-Tapia A, Barton S, Rosenblatt J, et al. Prevalence of small intestine bacterial overgrowth diagnosed by quantitative culture of intestinal aspirate i coeliac disease. *J Clin Gastroenterol.* 2009; 43: 157-61.
70. Pande C, Kumer A, Sarin SK. Small-intestinal bacterial overgrowth in cirrhosis is related to the severity of liver disease. *Aliment Pharmacol Ther.* 2009; 29: 1273-81.
71. Baker W, Hammel L. Macrocytic anemia in association with intestinal structures and anastomosis. *Bull Johns Hopkins.* 1939; 46: 215.
72. Lindberg D. Hydrogen breath testing in adults: what is it and why is it performed? *Gastroenterol Nurs.* 2009; 32: 19-24.
73. Tsiaoussis G, Assimakopoulos S, Tsamandas A, et al. Intestinal barrier dysfunction in cirrhosis: Current concepts in pathophysiology and clinical implications. *World J Hepatol,* 2015; 7: 2058-68
74. Riordan S, Mciver C, Wakafield D, et al. Small intestinal mucosa immunity and morphometry in luminal overgrowth of indigenous gut flora. *Am J Gastroenterol.* 2001; 96: 494- 500.
75. Claridge J. Impact of 16S rRNA gene sequence analysis for identification of bacterias in clinical microbiology and infectious diseases. *Clin Microbiol Rev.* 2004; 17: 840-62.
76. Singh V, Toskes P. Small bowel bacterial overgrowth: presentation, diagnosis and treatment. *Curr Treat Options Gastroenterol.* 2004; 7: 19.
77. Stotzer P, Killander A. Comparison of the 1-gram 14C-d-xilose breath test and 50-gram hydrogen glucose breath test for diagnosis of small intestinal bacteriak overgrowth. *Digestion.* 2000; 61: 165-71.
78. Levitt M, Furne J, Kuskowski M, et al. Stability of human methanogenic flora over 35 years and a review of insights obtained from breath methane measurements. *Clin Gastroenterol Hepatol.* 2006; 4: 123-9.
79. Khoshini R, Dai S, Lescano S, et al. A systematic review of diagnosis test for small intestinal bacterial overgrowth. *Dig Dis Sci.* 2008; 53: 1443-54.
80. Ghoshal UC, Ghoshal U, Ayyagari A. Tropical sprue is associated with contamination of small bowel with aerobic bacterial and reversible prolongation of orocecal transit time *J Gastroenterol Hepatol.* 2003; 18: 540-7.
81. Schindler V, Giezendanner S, Bütikofer S, et al. Differentiation of functional gastrointestinal disorder from healthy volunteers by lactulose hydrogen breath test and test meal. *J Gastroenterol Hepatol.* 2019; 34: 843-51.
82. Petzold G, Amanzada A, Gress T, et al. High prevalence of pathological hydrogen breath test in patients with functional dyspepsia. *Digestion.* 2018 [En prensa]. doi: 10.1159/000494718.
83. Vernia P, Camilo MD, Marinaro V, et al. Effect of predominant methanogenic flora on the outcome of lactose breath test in irritable bowel síndrome patients. *Eur J Clin Nutr.* 2003; 57: 1116-9.
84. Fialho A, Fialho A, Kochhar G, et al. Association between small intestinal bacterial bacterial overgrowth by glucose breath test and coronary artery disease. *Dig Dis Sci.* 2018; 63: 412-21.

85. Kumar S, Misra A, Ghoshal UC. Patients with irritable bowel syndrome exhale more hydrogen than healthy subjects in fasting state. *J Neurogastroenterol Motil.* 2010; 16: 299-305.
86. Pimentel M, Chow EJ, Lin HC. Eradication of small intestinal bacterial overgrowth reduces symptoms of irritable bowel syndrome. *Am J Gastroenterol.* 2000; 95: 3503-6.
87. Bohrm M, Siwiec R, Wo J. Diagnosis and management of small intestinal bacterial overgrowth. *Nutr Clin Pract.* 2013; 28: 289-99.
88. Ghoshal UC, Srivastava D, Verma A, et al. Slow transit constipation associated with excess methane production and its improvement following rifaximin therapy: a case report. *J Neurogastroenterol Motil.* 2011; 17: 48-51.
89. Scarpellini E, Abenavoli L, Balsano C, et al. Breath tests for the assessment of the oro-cecal transit time. *Eur Rev Med Pharmacol Sci.* 2013; 17 (suppl 2): 39-44.