

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS**  
**Faculdade de Medicina**

**Frederico Passos Marinho**

**TESTE RESPIRATÓRIO COM UREIA MARCADA COM CARBONO-13  
NO DIAGNÓSTICO DA INFECÇÃO GÁSTRICA POR *HELICOBACTER  
PYLORI* : ANÁLISE DE UM BANCO DE DADOS COM ÊNFASE  
ESPECIAL NA DIFERENÇA DOS VALORES DO TESTE ENTRE OS  
SEXOS**

**Belo Horizonte**

**2014**

**Frederico Passos Marinho**

**TESTE RESPIRATÓRIO COM UREIA MARCADA COM CARBONO-13  
NO DIAGNÓSTICO DA INFECÇÃO GÁSTRICA POR *HELICOBACTER  
PYLORI* : ANÁLISE DE UM BANCO DE DADOS COM ÊNFASE  
ESPECIAL NA DIFERENÇA DOS VALORES DO TESTE ENTRE OS  
SEXOS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Saúde do Adulto, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Ciências da Saúde do Adulto.

Área de concentração: Gastroenterologia.

Orientador Prof. Dr. Luiz Gonzaga Vaz Coelho

**Belo Horizonte**

**2014**

M3389t Marinho, Frederico Passos.  
2014 Teste respiratório com uréia marcada com carbono -13 no diagnóstico da infecção gástrica por *Helicobacter Pylori*: análise de um banco de dados com ênfase especial na diferença dos valores do teste entre os sexos. [manuscrito] / Frederico Passos Marinho. – 2014.  
32 f., enc.; ilus.

Orientador: Prof. Dr. Luiz Gonzaga Vaz Coelho  
Área de concentração: Gastroenterologia

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Minas Gerais.

Bibliografia: f. 9-12.

1. *Helicobacter pylori* 2. Testes respiratórios. 3. Diagnóstico. 4. Sexo. 5. Dissertações. Acadêmicas. I. Coelho, Luiz Gonzaga Vaz. II. Universidade Federal de Minas Gerais. III. Título.

NLM QW 154

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS APLICADAS À SAÚDE DO**  
**ADULTO - FACULDADE DE MEDICINA**

Reitor: **Prof. Jaime Arturo Ramírez**

Vice-Reitora: **Profa. Sandra Regina Goulart Almeida**

Pró-Reitor de Pós-Graduação: **Prof. Rodrigo Antônio de Paiva Duarte**

Pró-Reitora de Pesquisa: **Profa. Adelina Martha dos Reis**

Diretor da Faculdade de Medicina: **Prof. Tarcizo Afonso Nunes**

Vice-Diretor da Faculdade de Medicina: **Prof. Humberto José Alves**

Coordenadora do Centro de Pós-Graduação: **Profa. Sandhi Maria Barreto**

Subcoordenadora do Centro de Pós-Graduação: **Profa. Ana Cristina Côrtes Gama**

Chefe do Departamento de Clínica Médica: **Prof. Ricardo de Menezes Macedo**

Coordenadora do Programa de Pós-Graduação em Ciências Aplicadas à Saúde do Adulto:

**Profa. Teresa Cristina de Abreu Ferrari**

Subcoordenadora do Programa de Pós-Graduação em Ciências Aplicadas à Saúde do

Adulto: **Prof. Paulo Caramelli**

Colegiado do Programa de Pós-Graduação em Saúde do Adulto:

**Profa. Teresa Cristina de Abreu Ferrari**

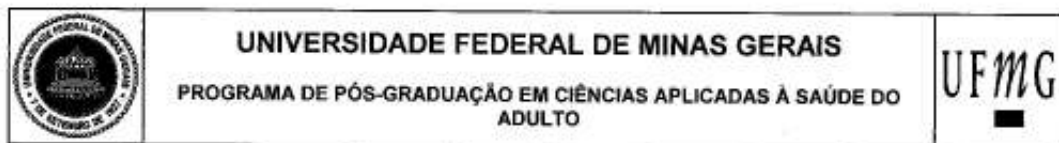
**Profa. Valéria Maria Azeredo Passos**

**Prof. Luiz Gonzaga Vaz Coelho**

**Prof. Paulo Caramelli**

**Prof. Francisco Eduardo Costa Cardoso**

**Prof. Marcus Vinícius Melo de Andrade**



## FOLHA DE APROVAÇÃO

**TESTE RESPIRATÓRIO COM UREIA MARCADA COM CARBONO-13 NO DIAGNÓSTICO DA INFECÇÃO GÁSTRICA POR HELICOBACTER PYLORI: ANÁLISE DE UM BANCO DE DADOS COM ÊNFASE ESPECIAL NA DIFERENÇA DOS VALORES DO TESTE ENTRE OS SEXOS**

### **FREDERICO PASSOS MARINHO**

Dissertação submetida à Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em CIÊNCIAS APLICADAS À SAÚDE DO ADULTO, como requisito para obtenção do grau de Mestre em CIÊNCIAS APLICADAS À SAÚDE DO ADULTO, área de concentração CIÊNCIAS APLICADAS AO APARELHO DIGESTIVO.

Aprovada em 15 de julho de 2014, pela banca constituída pelos membros:

  
Prof(a). Luiz Gonzaga Vaz Coelho - Orientador  
UFMG

  
Prof(a). Jaime Natan Eisig  
USP

  
Prof(a). Teresa Cristina de Abreu Ferrari  
UFMG

Belo Horizonte, 15 de julho de 2014.



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS**  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS APLICADAS À SAÚDE DO  
ADULTO



## ATA DA DEFESA DA DISSERTAÇÃO DO ALUNO FREDERICO PASSOS MARINHO

Realizou-se, no dia 15 de julho de 2014, às 14:00 horas, Instituto Alfa de Gastroenterologia - HC-UFMG, da Universidade Federal de Minas Gerais, a defesa de dissertação, intitulada *TESTE RESPIRATÓRIO COM UREIA MARCADA COM CARBONO-13 NO DIAGNÓSTICO DA INFECÇÃO GÁSTRICA POR HELICOBACTER PYLORI: ANÁLISE DE UM BANCO DE DADOS COM ÊNFASE ESPECIAL NA DIFERENÇA DOS VALORES DO TESTE ENTRE OS SEXOS*, apresentada por FREDERICO PASSOS MARINHO, número de registro 2012656212, graduado no curso de MEDICINA, como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre em CIÊNCIAS APLICADAS À SAÚDE DO ADULTO, à seguinte Comissão Examinadora: Prof(a). Luiz Gonzaga Vaz Coelho - Orientador (Universidade Federal de Minas Gerais), Prof(a). Jaime Natan Eisig (USP), Prof(a). Teresa Cristina de Abreu Ferrari (UFMG).

A Comissão considerou a dissertação:

Aprovada

Reprovada

Finalizados os trabalhos, lavrei a presente ata que, lida e aprovada, vai assinada por mim e pelos membros da Comissão.  
Belo Horizonte, 15 de julho de 2014.

Prof(a). Luiz Gonzaga Vaz Coelho ( Doutor )

Prof(a). Jaime Natan Eisig ( Doutor )

Prof(a). Teresa Cristina de Abreu Ferrari ( Doutora )

  
CONFERE COM ORIGINAL  
Centro de Pós-Graduação  
Faculdade de Medicina - UFMG

## AGRADECIMENTOS

Ao orientador, Prof. Dr. Luiz Gonzaga Vaz Coelho, pelo exemplo como profissional, pela competência e generosidade nas relações com os colegas, pacientes e alunos e pelo incentivo e comprometimento com este trabalho, gratidão eterna. Gonzaga, seu indicador me aponta o norte.

À Prof. Dra. Maria do Carmo Friche Passos, por toda contribuição com minha formação médica e humanista, pelo exemplo como professora, colega e amiga, por todas as oportunidades que me agraciou e pela grande ajuda na construção deste banco de dados e na análise da qualificação, meu fraterno obrigado.

Ao Osmar Reni, pela ajuda em cada parte deste trabalho, desde a organização do banco de dados até a escrita final, sua amizade é valiosa.

Ao casal Maú e Maurílio, pelo precioso auxílio com análise estatística e pela alegria e paciência com que realizam este trabalho.

À Profa. Dra. Teresa Ferrari, pela valiosa ajuda com os procedimentos do mestrado, pela participação em minha banca da qualificação e pelo acolhimento e compreensão com meus prazos na Pós Graduação.

À Dra. Ana Flavia Passos Ramos, pela convivência no ambulatório e pela amizade crescente e toda inclinação para ajuda.

Aos queridos colegas da reunião de quarta à noite pela leveza do encontro e importância em minha formação.

A todos os meus preceptores de Gastroenterologia, em especial Dr. Celso Mirra, Dr. Guilherme Santiago Mendes, Dr. José Mauro Messias Franco, Dr. Mario Lucio Rios Azevedo e Dr. Renato Dani, pela impagável contribuição em minha vida profissional e pela amizade sincera.

A cada um dos residentes de Gastroenterologia pelo convívio e pelo constante aprendizado

À Amanda Damasceno de Souza pela valorosa ajuda com a formatação do trabalho.

Às queridas famílias Passos Marinho e Nhome Meireles por serem fontes constantes de apoio e alegrias.

À Valéria, por sua ajuda sempre presente, por ser meu porto-seguro, pelo carinho incondicional e pelas muitas revisões nesta dissertação, sem ela eu não teria conseguido.



