

# $^{13}\text{C}$ -ademtesten, functionele testen in gastroenterologie

## Basisprincipes en klinische toepassingen

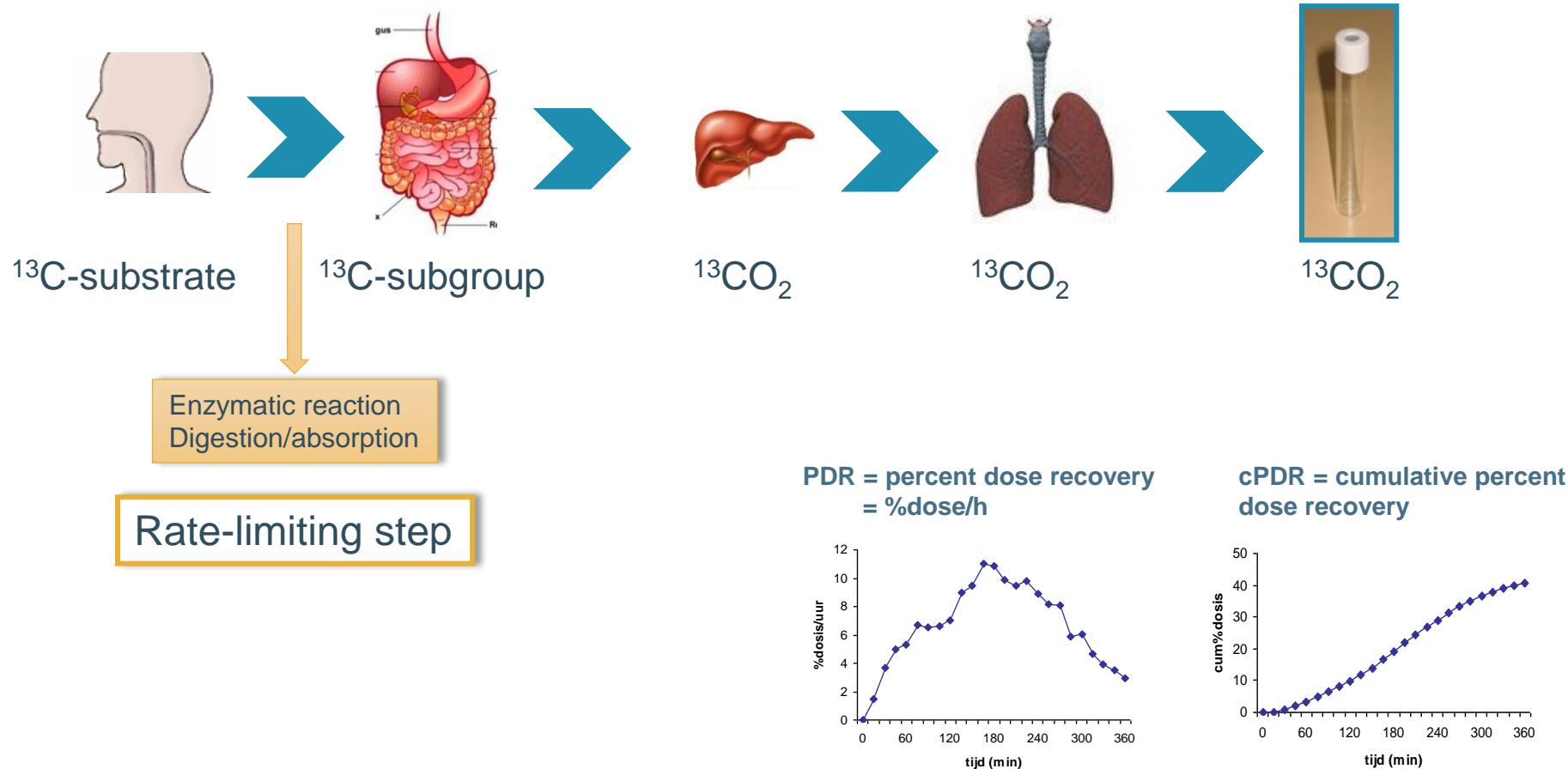
Kristin Verbeke  
UZ Leuven - KU Leuven

16 februari 2022



# Basisprincipes van ademtesten

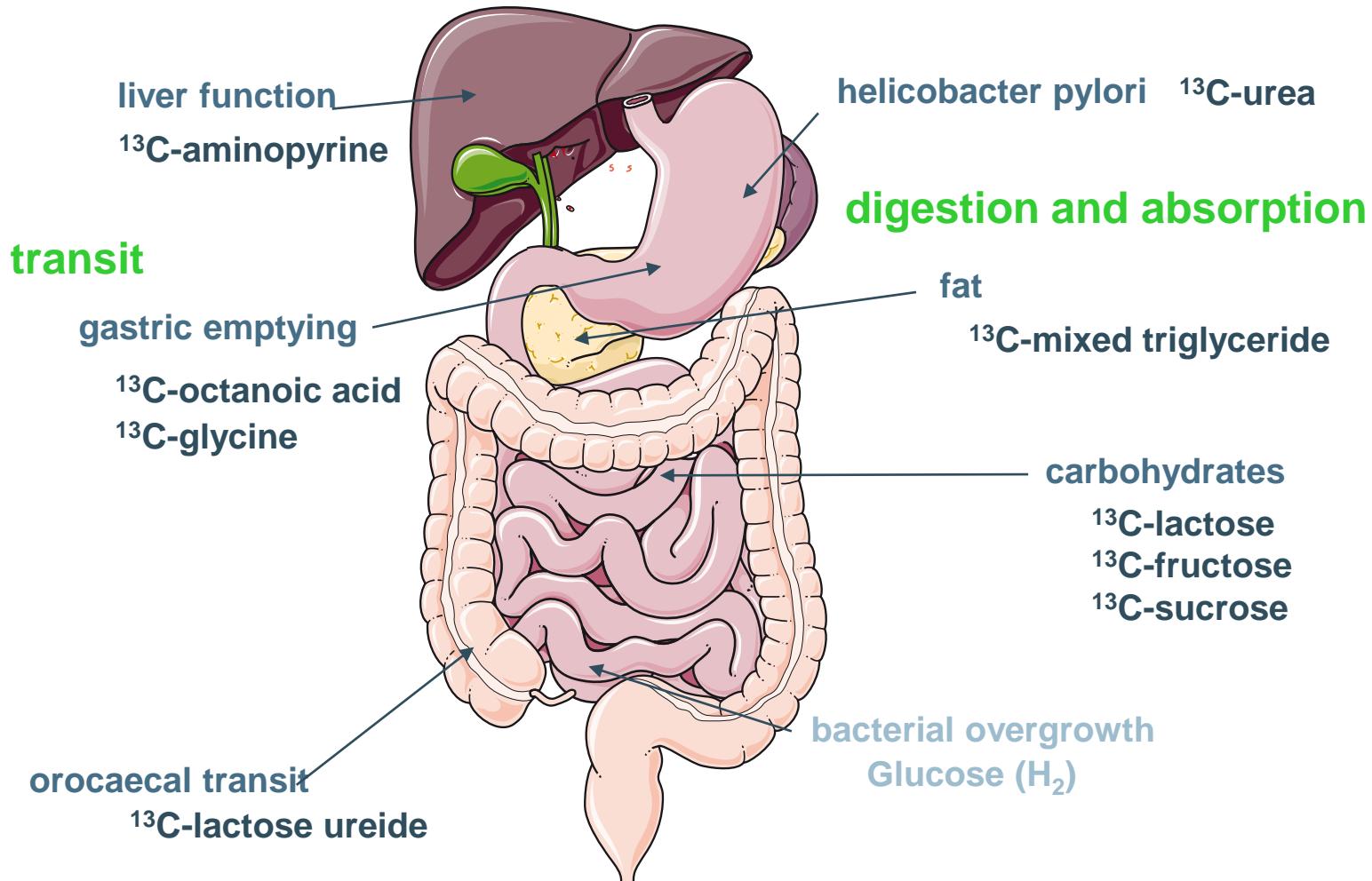
# Basis principe van ademtesten



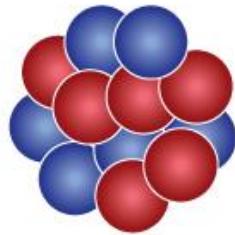
# Koolhydraat malabsorptie: gecombineerd met bepaling van H<sub>2</sub> in adem

- Humane enzymes produceren geen waterstof
- Waterstof in adem wijst op contact van bacteriën met het substraat
- Wanneer dit in de dunne darm gebeurt -> indicatie van bacteriële overgroei
- Wanneer dit in het colon gebeurt -> indicatie van koolhydraat malabsorptie

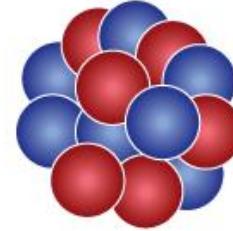
# Beschikbare ademtesten voor klinische diagnose



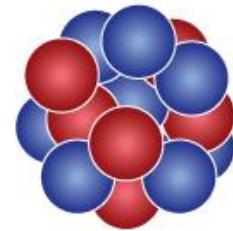
# $^{13}\text{C}$ is een stabiel isotoop



carbon-12  
98.9%  
6 protons  
6 neutrons



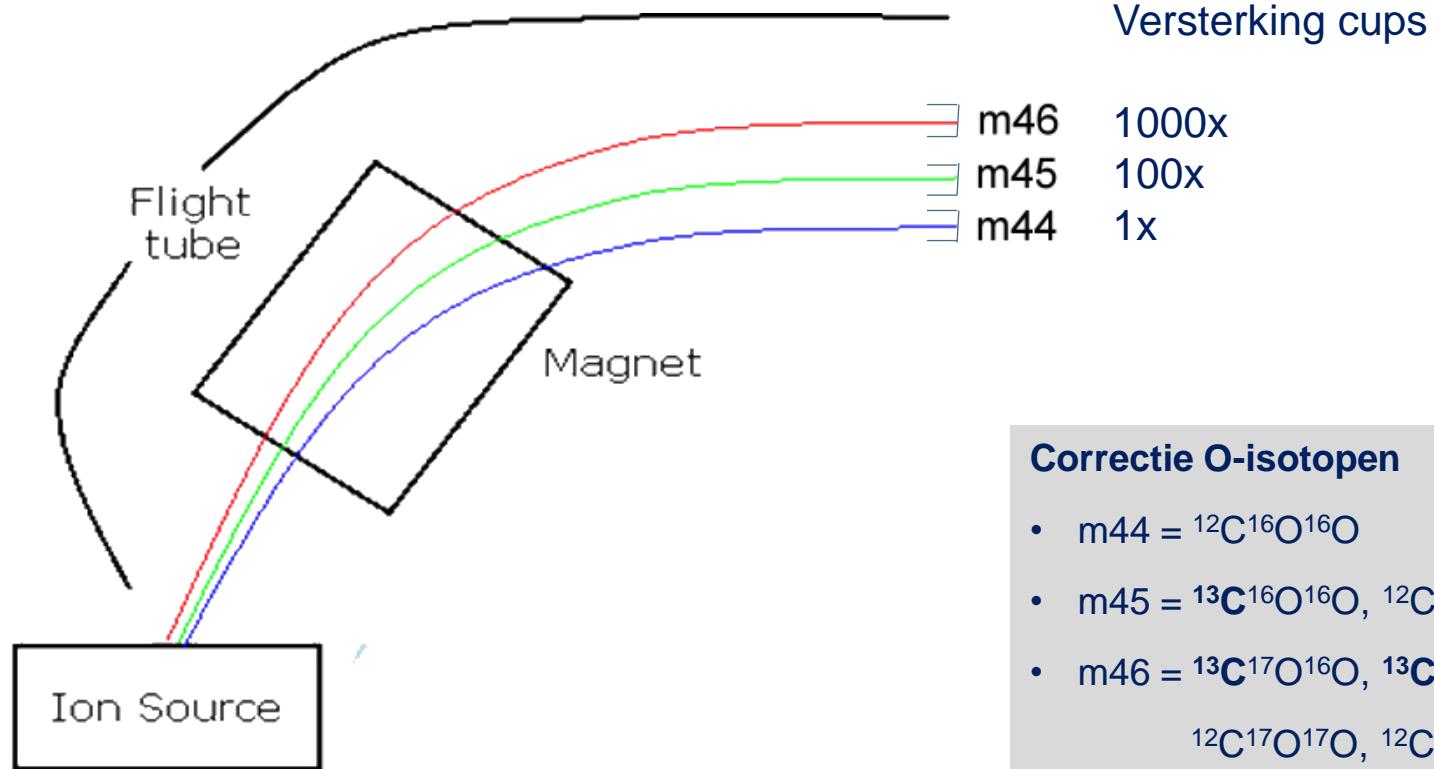
carbon-13  
1.1%  
6 protons  
7 neutrons



carbon-14  
<0.1%  
6 protons  
8 neutrons

- Geen stralingsbelasting voor de patiënt
  - Volkomen veilig voor kinderen, zwangere vrouwen, tijdens borstvoeding, ...

# Isotoop ratio massaspectrometrie



## Correctie O-isotopen

- $m44 = {}^{12}\text{C}{}^{16}\text{O}{}^{16}\text{O}$
- $m45 = {}^{13}\text{C}{}^{16}\text{O}{}^{16}\text{O}, {}^{12}\text{C}{}^{17}\text{O}{}^{16}\text{O}, {}^{12}\text{C}{}^{16}\text{O}{}^{17}\text{O}$
- $m46 = {}^{13}\text{C}{}^{17}\text{O}{}^{16}\text{O}, {}^{13}\text{C}{}^{16}\text{O}{}^{17}\text{O},$   
 ${}^{12}\text{C}{}^{17}\text{O}{}^{17}\text{O}, {}^{12}\text{C}{}^{18}\text{O}{}^{16}\text{O}, {}^{12}\text{C}{}^{16}\text{O}{}^{18}\text{O}$

# Isotoop ratio massaspectrometrie

- Uitgedrukt in  $^{13}\delta$  (‰, per mille) of Atoompercent (AP, %)

$$\delta^{13} = \frac{\left(\frac{^{13}C}{^{12}C}\right)_{staal} - \left(\frac{^{13}C}{^{12}C}\right)_{ref}}{\left(\frac{^{13}C}{^{12}C}\right)_{ref}} * 1000 \quad \text{of} \quad AP = \frac{^{13}C}{^{12}C + ^{13}C} * 100$$

Met ref = Pee Dee Belemnite (PDB)

$$^{13}C/^{12}C: (\text{PDB}) = 0.0112372 \Rightarrow ^{13}\delta = 0\text{‰}$$

$$^{13}C/^{12}C \text{ (adem)} = 0.0109372 \Rightarrow ^{13}\delta = -27\text{‰}$$



# Ademtesten moeten uitgevoerd worden in rust

- Assumptie: CO<sub>2</sub>-productie blijft constant tijdens de test

$$\% \text{ dosis/h} = 100 \times \frac{\left( \frac{AP_t - AP_{to}}{100} \right) \times \frac{300 \times BSA}{mmol \text{ CO}_2 / h}}{\text{excess } ^{13}\text{C- atoms exhaled/h}}$$

BSA =  $W^{0.5378} \times H^{0.3964} \times 0.024265$   
Haycock et al. J Pediatr 1978;93:62

$\frac{AP_t - AP_{to}}{100}$  → atom percent excess of substrate

$\frac{300 \times BSA}{mmol \text{ CO}_2 / h}$  → CO<sub>2</sub>-productie

$\frac{300 \times BSA}{mmol \text{ CO}_2 / h}$  → BSA =  $W^{0.5378} \times H^{0.3964} \times 0.024265$   
Haycock et al. J Pediatr 1978;93:62