*Dedico esta dissertação aos meus pais pelo carinho, exemplo e empenho em minha formação.*

*À Val, por me ensinar o real significado da palavra cumplicidade, vejo minha história pelos olhos dela. Ao Artur e Cecília, pela alegria infantil e compreensão das inúmeras vezes em que estive ausente por estar ocupado com o meu “dever de casa”.*

*Somos algo e não tudo (...) incapazes de conhecer com segurança e de ignorar totalmente.*

**Pascal**

## RESUMO

Teste respiratório com ureia marcada com  $^{13}\text{C}$  (TR) constitui excelente exame para o diagnóstico da infecção por *H. pylori*, com acurácia elevada e sensibilidade e especificidade superiores a 95%. Há, entretanto, dúvidas acerca da semelhança entre os valores absolutos dos testes em homens e mulheres. **Objetivos:** Avaliar a relação dos valores absolutos do TR e o sexo, considerando variáveis como idade, peso, altura e índice de massa corporal (IMC) visando trazer contribuições acerca dos aspectos epidemiológicos e patogênicos da infecção gástrica pelo *H. pylori* na espécie humana. **Pacientes e Métodos:** Estudo transversal retrospectivo com análise do banco de dados do Laboratório de Testes Respiratórios do Instituto Alfa de Gastroenterologia do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), em Belo Horizonte, MG, contendo 18.489 TR realizados no período de julho 1998 a novembro 2010. As variáveis analisadas foram idade (anos), sexo, altura (cm), peso (Kg), índice de massa corporal (IMC) ( $\text{Kg}/\text{m}^2$ ) e valor absoluto do TR como *delta over baseline* ‰ (DOB‰). O TR foi realizado usando analisador de isótopos por infravermelho (IRIS®, Wagner Analysen-Technik, Bremen, Alemanha). Em resumo, após jejum noturno os pacientes ingeriam 75mg de  $^{13}\text{C}$ -ureia em 200 ml de suco de laranja. Amostras do ar expirado eram coletadas antes e 30min depois da ingestão do substrato. Valores superiores a 4 DOB‰ aos 30min foram considerados positivos. Análise estatística foi realizada usando Minitab-16, Excel-2007, teste de Mann-Whitney e do Qui-quadrado. Para todos os testes foi adotado nível de significância  $\alpha = 0,05$ . O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética da UFMG. **Resultados:** 12.902 pacientes [7.612 mulheres (59%) e 5.290 homens (41%), idade média 46,4 anos (1-96, DP:16.8)] preencheram os critérios da investigação e foram incluídos no estudo. TR foi positivo em 3.904 (30%) e negativo em 8.998 (70%) pacientes. Entre os pacientes infectados por *H. pylori*, a mediana dos valores

absolutos do TR foi significativamente maior nas mulheres (23,3 DOB‰) que nos homens (18,4 DOB‰) ( $p < 0,000$ ), exceto na faixa etária de 0 a 10 anos, onde não houve diferença estatística. As demais variáveis estudadas na população infectada mostraram: idade mediana nas mulheres de 46 anos e nos homens 44 anos ( $p = 0,0093$ ), altura mediana de 159cm nas mulheres e 170cm nos homens ( $p < 0,000$ ), peso mediano de 62Kg nas mulheres e 70Kg nos homens ( $p < 0,000$ ) e IMC mediano de 24,8 Kg/m<sup>2</sup> nas mulheres e 24,2 Kg/m<sup>2</sup> nos homens ( $p = 0,0093$ ), sendo as diferenças observadas pouco relevantes do ponto de vista clínico. Todos os pacientes positivos ( $n = 3.904$ ) foram alocados em quatro quartis, com valores crescentes de DOB‰, sendo demonstrado que à medida que aumenta o valor absoluto do TR aumenta, também, o percentual de pacientes femininos no grupo dos quartis ( $p = 0,000$ ). **Conclusão:** Mulheres adultas apresentam valores absolutos de TR significativamente maiores que os homens sugerindo que elas são mais densamente infectadas que os homens. Tais achados podem ter consequências clínicas e os estudos epidemiológicos e terapêuticos devem considerar os achados aqui reportados. Estudos futuros deverão ser realizados para elucidar a maior carga bacteriana aqui observada na população feminina.

**Palavras-chave:** Helicobacter pylori. Teste Respiratório. Diagnóstico. Sexo.

## ABSTRACT

$^{13}\text{C}$  labelled urea breath test (UBT) is regarded as excellent tool in the diagnosis of infection caused by *H. pylori*, because of its high accuracy level, sensitivity and specificity higher than 95%. There are, however, doubts concerning the correspondence between the absolute values of the tests in men and women. **Aims:** To evaluate how UBT's absolute values and sex relate, by taking into account variables such as age, weight, height, body mass index (BMI) aiming at contributions to the epidemiologic and pathogenic aspects of gastric infection caused by *H. pylori* in the human being. **Patients and Methods:** A retrospective cross-sectional study, based on the analysis of the database of Breath Tests Laboratory from University Hospital at Federal University of Minas Gerais (UFMG), containing 18.489 UBT, carried out between July 1998 and November 2010. The variables analyzed were age, sex, height (cm), weight (Kg), body mass index (BMI) ( $\text{Kg}/\text{m}^2$ ) and the absolute value of UBT as *delta over baseline* ‰ (DOB‰). UBT was carried out with the use of an infrared isotope analyzer (IRIS®, Wagner Analysen-Technik, Bremen, Germany). To sum up, after an overnight fast the patients drank 75mg of  $^{13}\text{C}$ -urea in 200 ml orange juice. Samples of the air exhaled were collected before and 30 minutes after the ingestion of the substrate. Values above 4 DOB‰ at 30 min were considered positive. A statistical analysis was conducted with the use of Minitab-16, Excel-2007, Mann-Whitney test and qui-square test. For all these tests significance  $\alpha = 0.05$  was adopted. The study was approved by UFMG's Ethics Committee. **Results:** 12,902 patients [7,612 women (59%) and 5,290 men (41%), average age of 46.4 (1-96, SD:16.8)] years met the criteria of the investigation and were included in the study. UBT was positive in 3,904 (30%) and negative 8,998 (70%) patients. Among the patients infected by *H. pylori*, UBT median absolute values were significantly higher for the women (23.3

DOB‰) than for men (18.4 DOB‰) ( $p < 0,000$ ), except in the 0-10 age range, where there was no statistical difference. The other variables studied in the infected population revealed: the median age of women was 46 years old and men's was 44 years old ( $p = 0.0093$ ), the median height of 159cm among women and 170cm among men ( $p < 0,000$ ), the median weight of 62Kg among women and 70Kg among men ( $p < 0.000$ ) and the median BMI of 24.8 Kg/m<sup>2</sup> among women and 24.2 Kg/m<sup>2</sup> among men ( $p = 0.0093$ ), the differences observed being somehow irrelevant from a clinical point of view. All of the positive patients ( $n = 3.904$ ) were allocated in four quartiles, with ascending values of DOB‰, demonstrating that as UBT absolute values ascend, so does the percentile of female patients in the quartile groups ( $p = 0.000$ ). **Conclusion:** Among adult women the UBT absolute values found were significantly higher than the value for men, suggesting that they are more densely infected than men. Such findings may have clinical consequences and the epidemiological and therapeutic studies should take the findings reported here into consideration. Future studies should be carried out in order to throw light on the bacterial load observed among the female population.

**Keyword:** Helicobacter pylori. Breath Tests. Diagnosis. Sex.

## LISTAS DE ILUSTRAÇÕES

Figure 1 – Selection of the study population.....	16
Figure 2 - Association between the increasing values of DOB‰ in Quartiles 1 to 4 and sex in the 3,904 positive patients.....	19
Figure 3 – Comparison of the DOB‰ median values in both genders and for each age group .....	20
Figure 4– UBT values in males and females according to age group in four different studies involving 43,232 patients. ....	23
Table 1– Descriptive statistics of the variables DOB, BMI and age in the total population and in the positive and negative groups .....	17
Table 2 – Comparison of the variables DOB, age, height, weight and BMI between genders	18
Table 3 – Descriptive measures of the variable DOB‰ in the 3,904 positive patients subdivided into quartiles with increasing values.....	19
Table 4 – Minimum, maximum, mean, median and SD values of BMI (kg/m <sup>2</sup> ) of 3,904 positive patients and their distribution in the four quartiles of increasing DOB‰ values.....	21
Table 5 – Minimum, maximum, mean, median and SD values for age (in years) of 3,904 positive patients and their distribution in the four quartiles of increasing DOB‰ values.....	21

**LISTAS DE SIGLAS E ABREVIATURAS**

BMI -	<i>body mass index</i>
DOB -	<i>delta over baseline</i>
EUA -	Estados Unidos da América
HC -	Hospital das Clínicas
IMC -	índice de massa corpórea
MALT -	<i>mucosa associated lymphoid tissue</i>
OMS -	Organização Mundial de Saúde
PDB -	Pee Dee Belemnite
PRC -	Reação de Cadeia de Polimerase
SD -	<i>standard deviation</i>
UBT -	<i>urea breath test</i>
UFMG-	Universidade Federal de Minas Gerais



## SUMÁRIO

<b>1 CONSIDERAÇÕES INICIAIS .....</b>	<b>1</b>
<b>1.1 Métodos diagnósticos para identificação do H. pylori .....</b>	<b>1</b>
<b>1.2 Testes respiratórios com ureia isotopicamente marcada.....</b>	<b>2</b>
<b>1.3 Teste respiratório: interpretação dos resultados.....</b>	<b>4</b>
<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>9</b>
<b>2 ARTIGO.....</b>	<b>13</b>
<b>INTRODUCTION .....</b>	<b>13</b>
<b>PATIENTS AND METHODS .....</b>	<b>15</b>
Study design.....	15
UBT.....	15
<b>RESULTS .....</b>	<b>16</b>
Characteristics of the study population .....	16
<b>DISCUSSION.....</b>	<b>22</b>
<b>REFERENCES.....</b>	<b>27</b>
<b>3 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....</b>	<b>31</b>

## 1 CONSIDERAÇÕES INICIAIS

A identificação do *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) colonizando o estômago humano, realizada por John Robin Warren e Barry J. Marshall em 1983, pode ser considerada um dos maiores avanços da gastroenterologia no século passado. A comprovação da relação direta da presença desta bactéria com o aparecimento da gastrite crônica e da úlcera péptica rendeu a estes pesquisadores o Prêmio Nobel de Medicina em 2005(1).