$\frac{AP_t - AP_{to}}{100} \times \frac{\text{amount of substrate (mg)}}{\text{molar mass}} \times \frac{\text{number of } ^{13}\text{C positions/molecule}}{\text{mmol substrate}}$

$\frac{AP_t - AP_{to}}{100} \times \frac{\text{amount of substrate (mg)}}{\text{molar mass}} \times \frac{\text{number of } ^{13}\text{C positions/molecule}}{\text{mmol of (potential) } ^{13}\text{C atoms administered}}$

$\frac{AP_t - AP_{to}}{100} \times \frac{\text{amount of substrate (mg)}}{\text{molar mass}} \times \frac{\text{number of } ^{13}\text{C positions/molecule}}{\text{mmol of (potential) } ^{13}\text{C atoms administered}}$

effective mmol excess <sup>13</sup>C-atoms administered

- ⇒ Lengte en gewicht van de patiënt is essentiële informatie
- ⇒ Ademtesten zijn semi-quantitatieve testen

# Bijdrage van $^{13}\text{C}$ uit andere bronnen vermijden

Natuurlijk aangerijkte componenten (< C4-planten)

C4-planten: maïs, rietsuiker, broccoli

C3-planten: tarwe, suikerbieten

vb. glucose

- Dialysis
- TPN
- Glucose-infusions

# Ademtesten worden s' morgens nuchter uitgevoerd

- Geen interferentie van andere voedingsmiddelen op gastrointestinale processen
- Geen interferentie van andere voedingsmiddelen op aanraking van de adem

# Available tests

Test	Substrate	Test meal	Duration	Sampling	Parameter	Normal value
Helicobacter pylori	<sup>13</sup> C-urea	Nutridrink	1h	15 min	Cum% 1h	1.3%
Gastric emptying	<sup>13</sup> C-octanoic acid	Bread + omelet	4h	15 min	T1/2	<75 min
Exocrine pancreas	<sup>13</sup> C-MTG	Choco paste + bread	6h	30 min	Cum%6h	23%
Lactose digestion	<sup>13</sup> C-lactose	50 g Lactose	4h	30 min	Cum%4h H <sub>2</sub>	14.5% <20 ppm
Fructose absorption	<sup>13</sup> C-fructose	25 g fructose	4h	30 min	Cum%4h H <sub>2</sub>	16.1% <20 ppm
Sucrose digestion	<sup>13</sup> C-sucrose	50 g sucrose	4h	30 min	Cum%4h H <sub>2</sub>	20.0% <20 ppm
Microsomal liver function	<sup>13</sup> C-aminopyrin	Water	2h	30 min	Cum%2h	8.5%

# Testmaaltijden

- Geen standaardisatie
- Keuze op basis van culturele en praktische aspecten
- Elk labo heeft eigen normaalwaarden ontwikkeld voor specifieke testmaaltijd
- Test moet uitgevoerd worden onder dezelfde condities
- Resultaten van verschillende labo's kunnen niet vergeleken worden

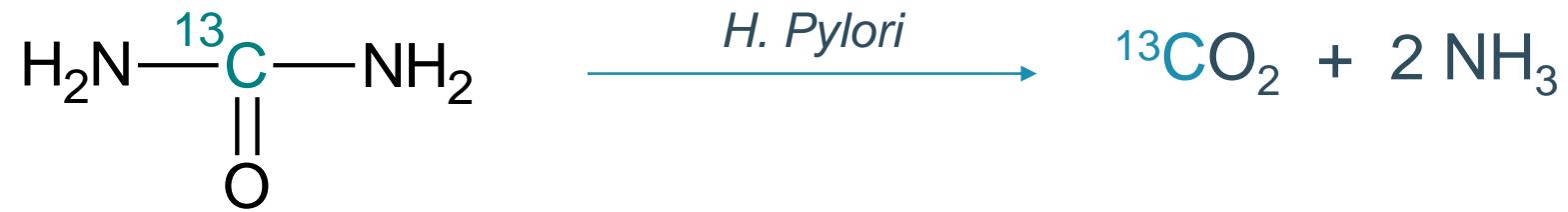
# $^{13}\text{C}$ -ureum ademtest

## detectie van *Helicobacter pylori*

# Indications voor H. Pylori testing

Grade of recommendation		
Adults	High	Suspicion/evidence of peptic ulcer disease, atrophic gastritis, gastric adenocarcinoma, MALT (mucosa-associated lymphoid tissue) lymphoma
		Test-and-treat strategy for uninvestigated dyspepsia
		Exclusion of <i>H. pylori</i> gastritis before reliable diagnosis of functional dyspepsia
	Moderate	Aspirin and NSAIDs users with a history of peptic ulcer
	Low	Unexplained iron deficiency anemia, idiopathic thrombocytopenic purpura, vitamin B12 deficiency
Children	High	Suspicion/evidence of peptic ulcer disease
		Monitoring of outcome of eradication therapy
	Low	Chronic immune thrombocytopenic purpura

# Principe van de $^{13}\text{C}$ -ureum ademtest



# Ureumademtest - praktisch



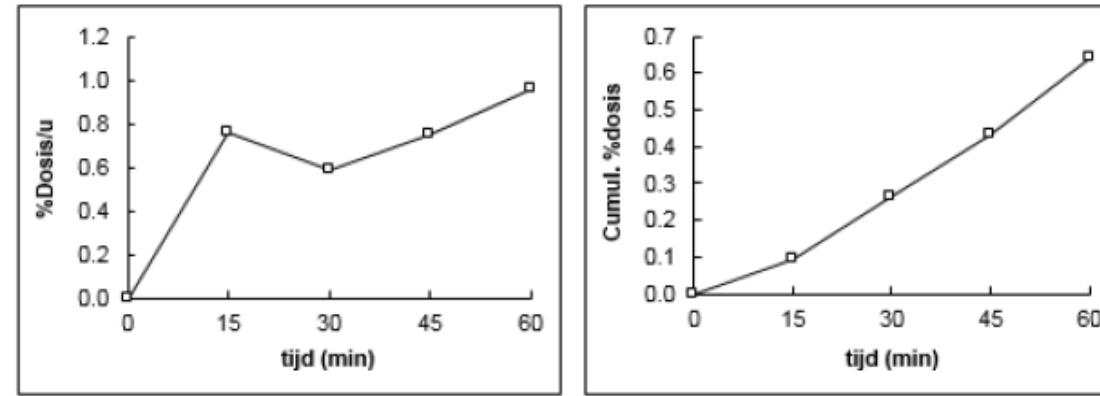
Testdrink: Fortimel

Normaalwaarde: cum%<sup>13</sup>CO<sub>2</sub> < 1,3%

# Ureumademtest - resultaten

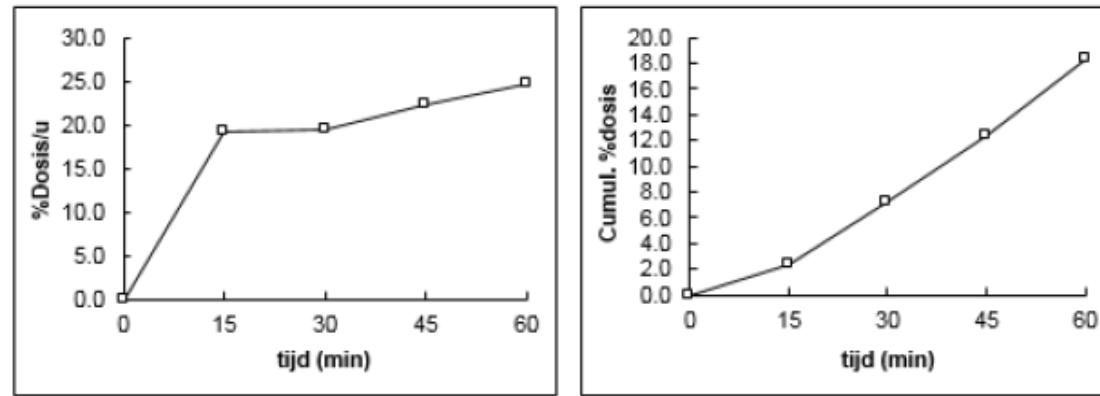
Cum  $^{13}\text{CO}_2$  na 1u = 0.64%

⇒ negatief



Cum  $^{13}\text{CO}_2$  na 1u = 18.26%

⇒ positief



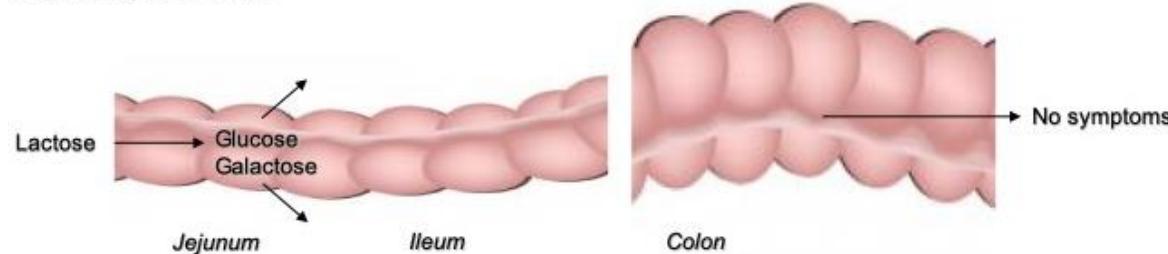
# Performantie van de test

- Sensitiviteit >95%
- Specificiteit > 95%
- Vals negatieve testen zijn mogelijk
  - PPI: minstens 7d, liefst 14d stoppen
  - H2-antagonisten: 14d stoppen
  - Antibiotica en bismuth (eradiatie): 4 weken stoppen
- Vals positieve testen (theoretisch):
  - Andere urease-producerende bacteriën in de mond of slokdarm

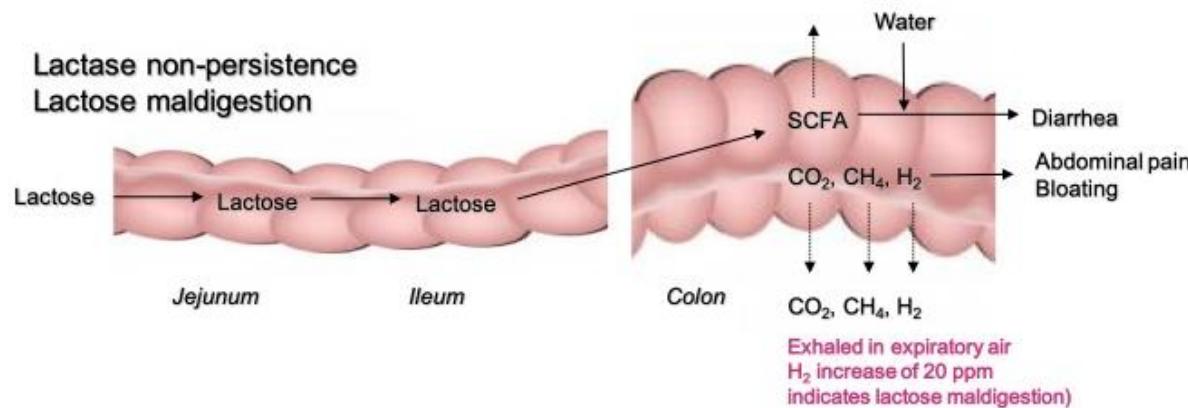
# $^{13}\text{C}/\text{H}_2$ -lactose ademtest

# Vertering van lactose

Lactase persistence



Lactase non-persistence  
Lactose maldigestion



Enzyme aanwezig in de brushborder van de dunne darm

Downregulatie na de kindertijd

Caucasiërs: mutatie in LCT -13'910

wildtype: C:C (lactase non-persistent)

heterozygoot: C:T (lactase-persistent)

homozygoot: T:T (lactase-persistent)

⇒ lactase-deficiëntie is geen ziekte

# Wat we bedoelen met ...

## Lactase deficiëntie

Vermindering van de lactase expressie na de kindertijd waardoor geen grote hoeveelheden lactose kunnen verteerd worden – Dominant fenotype wereldwijd  
Congenitaal: genetische afwijking, uiterst zeldzaam

## Lactose malabsorptie

Lactose wordt niet (volledig) geabsorbeerd in de dunne darm en komt in het colon terecht  
Gevolg van lactase deficiëntie of andere pathologie (vb. snelle transit)  
Secundair: ten gevolge van intestinale inflammatie (reversibel)

## Lactose intolerantie

Intestinale klachten (winderigheid, diarree, opgeblazen gevoel) als gevolg van lactose malabsorptie

## Functionele lactose intolerantie

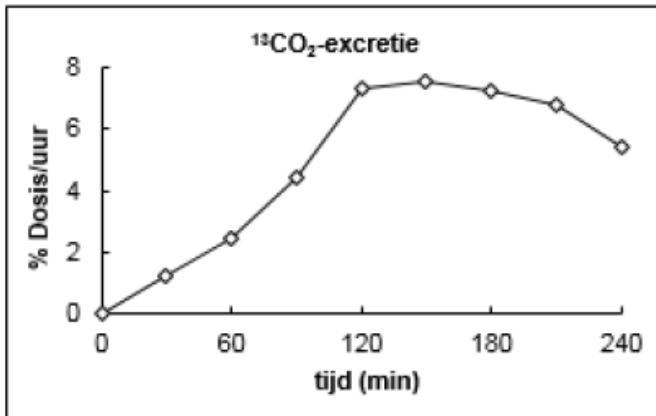
Intestinale klachten na lactose challenge maar zonder tekenen van lactose malabsorptie

# $^{13}\text{C}/\text{H}_2$ -lactose ademtest - praktisch

- Volwassenen: 25g  $^{13}\text{C}$ -lactose ( $\pm$  500 mL melk), op te lossen in 250 mL water
- Kinderen < 25kg: 1g/kg



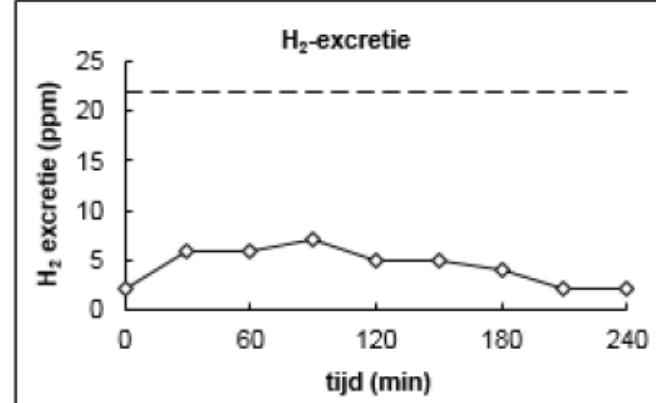
# Normaal testresultaat



$^{13}\text{CO}_2$ -piekexcretie = 7.5 %  
Cumulatieve  $^{13}\text{CO}_2$  excretie na 4h = 19.85 %

## Klachten tijdens de test

	Geen	Matig	Ernstig
Buikpijn	☒	☐	☐
Opgeblazen gevoel	☐	☒	☐
Winderigheid	☐	☒	☐
Diarree	☒	☐	☐

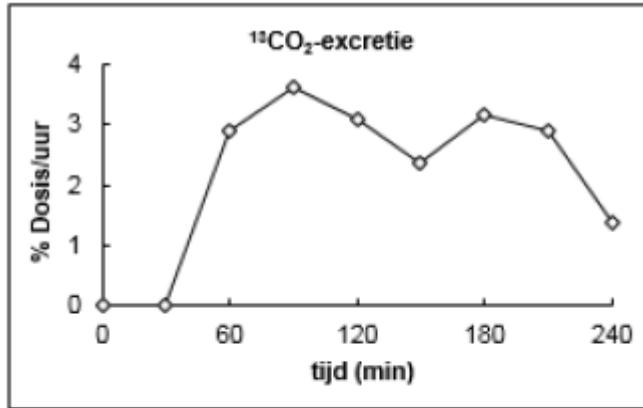


H<sub>2</sub>-excretie = 5 ppm

## Klachten 8 uur na het beëindigen van de test

	Geen	Matig	Ernstig
Buikpijn	☒	☐	☐
Opgeblazen gevoel	☒	☐	☐
Winderigheid	☐	☒	☐
Diarree	☒	☐	☐