*H. pylori* é uma bactéria Gram-negativa,espiralada, móvel, microaerófila,que, ao produzir a enzima urease promove a hidrólise da ureia fisiologicamente presente no suco gástrico, levando à produção de amônia. Envolto pela amônia, o microrganismo fica protegido dos efeitos deletérios do pH ácido do estômago, tendo acesso à camada de muco gástrico e à superfície das células de revestimento, seu local de colonização (2).

A infecção pelo *H. pylori* é o principal fator etiológico da gastrite crônica e da úlcera péptica gastroduodenal (3). Além disso, o microrganismo é, desde 1993, considerado agente carcinogênico tipo-1 pela Organização Mundial de Saúde (OMS) e muitos estudos comprovam sua participação no adenocarcinoma e no linfoma MALT (mucosa associated lymphoid tissue) gástricos (4,5).

### 1.1 Métodos diagnósticos para identificação do *H. pylori*

Os métodos diagnósticos para detecção da infecção por *H. pylori* são tradicionalmente divididos em diretos e indiretos (6). Os métodos diretos são considerados invasivos, pois

dependem da realização da endoscopia associada à coleta de fragmento de mucosa gástrica por biópsia. Incluem a pesquisa histológica da bactéria no tecido, a cultura, o teste colorimétrico da urease pré-formada e testes moleculares, especialmente, a reação de cadeia de polimerase (PCR) (7).

Os métodos indiretos, ou não invasivos, são baseados na detecção de certas propriedades da bactéria, como por exemplo, a indução de resposta imune pelo hospedeiro, como a sorologia qualitativa ou quantitativa com dosagem da imunoglobulina IgG e a pesquisa de antígenos do *H. pylori* nas fezes, ou a promoção da hidrólise da ureia pela enzima urease na luz gástrica (testes respiratórios com ureia marcada com carbono-13 ou carbono-14) (6, 8-11).

## **1.2 Testes respiratórios com ureia isotopicamente marcada**

Para a realização do teste respiratório, dois isótopos do carbono podem ser utilizados: o radioativo  $^{14}\text{C}$  e o estável  $^{13}\text{C}$  (9,12). Existem duas principais limitações aos testes respiratórios com  $^{14}\text{C}$ : exposição à radiação ionizante, que compromete sua realização em crianças e gestantes e exigência de pessoal especializado em medicina nuclear para manipular o material radioativo. Desta forma, a maioria dos testes hoje realizados utiliza como substrato o carbono-13. É conhecido que, na natureza, predomina o  $^{12}\text{C}$ , com o  $^{13}\text{C}$  ocorrendo na proporção de 11 partes por mil de  $^{12}\text{C}$ . No teste respiratório a relação  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$  é expressa em partes por mil (‰), denominada PDB (Pee Dee Belemnite), conforme normas internacionais. PDB é um tipo de rocha encontrada no estado da Carolina do Sul, EUA e considerada padrão, por possuir composição semelhante àquela observada na natureza (13).

Vários processos metabólicos resultam em CO<sub>2</sub> como produto final, e o ar expirado é fácil de ser coletado e analisado. O estudo do teste respiratório foi simplificado após Abt e Von Schuching, em 1966, demonstrarem que o homem, em repouso, produz quantidades razoavelmente constantes de CO<sub>2</sub> por unidade de tempo (14). O teste respiratório usando <sup>13</sup>C depende da quantificação do <sup>13</sup>CO<sub>2</sub> isotopicamente marcado no ar expirado, o qual é produzido através do processo metabólico entre a ureia marcada com <sup>13</sup>C, administrada pela via oral, e a enzima urease produzida pelo *H. pylori* na luz gástrica. O produto desdobrado pela urease, tendo o <sup>13</sup>C marcado, é metabolizado até <sup>13</sup>CO<sub>2</sub> difundindo-se no sangue misturado com o *pool* de bicarbonato, para ser finalmente excretado na respiração. Desta forma, a excreção do <sup>13</sup>CO<sub>2</sub> reflete a quantidade total da enzima estudada. Um aumento na proporção de <sup>13</sup>CO<sub>2</sub> indica presença da infecção por *H. pylori* (13).

A acurácia do diagnóstico de infecção por *H. pylori* pelo teste respiratório com carbono-13 é muito elevada, com sensibilidade e especificidade em torno de 95% (8,9,11). A alta sensibilidade deve-se à sua capacidade de avaliar o estômago como um todo, ao contrário de métodos baseados em análises de amostras, já que a distribuição do *H. pylori* na cavidade gástrica pode ser heterogênea (15). Resultados falso-negativos podem ser encontrados em situações especiais como pequena concentração de bactérias na luz gástrica, esvaziamento gástrico acelerado (menor tempo de contato entre a ureia marcada ingerida e a mucosa infectada), cirurgia gástrica prévia e administração recente de drogas como antibióticos, bismuto e inibidores da bomba de prótons. Resultados falso-positivos têm sido raramente descritos na presença de outros microrganismos produtores de urease na luz gástrica, ou, mesmo, na cavidade oral (10,11). Porém, a relevância clínica destes achados é considerada muito limitada (15).

Desde a descrição original, em 1987, por Graham et al., o teste respiratório com  $^{13}\text{C}$  tem sofrido várias modificações, incluindo a necessidade de jejum antes do exame, a dose da ureia marcada empregada, a administração da ureia concomitante com alguma refeição, o tempo ideal de coleta de amostra do ar expirado, a necessidade da coleta de amostra de ar basal antes da ingestão da ureia, o ponto de corte (*cut-off*) para definição entre positividade ou negatividade do teste e definição do melhor equipamento utilizado para realização da mensuração do isótopo enriquecido (12). Apesar destas incertezas na literatura dificultarem uma padronização mundial única do teste, inúmeros estudos de validação local confirmam a elevada acurácia do método para o diagnóstico de infecção ativa por *H. pylori* em adultos e crianças acima de seis anos de idade (8,11,12,15-22).

### **1.3 Teste respiratório: interpretação dos resultados**

Como o valor absoluto do teste respiratório depende da atividade ureásica no estômago, ele pode ser usado como marcador quantitativo da colonização gástrica pelo *H. pylori* (23,24). Esta afirmação, entretanto, não é consensual na literatura. Alguns estudos sugerem que o valor absoluto do teste respiratório com  $^{13}\text{C}$  não apresenta caráter quantitativo pela variação da produção de  $\text{CO}_2$  por diferentes indivíduos (25,26). Gisbert et al. sugerem que a determinação da densidade bacteriana através do teste respiratório seja incerta por vários fatores incluindo a produção variável de  $\text{CO}_2$  entre indivíduos, influência da dieta na produção de  $\text{CO}_2$ , desconhecimento da contribuição da ureia endógena para o *pool* do substrato e, ainda, pelo fato que nem todo  $\text{CO}_2$  produzido pelo estômago ser excretado pelos pulmões (25). Atherton et al. sugerem que a variação de oferta da ureia para as diferentes regiões do estômago, especialmente com o uso de refeição para a realização do teste, poderia comprometer uma acurada quantificação da atividade ureásica pelo teste respiratório, limitando uma adequada

avaliação da densidade bacteriana no estômago(26). Outro fator também aventado como limitante do teste como indicador quantitativo da infecção por *H. pylori* é a variação da atividade ureásica entre diferentes cepas do *H. pylori* “*in vitro*” (27,28). Dunn et al. mostraram que a urease produzida pelo *H. pylori* fica exposta na superfície do microrganismo em grande quantidade tanto *in vivo* quanto *in vitro* e apresenta elevado poder antigênico (27). Mobley et al. mostraram que a produção de urease apresentava grande variabilidade entre diferentes cepas do *H. pylori* isoladas em cultura (28).

Apesar das limitações acima descritas, diferentes estudos têm sugerido que o teste respiratório com  $^{13}\text{C}$  possa expressar quantitativamente a infecção bacteriana quando comparado com cultura, histologia ou métodos moleculares (29-36). Kobayashi et al., ao empregarem como padrão-ouro, a técnica TaqMan-PCR, previamente utilizada para estimar quantitativamente o número de bactérias em infecções por *M. tuberculosis*, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella spp* e *Yersinia pestis* demonstraram, em 88 pacientes, que a quantidade de DNA bacteriano, expressa como número de genomas bacterianos, apresentava correlação significativa com os valores do teste respiratório com  $^{13}\text{C}$ -ureia, o mesmo não ocorrendo quando comparado com a análise histológica dos fragmentos gástricos (29). Vincent et al. compararam os valores do teste respiratório com cultura quantitativa do antro em 28 crianças e adolescentes infectadas pelo *H. pylori*. Foi observada correlação significativa ( $r=0,63$ ;  $p < 0,001$ ) entre a cultura quantitativa e o resultado do teste respiratório, conferindo propriedade quantitativa ao teste respiratório na estimativa da densidade bacteriana nesta população (36).