# Lage lactose-assimilatie

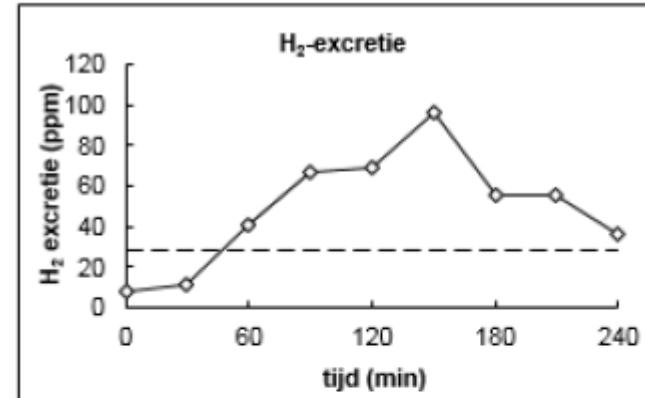


$^{13}\text{CO}_2$ -piekexcretie = 3.6 %

Cumulatieve  $^{13}\text{CO}_2$  excretie na 4h = 9.35 %

Klachten tijdens de test

	Geen	Matig	Ernstig
Buikpijn	☒	☐	☐
Opgeblazen gevoel	☐	☒	☐
Winderigheid	☐	☐	☒
Diarree	☐	☒	☐



H<sub>2</sub>-excretie = 88 ppm

Klachten 8 uur na het beëindigen van de test

	Geen	Matig	Ernstig
Buikpijn	☒	☐	☐
Opgeblazen gevoel	☒	☐	☐
Winderigheid	☐	☐	☒
Diarree	☒	☐	☐

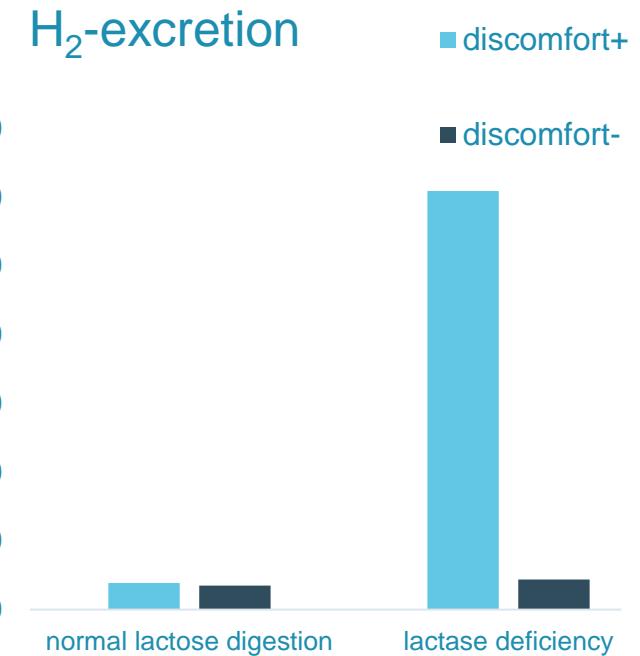
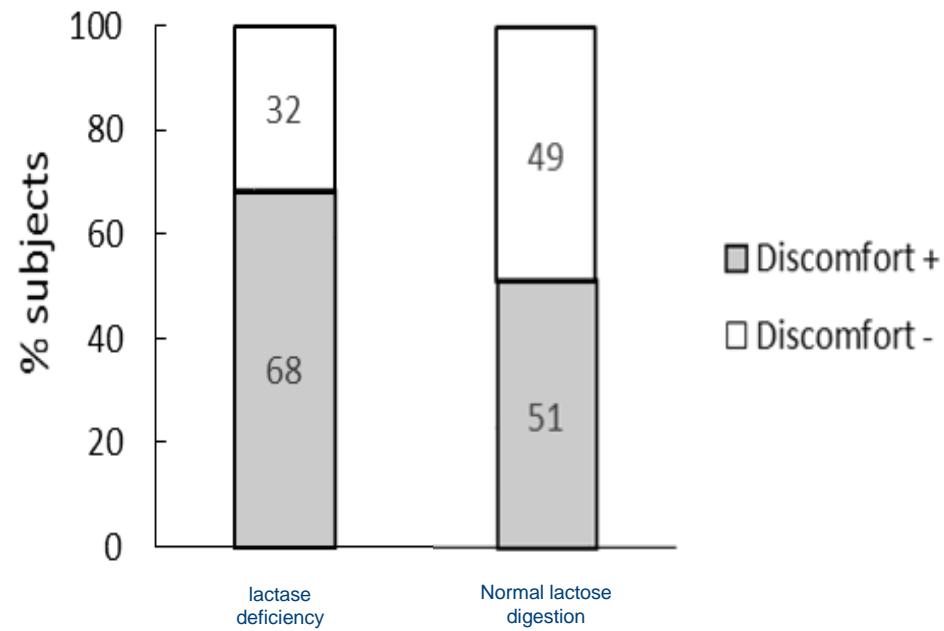
# Bedenkingen...

.... De meeste mensen met lactase deficiëntie kunnen nog tot 12g/d lactose verteren (verspreid over de dag) (Shaukat et al., Ann Intern Med 2010)

.... Sommige mensen zijn H<sub>2</sub>-non producers, hun microbiota zet de geproduceerde H<sub>2</sub> direct om in methaan, azijnzuur of sulfaat

.... Patiënten die lactase deficiënt zijn maar niet lactose intolerant moeten niet lactose vrij eten. Lactose werkt dan als prebioticum en stimuleert de gunstige bacteriën.

# Lactose malabsorptie ≠ lactose intolerantie



# Behandelingsopties

- Lactose-arm of lactose-vrij diet
- Orale lactase enzymes
- Probiotica die bacterieel lactase induceren in het colon
- mogelijks prebiotica die de colonicmicrobiota moduleren

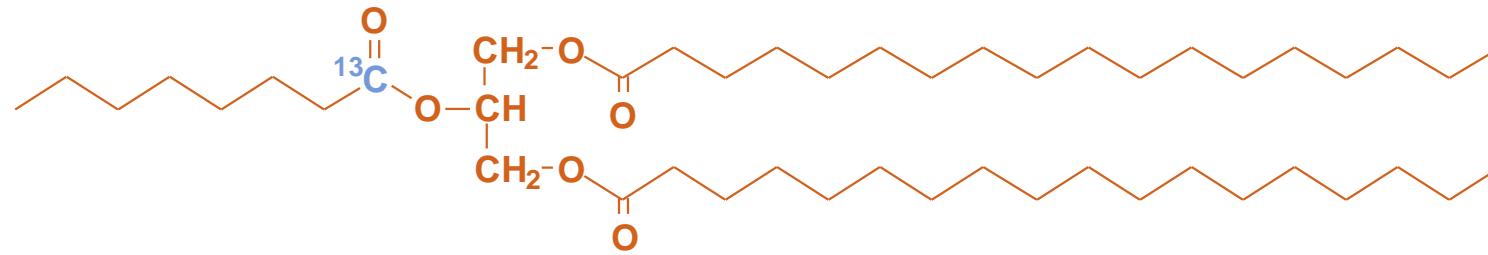
# $^{13}\text{C}$ -mengtriglyceride test

# Klinische indicatie

- Evaluatie van de exocriene pancreasfunctie
- Terugbetaling van Creon: 2 afwijkende resultaten:
  - $^{13}\text{C}$ -MTG test: Cum  $^{13}\text{CO}_2$  na 6u <23%
  - Vetexcretie in feces > 7g/d
  - Zure steatocriet: > 31%
  - Beeldvorming

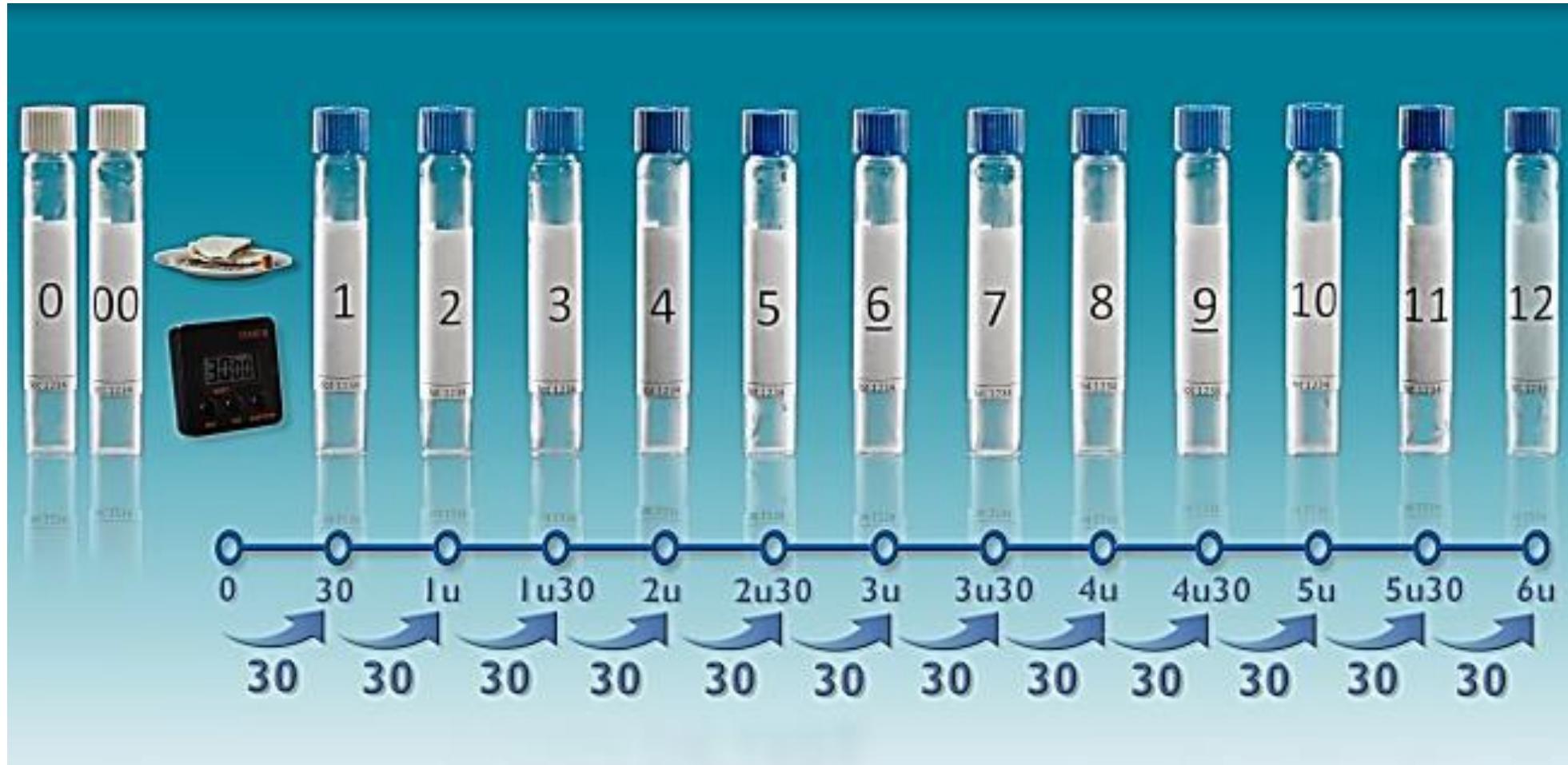
# <sup>13</sup>C-mengtriglyceride test

- substraat: 1,3-distearyl,2[<sup>13</sup>C-carboxyl]octanoyl glycerol



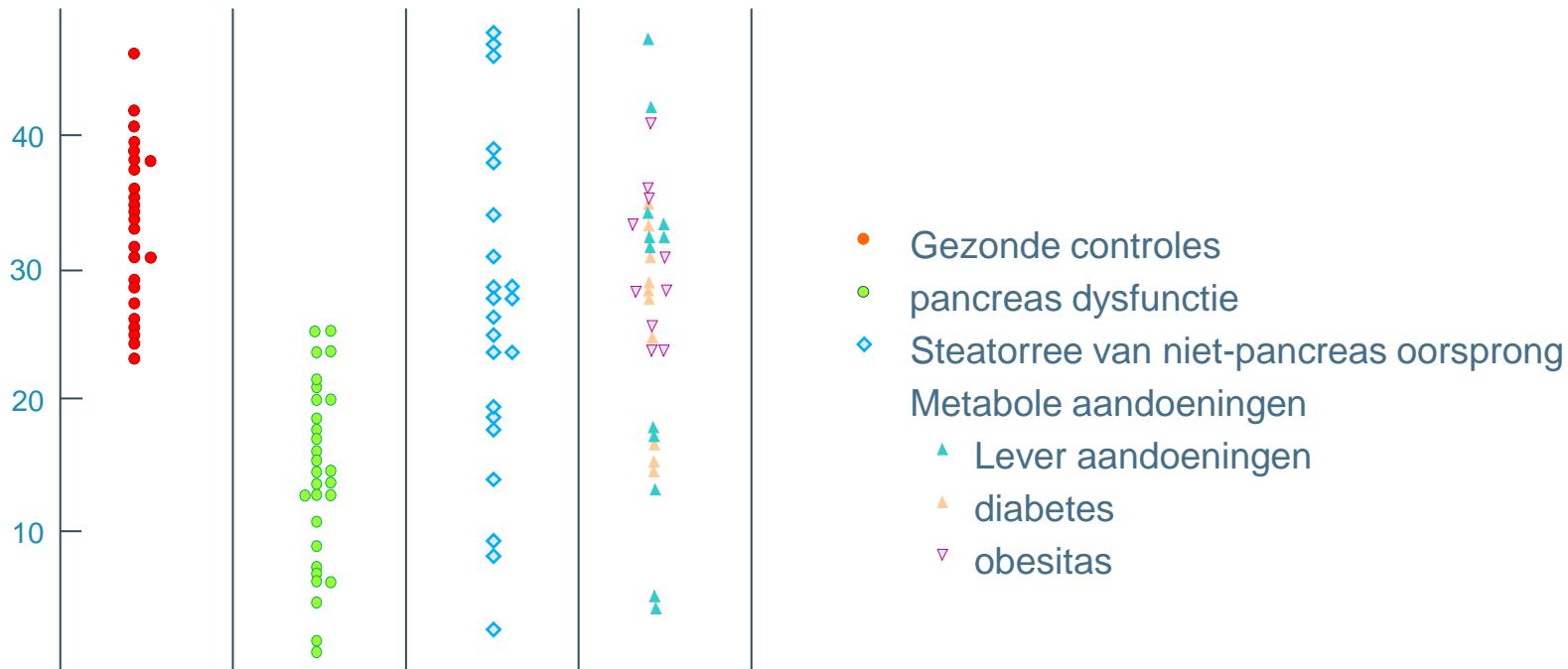
- hydrolyse van lange ketenvetzuren (positie 1 en 3) door pancreas lipase
- <sup>13</sup>C-octanoic acid wordt niet-enzymatisch gehydrolyseerd
- medium keten vetzuur: snel en volledig geabsorbeerd (onafhankelijk van galzouten) en snel geoxideerd in de lever