Outros estudos, entretanto, ao comparar os valores absolutos do teste respiratório com a cultura e/ou histologia, foram incapazes de comprovar esta correlação quantitativa (37,38). Auroux et al. utilizando como método de referência a cultura quantitativa e a comparando

com o exame histológico e com o teste respiratório em 37 pacientes infectados por *H. pylori*, não encontraram correlação entre a cultura e valores quantitativos do teste respiratório, sendo observada relação significativa com os achados histológicos apenas em casos mais intensos (escore 3)(37). Tummala et al. ao analisarem 19 pacientes infectados por *H. pylori* e submetidos a endoscopia com coleta de 09 fragmentos para estudo, foram também incapazes de encontrar correlação significativa entre cultura quantitativa, análise histológica e teste respiratório com <sup>13</sup>C-ureia (38). Alguns autores têm analisado o comportamento dos valores absolutos do teste respiratório <sup>13</sup>C em relação a variáveis demográficas sugerindo que os valores absolutos do teste respiratório possam variar de acordo com a idade. Estudos realizados na população infantil mostram que, tanto em crianças de 06 a 10 anos (15,39) quanto em menores de 06 anos (40,41) os valores do teste são mais elevados que nos adultos. Como justificativa deste achado são postulados uma maior densidade bacteriana observada em crianças em relação aos adultos e um tempo mais lento de esvaziamento gástrico nesta população, permitindo uma maior saturação dos sítios de urease pela ureia marcada pelo <sup>13</sup>C(15,40). Em relação aos idosos as publicações são discordantes. Alguns estudos sugerem que nos pacientes geriátricos os valores de teste respiratório são menores que nos adultos (39,40), talvez consequente à maior proporção de hipocloridria e atrofia gástrica, que se associam com baixa densidade do *H. pylori* e consequentemente baixos valores absolutos do teste respiratório (42). Cabe ressaltar entretanto que, quando comparado com os métodos invasivos para detecção do *H. pylori*, o teste respiratório apresenta acurácia de 97,8% na população idosa (43).

Ao estudar a relação do valor absoluto do teste respiratório com a variável sexo, três estudos, com amostragem de tamanho populacional, demonstraram que as mulheres apresentam valores significativamente superiores aos homens, sugerindo maior densidade da infecção no

sexo feminino (39,40,44). Shmueli et al. analisaram 7.373 resultados positivos de teste respiratório com  $^{13}\text{C}$ , sendo 4.531 mulheres com idade média de  $41,5 \pm 15,5$  anos e 2.842 homens com idade média de  $40,8 \pm 16,3$  anos. Foi utilizado a dose de 75mg de  $^{13}\text{C}$ -ureia em 200ml de suco de laranja, com amostras coletadas antes e 30min após a ingestão do substrato. A análise do material foi processada em espectrômetro de massa, sendo considerados positivos os valores  $\geq 3,5$  DOB ‰. Foram observados valores absolutos do teste significativamente maiores nas mulheres do que nos homens ( $p < 0,001$ ), com diferença idade-ajustada de 7,1 (95% CI, 6,4-7,9) (39). Zevit et al. analisaram 21.767 resultados positivos de teste respiratório com  $^{13}\text{C}$  sendo 7.847 homens e 13.866 mulheres (relação 1:1,77) com idade média de 40,6 anos. Foi utilizada a mesma metodologia do estudo de Shmueli et al. (39). Os valores absolutos do exame foram significativamente maiores nas mulheres que nos homens em todas as faixas etárias ( $p < 0,005$ ), exceto, na faixa de 6-10 anos, onde a diferença não foi significativa (40). Moshkowitz et al. analisaram 10.188 exames positivos com idade média de 38 anos, sendo 57,7% de mulheres. Foi aqui também demonstrado que o valor absoluto do teste respiratório com  $^{13}\text{C}$  foi significativamente maior nas mulheres que nos homens ( $p < 0,01$ ), com incremento médio de 10 unidades, em todas as faixas etárias dos 10 – 80 anos (44).

Uma limitação dos estudos anteriores é a ausência de informações sobre dados antropométricos como peso, altura e IMC das populações estudadas. É reconhecido que a produção endógena de  $\text{CO}_2$  é capaz de influenciar os valores absolutos do teste respiratório com  $^{13}\text{C}$ . Na realidade, o resultado do teste depende de dois processos, um deles relacionado com a bactéria (liberação de  $^{13}\text{CO}_2$  proveniente da  $^{13}\text{C}$ -ureia administrada) e outro dependente da produção endógena de  $\text{CO}_2$  pelo hospedeiro. Como o  $^{13}\text{CO}_2$  combina com o  $\text{CO}_2$  endógeno, o grau com que o  $^{13}\text{CO}_2$  é diluído irá determinar o valor do teste no ar expirado. Assim, variáveis que interferem com a produção de  $\text{CO}_2$  como idade (adultos > crianças), sexo



(homens>mulheres), peso e altura podem comprometer a interpretação dos valores absolutos encontrados na realização de testes respiratórios com  $^{13}\text{C}$  e devem ser considerados (15,25,45).

O Instituto Alfa de Gastroenterologia do Hospital das Clínicas (HC-UFMG) realiza de forma sistemática o teste respiratório  $^{13}\text{C}$  desde 1998 e conta com banco de dados de tamanho populacional. Constitui nosso objetivo estudar, em nosso meio, a relação do valor absoluto do teste respiratório e o sexo, e analisar se esta relação sofre influência de outras variáveis como idade, peso, altura e índice de massa corporal (IMC) visando trazer contribuições acerca dos aspectos epidemiológicos e patogênicos da infecção gástrica pelo *H. pylori* na espécie humana.

## REFERÊNCIAS

1. The Nobel Prize in Physiology or Medicine 2005. Disponível em : [www.nobelprize.org](http://www.nobelprize.org). Acesso em: 02 jun 2014.
2. Marshall BJ, Barrett LJ, Prakash C, McCallum RW, Guerrant RL. Urea protects *Helicobacter* (*Campylobacter*) *pylori* from the bactericidal effect of acid. *Gastroenterology*. 1990 Sep;99(3):697-702.
3. Suerbaum S, Michetti P. *Helicobacter pylori* infection. *N Engl J Med*. 2002 Oct 10;347(15):1175-86. Review.
4. World Health Organization. International Agency For Research On Cancer. IARC monographs on: The evaluation of carcinogenic risks to humans, Schistosomes, Liver Flukes and *Helicobacter pylori* – Monograph v.61. Lyon, France : International Agency for Research on Cancer, 1994: 177-241.
5. Wotherspoon AC, Doglioni C, Diss TC, Pan L, Moschini A, de Boni M, et al. Regression of primary low-grade B-cell gastric lymphoma of mucosa-associated lymphoid tissue type after eradication of *Helicobacter pylori*. *Lancet*. 1993 Sep 4;342(8871):575-7.
6. Gisbert JP, González-Lama Y. Pruebas de aliento en el diagnóstico de enfermedades digestivas. *Gastroenterol Hepatol*. 2005 Aug-Sep;28(7):407-16. Review.
7. Chey WD, Wong BC; Practice Parameters Committee of the American College of Gastroenterology. American College of Gastroenterology guideline on the management of *Helicobacter pylori* infection. *Am J Gastroenterol*. 2007 Aug;102(8):1808-25
8. Atherton JC, Spiller RC. The urea breath test for *Helicobacter pylori*. *Gut* 1994; 35: 723–725.
9. Parente F, Bianchi Porro G. The (13)C-urea breath test for non-invasive diagnosis of *Helicobacter pylori* infection: which procedure and which measuring equipment? *Eur J Gastroenterol Hepatol*. 2001 Jul;13(7):803-6. Review.
10. Kokkola A, Rautelin H, Puolakkainen P, Sipponen P, Färkkilä M, Haapiainen R, et al. Diagnosis of *Helicobacter pylori* infection in patients with atrophic gastritis: comparison of histology, 13C-urea breath test, and serology. *Scand J Gastroenterol*. 2000 Feb;35(2):138-41.
11. Perri F. Diagnosis of *Helicobacter pylori* infection: which is the best test? The urea breath test. *Dig Liver Dis*. 2000 Dec;32 Suppl 3:S196-8
12. Graham DY, Klein PD, Evans DJ Jr, Evans DG, Alpert LC, Opekun AR, et al. *Campylobacter pylori* detected noninvasively by the 13C-urea breath test. *Lancet*. 1987 May 23;1(8543):1174-7.