# <sup>13</sup>C-mengtriglyceride test - praktisch

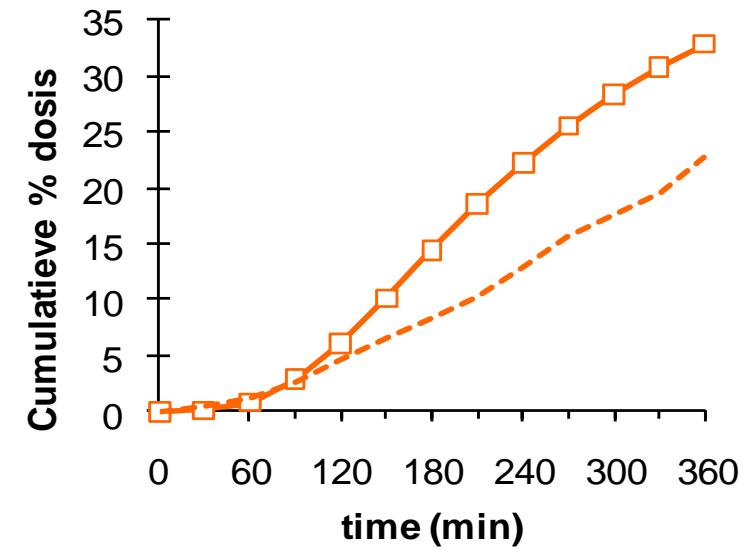
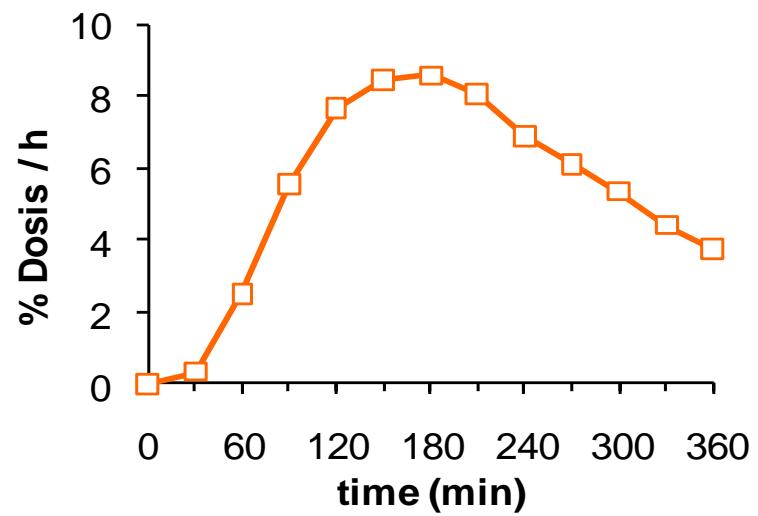


# $^{13}\text{C}$ -MTG test correleert niet met vetmalabsorptie

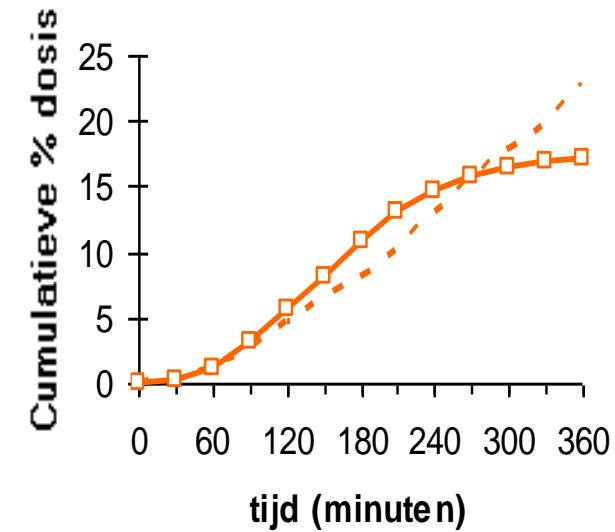
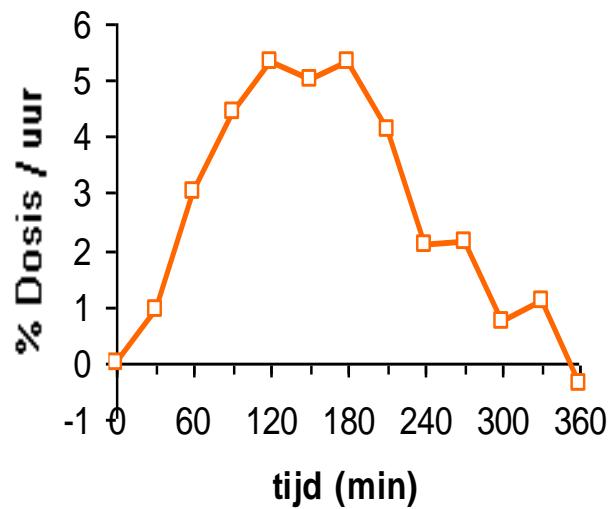
Cum%  $^{13}\text{CO}_2$  na 6u



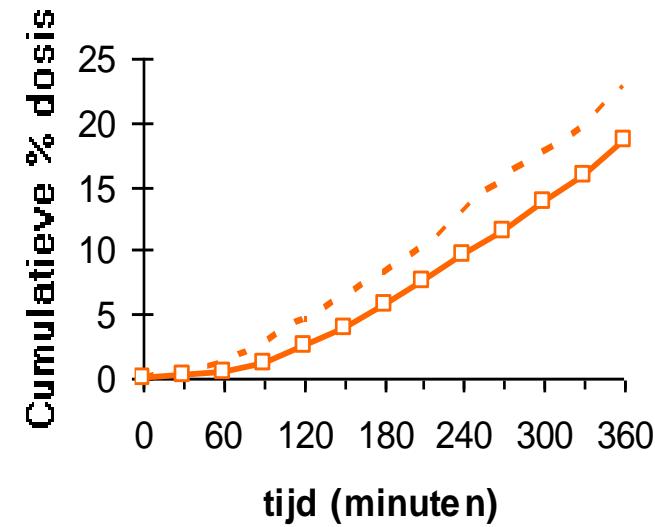
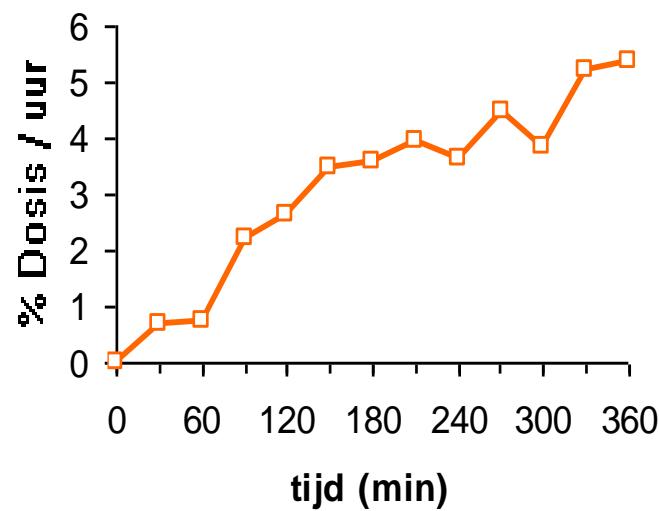
# Normaal testresultaat