13. Coelho LGV, Castro LP. Testes Respiratórios com Carbono Marcado em Gastroenterologia. In: Castro LP, Coelho LGV. Gastroenterologia. São Paulo: MEDSI, 2004. 2(146): 2737-50.
14. Abt AF, von Schuching SL. Fat utilization in disorders of fat metabolism. *Bull Johns Hopkins Hosp* 1966; 119: 316-30.
15. Gisbert JP, Pajares JM. Review article: 13C-urea breath test in the diagnosis of *Helicobacter pylori* infection -- a critical review. *Aliment Pharmacol Ther.* 2004 Nov 15;20(10):1001-17. Review.
16. Coelho LG, Reber M, Passos MC, Aguiar RO, Casaes PE, Bueno ML, et al. Application of isotope-selective non-dispersive infrared spectrometry for the evaluation of the 13C-urea breath test: comparison with three concordant methods. *Braz J Med Biol Res.* 1999 Dec;32(12):1493-7.
17. Klein PD, Graham DY. Minimum analysis requirements for the detection of *Helicobacter pylori* infection by the 13C-urea breath test. *Am J Gastroenterol.* 1993 Nov;88(11):1865-9.
18. Mana F, Franken PR, Ham HR, Reynaert H, Urbain D. 13C urea breath test with nondispersive isotope-selective infrared spectrometry: reproducibility and importance of the fasting status. *Helicobacter.* 2000 Jun;5(2):104-8.
19. Logan RP. Urea breath tests in the management of *Helicobacter pylori* infection. *Gut.* 1998 Jul;43 Suppl 1:S47-50. Review.
20. Graham DY, Klein PD. Accurate diagnosis of *Helicobacter pylori*. 13C-urea breath test. *Gastroenterol Clin North Am* 2000; 29(4): 885-93.
21. Domínguez-Muñoz JE, Leodolter A, Sauerbruch T, Malfertheiner P. A citric acid solution is an optimal test drink in the 13C-urea breath test for the diagnosis of *Helicobacter pylori* infection. *Gut.* 1997 Apr;40(4):459-62.
22. Kawakami E, Machado RS, Reber M, Patrício FR. 13 C-urea breath test with infrared spectroscopy for diagnosing *helicobacter pylori* infection in children and adolescents. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2002 Jul;35(1):39-43.
23. Moshkowitz M, Konikoff FM, Peled Y, Santo M, Hallak A, Bujanover Y, et al. High *Helicobacter pylori* numbers are associated with low eradication rate after triple therapy. *Gut.* 1995 Jun;36(6):845-7.
24. Atherton JC. Non-endoscopic tests in the diagnosis of *Helicobacter pylori* infection. *Aliment Pharmacol Ther.* 1997 Apr;11 Suppl 1:11-20. Review.
25. Gisbert JP, Olivares D, Jimenez I, Pajares JM. Is there any correlation between 13C-urea breath test values and response to first-line and rescue *Helicobacter pylori* eradication therapies? *Dig Liver Dis.* 2006 Apr;38(4):254-9.

26. Atherton JC, Washington N, Blackshaw PE, Greaves JL, Perkins AC, Hawkey CJ, et al. Effect of a test meal on the intragastric distribution of urea in the <sup>13</sup>C-urea breath test for *Helicobacter pylori*. *Gut*. 1995 Mar;36(3):337-40.
27. Dunn BE, Campbell GP, Perez-Perez GI, Blaser MJ. Purification and characterization of urease from *Helicobacter pylori*. *J Biol Chem*. 1990 Jun 5;265(16):9464-9
28. Mobley HL, Cortesia MJ, Rosenthal LE, Jones BD. Characterization of urease from *Campylobacter pylori*. *J Clin Microbiol*. 1988 May;26(5):831-6.
29. Kobayashi D, Eishi Y, Ohkusa T, Ishige, Suzuki T, Minami J, et al. Gastric mucosal density of *Helicobacter pylori* estimated by real-time PCR compared with results of urea breath test and histological grading. *J Med Microbiol*. 2002 Apr;51(4):305-11.
30. Chang MC, Chang YT, Sun CT, Wu MS, Wang HP, Lin JT. Quantitative correlation of *Helicobacter pylori* stool antigen (HpSA) test with <sup>13</sup>C-urea breath test (<sup>13</sup>C-UBT) by the updated Sydney grading system of gastritis. *Hepatogastroenterology*. 2002 Mar-Apr;49(44):576-9.
31. Debongnie JC, Pauwels S, Raat A, de Meeus Y, Haot J, Mainguet P. Quantification of *Helicobacter pylori* infection in gastritis and ulcer disease using a simple and rapid carbon-14-urea breath test. *J Nucl Med*. 1991 Jun;32(6):1192-8.
32. Ellenrieder V, Glasbrenner B, Stoffels C, Weiler S, Bode G, Möller P, et al. Qualitative and semi-quantitative value of a modified <sup>13</sup>C-urea breath test for identification of *Helicobacter pylori* infection. *Eur J Gastroenterol Hepatol*. 1997 Nov;9(11):1085-9.
33. Kato M, Saito M, Fukuda S, Kato C, Ohara S, Hamada S, et al. <sup>13</sup>C-Urea breath test, using a new compact nondispersive isotope-selective infrared spectrophotometer: comparison with mass spectrometry. *J Gastroenterol*. 2004 Jul;39(7):629-34.
34. Sheu BS, Lee SC, Yang HB, Lin XZ. Quantitative result of <sup>13</sup>C urea breath test at 15 minutes may correlate with the bacterial density of *H. pylori* in the stomach. *Hepatogastroenterology*. 1999 May-Jun;46(27):2057-62.
35. Suto H, Azuma T, Ito S, Ito S, Ito Y, Miyaji H, et al. Endoscopic [<sup>13</sup>C]-urea breath test for quantification of *Helicobacter pylori* infection. *J Gastroenterol Hepatol*. 2000 Feb; 15(2):161-7.
36. Vincent P, Michaud L, Martin de Lasalle E, Benon B, Turck D, Gottrand F. <sup>13</sup>C-urea breath test and gastric mucosal colonization by *Helicobacter pylori* in children: quantitative relation and usefulness for diagnosis of infection. *Helicobacter*. 1999 Dec;4(4):233-7.
37. Auroux J, Lamarque D, Tankovic J, Benamouzig R, Mahé S, Chaumette MT, et al. [Comparison of quantifying *Helicobacter pylori* gastric infection by culture, histology and C13 urea breath test]. *Gastroenterol Clin Biol*. 1998 Apr;22(4):407-12. French.

38. Tummala S, Sheth SG, Goldsmith JD, Goldar-Najafi A, Murphy CK, Osburne MS, et al. Quantifying gastric *Helicobacter pylori* infection: a comparison of quantitative culture, urease breath testing, and histology. *Dig Dis Sci*. 2007 Feb;52(2):396-401.
39. Shmueli H, Yahav J, Samra Z, Chodick G, Ofek I. Elevated <sup>13</sup>C-urea breath test values females infected with *Helicobacter pylori*. *Dig Dis Sci*. 2007 Feb;52(2):402-4.
40. Zevit N, Niv Y, Shirin H, Shamir R. Age and gender differences in urea breath test results. *Eur J Clin Invest*. 2011 Jul;41(7):767-72.
41. Yang HR, Seo JK. Diagnostic accuracy of the C-urea breath test in children: adjustment of the cut-off value according to age. *J Gastroenterol Hepatol*. 2005 Feb;20(2):264-9.
42. Chen X, Haruma K, Kamada T, Mihara M, Komoto K, Yoshihara M, et al. Factors that affect results of the <sup>13</sup>C urea breath test in Japanese patients. *Helicobacter*. 2000 Jun;5(2):98-103.
43. Pilotto A, Franceschi M, Leandro G, Rassa M, Zagari RM, Bozzola L, et al. Noninvasive diagnosis of *Helicobacter pylori* infection in older subjects: comparison of the <sup>13</sup>C-urea breath test with serology. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*. 2000 Mar;55(3):M163-7.
44. Moshkowitz M, Horowitz N, Beit-Or A, Halpern Z, Santo E. Gender-associated differences in urea breath test for *Helicobacter pylori* infection referrals and results among dyspeptic patients. *World J Gastrointest Pathophysiol*. 2012 Jun 15;3(3):80-4.
45. Klein PD, Malaty HM, Czinn SJ, Emmons SC, Martin RF, Graham DY. Normalizing results of <sup>13</sup>C-urea breath testing for CO<sub>2</sub> production rates in children. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 1999 Sep;29(3):297-301.

## 2 ARTIGO

### **Women are more densely infected with gastric *Helicobacter pylori* than men: a <sup>13</sup>C-urea breath test database analysis**

#### **INTRODUCTION**

Colonization of the gastric mucosa by *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) is one of the most common chronic bacterial infections in humans. This infection is predominantly acquired during childhood, occurs in approximately 50% of the world's population, and is associated with factors such as age, housing conditions, occupation and socioeconomic status, among others.<sup>1,2</sup> Gastric *H. pylori* infection is now the leading cause of chronic gastritis, gastro-duodenal ulcer and gastric carcinoma. Furthermore, epidemiological and clinical evidence has linked this infection with MALT lymphomas of the stomach in a significant number of cases.<sup>3</sup>

Infection can be diagnosed by different methods, such as collection of sample during endoscopy with bacterial identification through histological examination, the urease test and culture of a gastric fragment, or non-endoscopic techniques. Among these, we highlight the <sup>13</sup>C-urea breath test (UBT), which is based on the ability of the organism to produce large quantities of the enzyme urease. When administered orally, the carbon-13 or carbon-14 isotopically labelled urea will rapidly unfold by urease to CO<sub>2</sub> and water in the gastric lumen of infected individuals. In the expired air, the labelled CO<sub>2</sub> can be identified through special equipment.<sup>4</sup> UBT is considered the gold standard for identification of *H. pylori*, because it is non-invasive, non-radioactive (<sup>13</sup>C is a naturally occurring isotope), reproducible, safe (can be

performed multiple times on the same patient, including pregnant women and children) and reaches a sensitivity and specificity above 95%.<sup>4,5</sup>

In daily practice, UBT is now universally accepted for diagnosing *H. pylori* infection and monitoring its treatment in adults and children above 6 years.<sup>4</sup> The results are obtained as delta over baseline ‰ (DOB‰), indicating the shift of the  $^{13}\text{CO}_2/^{12}\text{CO}_2$  ratio brought about by the metabolic activity induced by labelled urea administration. Individuals infected with *H. pylori* may have a wide range of absolute values. Although the value of DOB‰ depends on the urease activity, controversies persist about its role as a quantitative marker of bacterial infection, since initial studies considered it to be only a qualitative marker for the presence of *H. pylori* infection.<sup>4,6-9</sup> Meanwhile, recent studies have reported higher UBT absolute values in females than in males.<sup>10-12</sup> Such findings may lead to epidemiological, clinical and therapeutic repercussions.<sup>10,12-16</sup>

Our university hospital in Belo Horizonte, Brazil, has systematically and continuously performed UBT since 1998, contributing to the development of an extensive database.<sup>5</sup> The aim of this study is to compare UBT absolute values among males and females and to evaluate their correlation with age, weight, height and body mass index (BMI), thereby helping elucidate the epidemiological and pathogenic aspects of *H. pylori* gastric infection in humans.

## **PATIENTS AND METHODS**

### **Study design**

The study involved retrospective analysis of 18,489 UBTs performed between July 1998 and November 2010. Data were initially extracted from the archive generated by the test equipment (Wagner Analysen Technik, Bremen, Germany) and stored in an EXCEL (Microsoft) spreadsheet. The variables analysed were age (years), sex, height (cm), weight (kg), BMI ( $\text{kg}/\text{m}^2$ ) and UBT absolute value (DOB‰).

Statistical analysis was performed using Minitab-16 and Excel-2007 softwares. Categorical variables were compared through the non-parametric chi-square test. The Mann–Whitney test was used to compare the medians of two independent groups. For all tests,  $\alpha = 0.05$  significance level was used. The study was approved by the ethics committee of the institution.

### **UBT**

UBT was performed according to the following procedure. After the participants fasted for 8 h, the air expired was collected in a 1.3L balloon (time 0: control). Subsequently, the participants ingested 75 mg of  $^{13}\text{C}$ -urea (Eurisotop, France, or Cambridge Isotope Laboratories, USA) in 200mL of whole apple or orange juice without added water or sugar. Expired air was collected for the second time 30 min after ingestion of the substrate. The samples were processed in an IRIS  $^{13}\text{C}$ -infrared analyser (Wagner Analysen Technik, Bremen, Germany), and the results were reported as DOB‰. As standardized previously, DOB values



$\geq 4\%$  were considered positive for *H. pylori* infection.<sup>5</sup> All patients abstained from using proton pump inhibitors for 2 weeks and antimicrobials for at least 30 days prior to UBT.

## RESULTS

### Characteristics of the study population

During the study period, 18,489 test results were analysed. Only the first examination of each patient was considered. Repeated examinations, tests with incomplete database information, tests for device calibration, tests employing different doses of  $^{13}\text{C}$ -urea and tests with results considered 'outliers' were excluded. Therefore, the final database consisted of 12,902 test results. Figure 1 shows the selection of the study population.

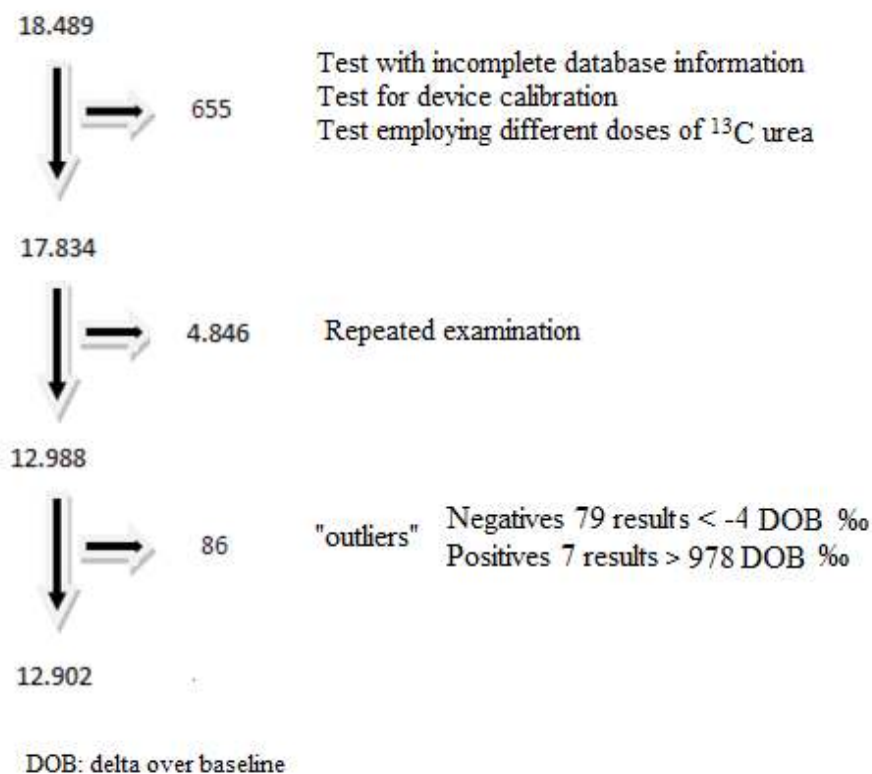


Figure 1 – Selection of the study population

Fifty-nine percent (7,612) of the total study sample (n = 12,902) was females. The population predominantly consisted of adults [mean age = 46.4 years (SD: 16.8)], with a median BMI value of 24.4 kg/m<sup>2</sup> and DOB values ranging from -3.9 to 108.1%. Among the 12,902 tests, 3,904 (30.3%) were positive, and among those, 2,226 (57%) were performed on females (Table 1).

Table 1 – Descriptive statistics of the variables DOB, BMI and age in the total population and in the positive and negative groups

	<b>Total</b>	<b>Positive</b>	<b>Negative</b>
<b>DOB (%)</b>	(n = 12,902)	(n = 3,904)	(n = 8,998)
Minimum value	-3.9	4.0	-3.9
Mean (SD)	7.6 (13.9)	24.3 (15.3)	0.4 (1.0)
Q1–Q3	0.2–10.7	13.0–32.1	-0.05–0.9
Median	0.8	20.9	0.4
Maximum value	108.1	108.1	3.9
<b>BMI (kg/m<sup>2</sup>)</b>	(n = 11488)	(n = 3,502)	(n = 7,986)
Minimum value	7.6	9.0	7.6
Mean (SD)	25.1(5.5)	25.1(5.6)	25.0 (5.5)
Q1–Q3	21.5–27.6	21.5–27.8	21.6–27.5
Median	24.4	24.5	24.3
Maximum value	65.7	64.9	65.7
<b>Age (years)</b>	(n = 11,729)	(n = 3,624)	(n = 8,105)
Minimum value	1.0	1.0	1.0
Mean (SD)	46.4 (16.8)	45.6 (16.0)	46.7 (17.1)
Q1–Q3	35.0–58.0	35.0–57.0	35.0–59.0
Median	46.0	45.0	47.0
Maximum value	96.0	96.0	95.0

DOB: delta over baseline; BMI: body mass index; Q1–Q3: interquartile range; SD: standard deviation.

Table 2 shows the median, estimated differences (95% CI) and results of the Mann–Whitney test for comparison of the variables DOB, age, height, weight and BMI between male and female patients.

Table 2 – Comparison of the variables DOB, age, height, weight and BMI between sex

Variable	Sex	
	Male	Female
<b>DOB (‰) Median</b>	18.4	23.3
ETA1–ETA2*	4.5	
(95% CI)**	3.7–5.3	
<i>p</i> value***	0.0000	
<b>Age (years) Median</b>	44	46
ETA1–ETA2*	1.00	
(IC 95%)**	0.000–3.000	
<i>p</i> value***	0.0093	
<b>Height (cm) Median</b>	170	159
ETA1–ETA2*	12	
(IC 95%)**	11–12	
<i>p</i> value***	0.0000	
<b>Weight (kg) Median</b>	70	62
ETA1–ETA2*	8.0	
(IC 95%)**	7.0–8.7	
<i>p</i> value***	0.0000	
<b>BMI (kg/m<sup>2</sup>) Median</b>	24.2	24.8
ETA1–ETA2*	0.6	
(IC 95%)**	0.3–0.9	
<i>p</i> value***	0.0093	

\*Point estimate of the population difference (median); \*\*Confidence interval of the difference;\*\*\*Mann–Whitney test

For analysis and comparison, patients with positive results (n = 3,904) were divided into 4 quartiles with increasing DOB‰ values (Table 3).

Table 3– Descriptive measures of the variable DOB% in the 3,904 positive patients subdivided into quartiles with increasing values

Descriptive Statistics	Total	Quartile			
		1	2	3	4
<b>Minimum value</b>	4.0	4.0	13.1	21	32.2
<b>Mean</b>	24.3	8.9	16.9	25.9	45.6
<b>SD</b>	15.3	2.6	2.3	3.2	12.8
<b>Median</b>	20.9	9.0	16.9	25.8	42.5
<b>Maximum value</b>	108.1	13.0	20.9	32.1	108.1

DOB: delta over baseline; SD: standard deviation

Figure 2 shows the association between sex and the different quartiles for the positive patients. As the DOB values increase, the percentage of female patients in the group of quartiles increases (chi-square test:  $p$  value = 0.000).