# Lage lipase-activiteit



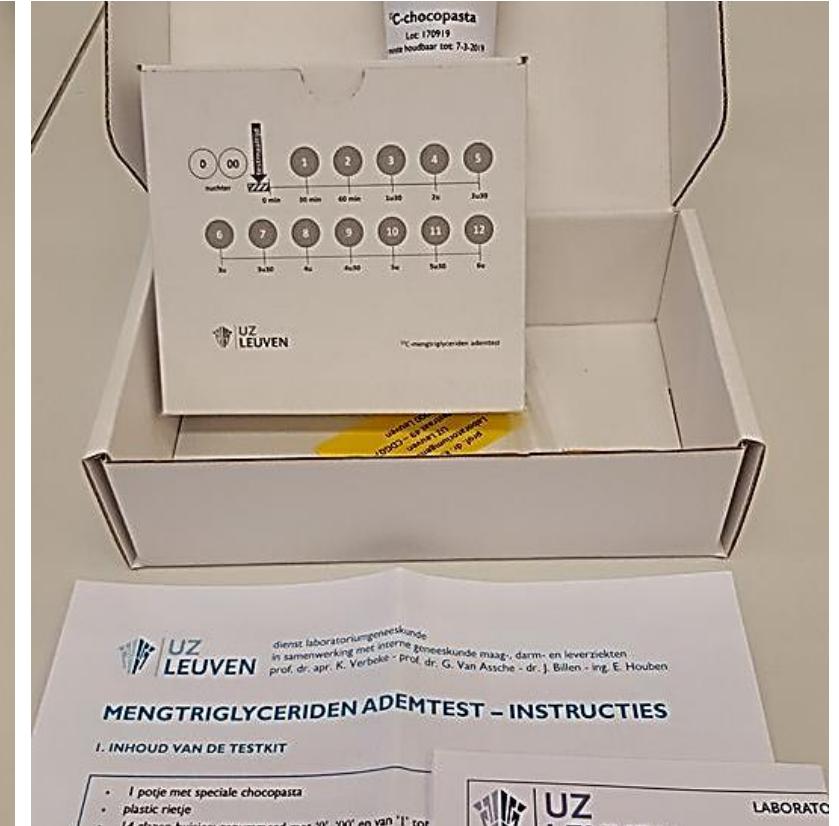
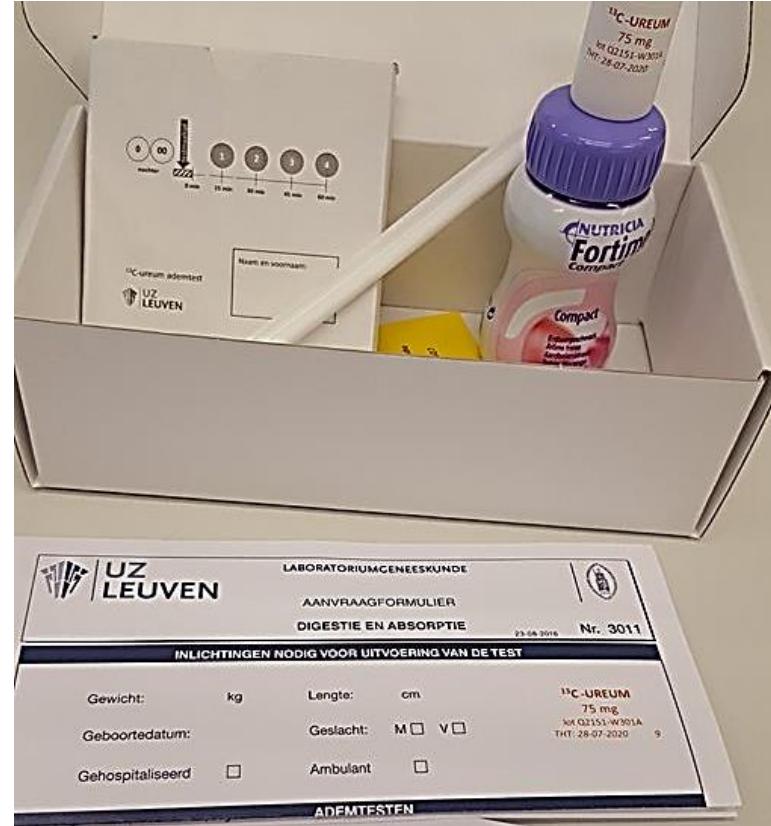
# Lage vetvertering, mogelijks door trage maaglediging



# “Vals” positieve testen

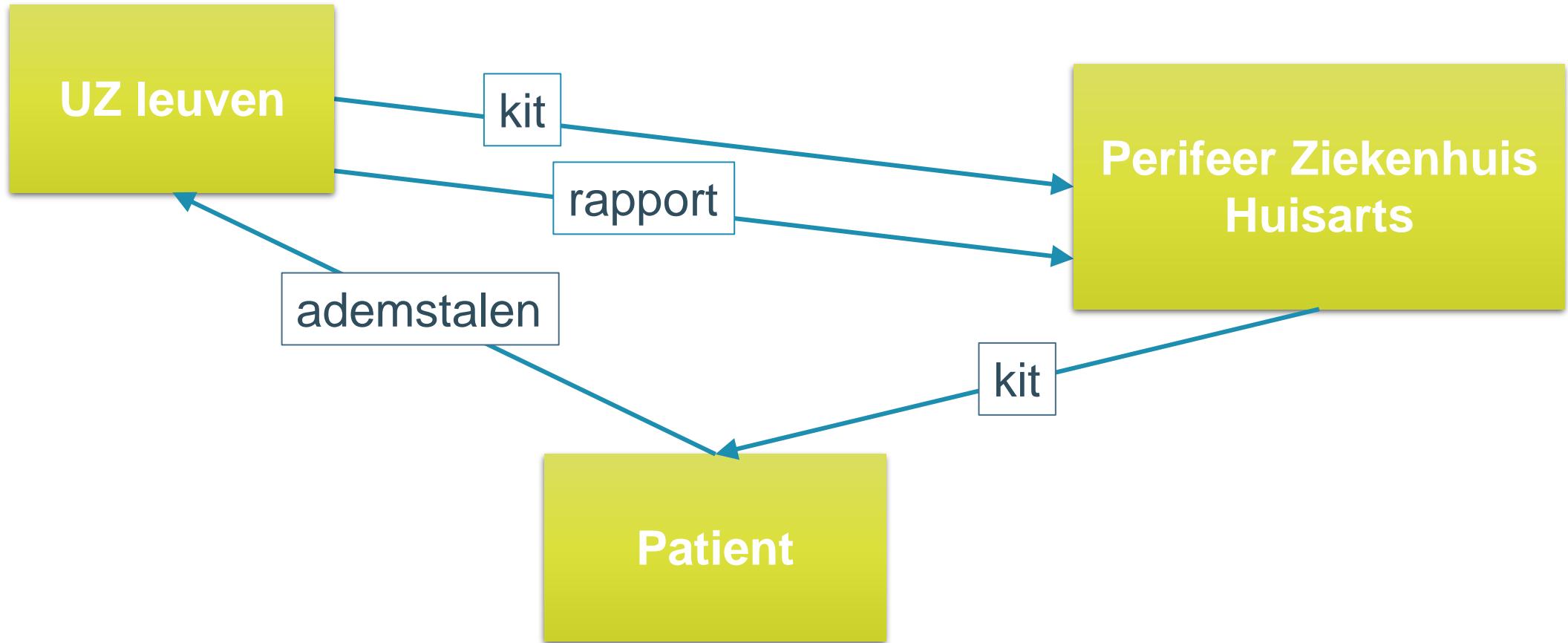
- Uitgebreide beschadiging van de intestinale mucosa (vb. coeliakie of ziekte van Crohn)
  - stimulerend effect van nutriënten in het duodenum op de pancreas is aangetast
  - MTG-test normaliseert wanneer patiënten worden voorbehandeld met CCK-pancreozymin
  - MTG-test normaliseert in coeliakie patiënten na glutenvrij dieet (herstel van de mucosa)
- extreem korte contacttijd
  - Vb na gastrectomy
- patiënten met diabetes
  - Waarschijnlijk door vertraagde maaglediging

# Praktisch



# Testkits

# Testkits worden ter beschikking gesteld



# [www.uzleuven.be/ademtest](https://www.uzleuven.be/ademtest)

- Ademtesten online bestellen
- Instructieformulieren voor de patiënt in het nederlands, frans en engels
- Instructiefilmpjes
- Voorbeelden van testresultaten

<https://www.uzleuven.be/nl/ademtest>

# Wijzigingen voor de toekomst

- IVD-reglementering: testkits zullen niet meer naar perifere ziekenhuizen gestuurd kunnen worden
- commerciële  $^{13}\text{C}$ -ureum ademtest op de Belgische markt



# Conclusies

- Veilig
- Niet invasief
- Eenvoudig uit te voeren
- beschikbaarheid



- Onderliggende assumenties
- Geen (internationaal) gestandaardiseerde condities

# Thank you!