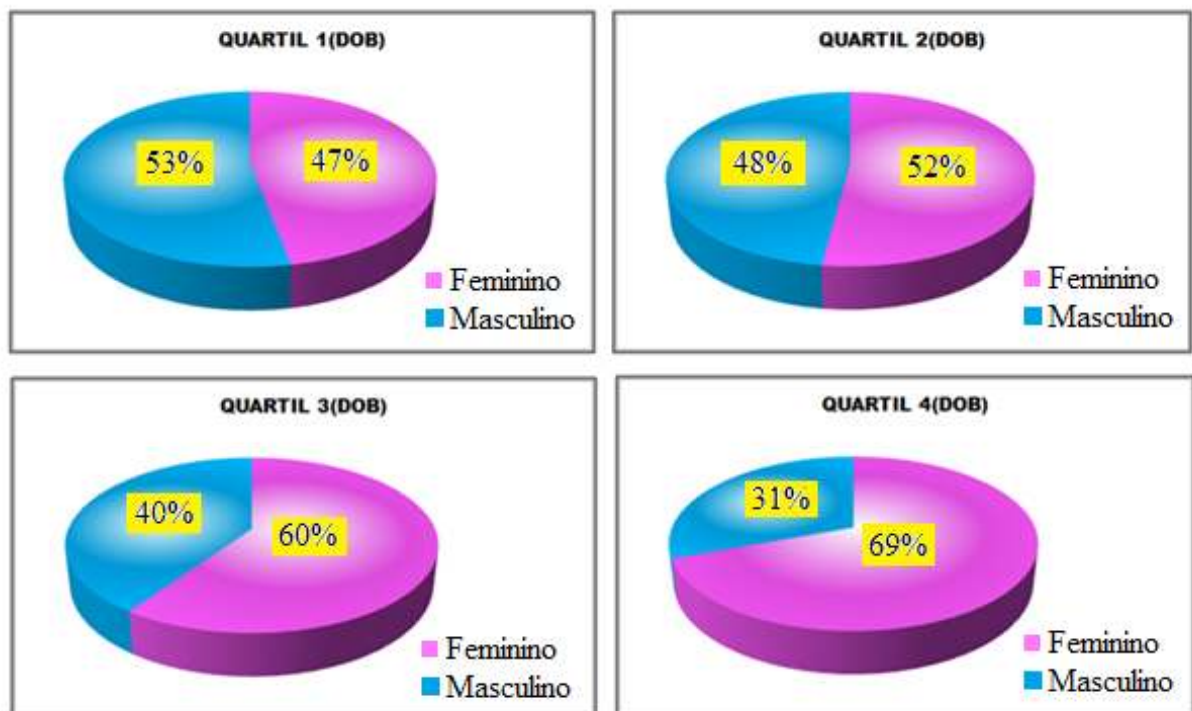


Figure 2 - Association between the increasing values of DOB% in Quartiles 1 to 4 and sex in the 3,904 positive patients

DOB: delta over baseline

Figure 3 graphically displays the comparison between the genders in relation to the DOB% median values for each age group. The DOB% median values in females were significantly higher than the corresponding values in males in all the age groups, except for the 0–10 years group, for which the analysis of 43 tests indicated no significant difference between the groups.

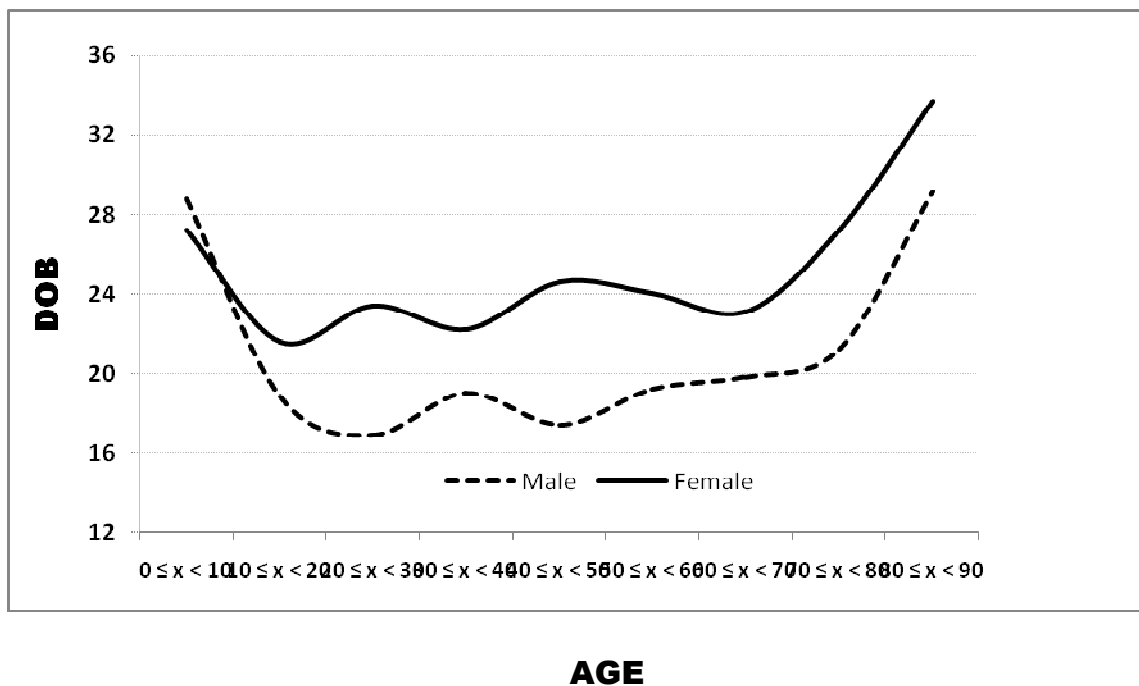


Figure 3 – Comparison of the DOB% median values in both genders and for each age group

DOB: Delta over baseline

Table 4 shows the minimum, maximum, mean, median and standard deviation of the BMI of the 3,904 positive patients and their distribution in the 4 quartiles of increasing values of DOB%. When the quartile median was adopted only minor variations in the relationship between BMI and the DOB absolute values were observed.

Table 4– Minimum, maximum, mean, median and SD values of BMI (kg/m<sup>2</sup>) of 3,904 positive patients and their distribution in the four quartiles of increasing DOB‰ values

Descriptive Statistics	BMI(kg/m <sup>2</sup> )	Quartile (DOB‰)			
		1	2	3	4
<b>Minimum value</b>	9.0	10.9	12.0	12.0	9.0
<b>Mean</b>	25.2	26.0	25.9	24.8	24.0
<b>SD</b>	5.6	6.3	5.9	5.2	4.6
<b>Median</b>	24.5	25.0	25.2	24.3	23.5
<b>Maximum value</b>	64.9	62.5	64.9	54.9	46.9

DOB: delta over baseline; BMI: body mass index; SD: standard deviation

Table 5 shows the minimum, maximum, mean, median and SD values for age of the 3,904 positive patients and their distribution in the four quartiles of increasing DOB‰ values. When the quartile median was adopted, minor variations in years with respect to the DOB value was observed.

Table 5– Minimum, maximum, mean, median and SD values for age (in years) of 3,904 positive patients and their distribution in the four quartiles of increasing DOB‰ values

Descriptive Statistics	Age (years)	Quartile (DOB)			
		1	2	3	4
<b>Minimum value</b>	1.0	4.0	3.0	2.0	1.0
<b>Mean</b>	45.6	46.0	43.9	45.3	47.1
<b>SD</b>	16.0	15.4	15.3	16.0	17.0
<b>Median</b>	45.0	46.0	43.0	45.0	47.0
<b>Maximum value</b>	96.0	96.0	89.0	89.0	89.0

DOB: delta over baseline; SD: standard deviation

## DISCUSSION

Our study revealed that the UBT absolute value is significantly higher in adult females than in males, with a significant increase of 4.53 units in the median UBT, and that these results are not influenced by age. Similar findings have been observed in three large Israeli studies using the same substrate dose and test meal.<sup>10-12</sup> In 2006, Shmuely et al.<sup>10</sup> studied 7,373 *H. pylori*-positive patients and found a significantly ( $p<0.001$ ) higher mean UBT value for females ( $24.7\pm 17.4$ ) than for males ( $17.6\pm 11.8$ ) aged 10–80 years, with an age-adjusted difference of 7.1 (95% CI, 6.4–7.9) between sex. Zevit et al.<sup>11</sup> studied 21,767 UBT values from *H. pylori*-positive patients and found that the male/female ratio was 1:1.77, the mean age was 40.6 years and the mean positive UBT value was 20.4. The results were analysed according to age groups varying from 3–5 years until 81–100 years. At all time points evaluated, the UBT values in females were significantly higher than those in males ( $p<0.005$ ), except for the 6- to 10-year-old age group, for which the same tendency was observed but without a significant difference. In 2012, Moshkowitz M et al.<sup>12</sup> studied 10,188 patients with *H. pylori*-positive UBT and found a significant increase of approximately 10 units in the mean UBT values among females compared with that in males. They also found that the difference remained constant for all age groups between 10 and 80 years ( $p<0.01$  for each). Overall, these four studies involving 43,232 *H. pylori*-positive UBT cases clearly show significantly higher values for females than for males in all the adult age groups evaluated (Figure 4). However, in the infant population (1–10 years), these results were not homogeneous. In the present study consisting of only 21 boys and 22 girls, the median DOB value was 28.37 and 27.43, respectively. The point estimate for the difference was  $-0.20\%$  (95% CI:  $-9.51-8.49$ ,  $p=0.99$ ) using the Mann–Whitney test. Similar results were observed in the study by Zevit et al., in the group aged 6–10 years.<sup>11</sup> Further studies with a larger number of participants are needed to evaluate the performance of DOB in the infant population.

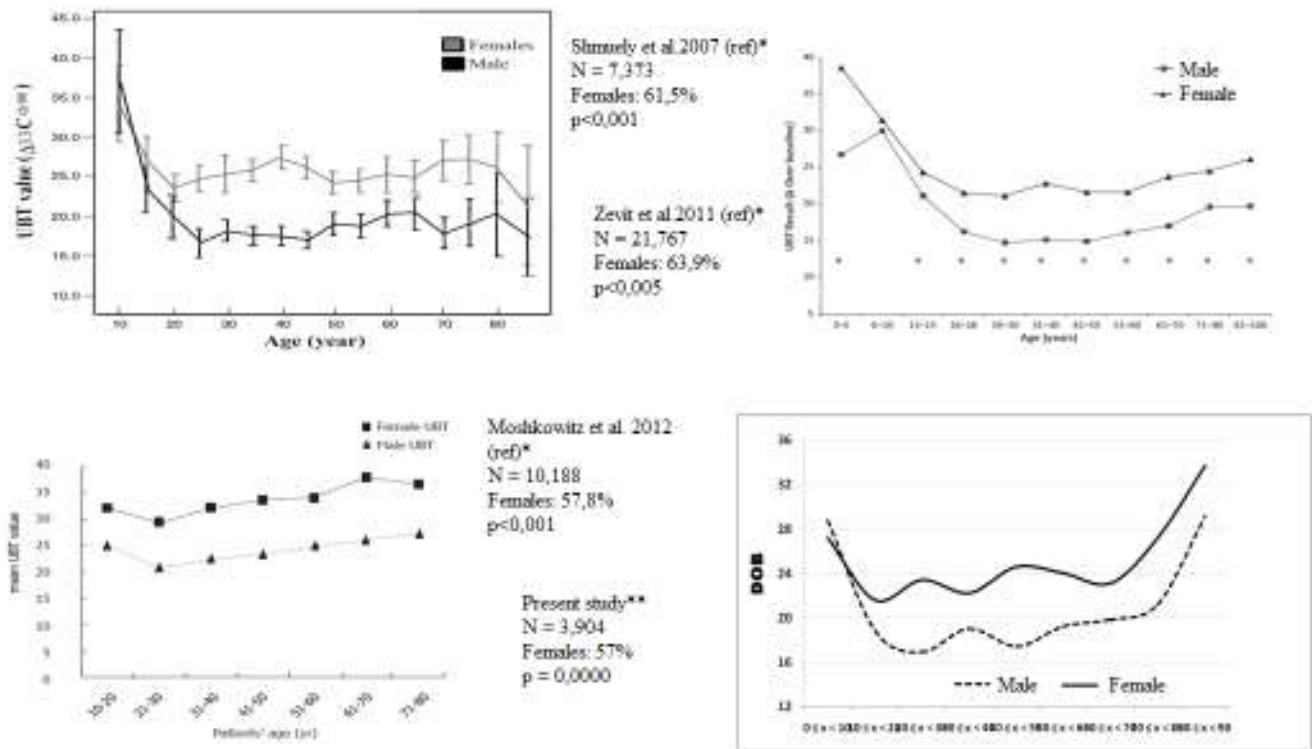


Figure 4– UBT values in males and females according to age group in four different studies involving 43,232 patients.

DOB: Delta over baseline; UBT:  $^{13}\text{C}$  urea breath test; \* mean values; \*\* median values

These findings suggest an increased potential of UBT to quantitatively assess *H. pylori* gastric infection. The absolute UBT values are a function of the total urease present in the stomach and, theoretically, should quantitatively reflect the density of gastric *H. pylori* colonization.<sup>7,17</sup> However, previous studies have refuted this possibility by primarily considering differences in the  $\text{CO}_2$  production between subjects<sup>4,18</sup> and the wide variation in the urease activity between *H. pylori* strains *in vitro*.<sup>8,9</sup> Moreover, the unknown contribution of endogenous urea to the substrate pool and the large variation in the delivery of urea across the stomach surface<sup>4,17-19</sup> have limited the validation of UBT as a quantitative test.



CO<sub>2</sub> production can influence DOB values because the endogenous CO<sub>2</sub> can dilute the tracer and thereby reduce DOB in patients with decreased CO<sub>2</sub> production. However, age (adults>children), sex (males>females), weight and height are considered more relevant variables.<sup>4,20</sup> In fact, UBT outcomes are the result of two processes, one arising from the bacterial organism liberating pure <sup>13</sup>CO<sub>2</sub> from the administered <sup>13</sup>C-urea and the other from the host. Because labelled CO<sub>2</sub> combines with naturally abundant respiratory CO<sub>2</sub>, the degree to which <sup>13</sup>CO<sub>2</sub> is diluted by host CO<sub>2</sub> determines the value of UBT in the exhaled breath. In an average adult, it is estimated that the presence of infection results in a change from 10,882 ppm to 10,908 ppm of <sup>13</sup>C in CO<sub>2</sub>, a change of only 26 ppm, and reflects the relative contributions of both processes.<sup>20</sup> For the first time, our results suggest that in 3,902 *H. pylori*-positive UBT patients, the minimal differences observed in the anthropometric variables, including median age, height, weight and BMI values, should not be a consequence of the differences in the endogenous CO<sub>2</sub> production and responsible for the significantly higher DOB values found in females.

Although urease activity can vary among bacterial strains, as described previously,<sup>8,9</sup> and may compromise the role of UBT as a quantitative marker, several studies have investigated the correlation between UBT values and the *H. pylori* load assessed by culture, histology or molecular methods<sup>6,21-27</sup> and found correlation coefficients ranging from 0.56 to 0.74,<sup>28</sup> except in two studies.<sup>29,30</sup> Considering a large database for both male and female subjects, as the one used in the present study, even assuming the occurrence of *in vitro* variations in urease activity between *H. pylori* strains, there is no reason to believe that the strains with higher urease activity preferentially infect females, and we should interpret higher urease values as higher bacterial density.

The correlation between UBT values and response to treatment is still debatable. In this respect, many studies claim that high UBT values can be considered predictors of the severity of gastritis and low *H. pylori* eradication rates.<sup>7,31-37</sup> However, in a large study, the mean delta values of UBT at the pre-treatment were not significantly different among patients who later achieved eradication success or failure.<sup>18</sup> To support the biological plausibility of our findings, females with a higher bacterial density should have, at least as a group, poorer responses to treatment than males. Accordingly, previous studies, including a larger and randomized controlled trial, have shown that *H. pylori* eradication has been less successful in females.<sup>16,38</sup> In this respect, the increased prevalence of 5-nitroimidazole-resistant organisms in females and sex differences in gastric physiology are speculated as causal factors.<sup>16,38</sup> This study and others<sup>10-12</sup> propose that a higher bacterial density in females helps explain these findings. However, this hypothesis warrants further investigation.

The reasons for an increased bacterial load among females are still largely unknown. Hormonal changes do not appear to play an important role, considering that differences were observed in adults of all ages. Moreover, variations in the size of the stomach between sex do not seem to be relevant.<sup>39</sup>

The higher bacterial density in females infected by *H. pylori* may have epidemiological, clinical and therapeutic implications. Mothers play a key role in the transmission of *H. pylori* to their children,<sup>13,40,41</sup> owing to the intimate and prolonged contact of the infected mother with the child. Our findings indicate an additional factor for the potential infectivity of mothers and, possibly, other females involved in childcare, suggesting that *H. pylori* treatment in this population could help reduce or prevent transmission of infection to children.

In conclusion, *H. pylori*-positive adult females have significantly higher UBT values than infected males, suggesting that females are more severely infected than males. This finding might have clinical consequences. Epidemiological and therapeutic studies associated with *H. pylori* infection should consider the findings reported here. Further studies should be conducted to elucidate the higher gastric *H. pylori* load observed in adult females than in males.

## REFERENCES

1. Howden CW, Hunt RH. Guidelines for the management of *Helicobacter pylori* infection. Ad Hoc Committee on Practice Parameters of the American College of Gastroenterology. *Am J Gastroenterol*. 1998 Dec;93(12):2330-8
2. Malfertheiner P, Megraud F, O'Morain C, Bazzoli F, El-Omar E, Graham D, et al. Current concepts in the management of *Helicobacter pylori* infection: the Maastricht III Consensus Report. *Gut*. 2007 Jun;56(6):772-81
3. Suerbaum S, Michetti P. *Helicobacter pylori* infection. *N Engl J Med*. 2002 Oct 10;347(15):1175-86. Review.
4. Gisbert JP, Pajares JM. Review article: <sup>13</sup>C-urea breath test in the diagnosis of *Helicobacter pylori* infection -- a critical review. *Aliment Pharmacol Ther*. 2004 Nov 15;20(10):1001-17. Review.
5. Coelho LG, Reber M, Passos MC, Aguiar RO, Casaes PE, Bueno ML, et al. Application of isotope-selective non-dispersive infrared spectrometry for the evaluation of the <sup>13</sup>C-urea breath test: comparison with three concordant methods. *Braz J Med Biol Res*. 1999 Dec;32(12):1493-7.
6. Kobayashi D, Eishi Y, Ohkusa T, Ishige, Suzuki T, Minami J, et al. Gastric mucosal density of *Helicobacter pylori* estimated by real-time PCR compared with results of urea breath test and histological grading. *J Med Microbiol*. 2002 Apr;51(4):305-11.
7. Moshkowitz M, Konikoff FM, Peled Y, Santo M, Hallak A, Bujanover Y, et al. High *Helicobacter pylori* numbers are associated with low eradication rate after triple therapy. *Gut*. 1995 Jun;36(6):845-7.
8. Mobley HL, Cortesia MJ, Rosenthal LE, Jones BD. Characterization of urease from *Campylobacter pylori*. *J Clin Microbiol*. 1988 May;26(5):831-6.
9. Dunn BE, Campbell GP, Perez-Perez GI, Blaser MJ. Purification and characterization of urease from *Helicobacter pylori*. *J Biol Chem*. 1990 Jun 5;265(16):9464-9.
10. Shmueli H, Yahav J, Samra Z, Chodick G, Ofek I. Elevated <sup>13</sup>C urea breath test values females infected with *Helicobacter pylori*. *Dig Dis Sci*. 2007 Feb;52(2):402-4.
11. Zevit N, Niv Y, Shirin H, Shamir R. Age and gender differences in urea breath test results. *Eur J Clin Invest*. 2011 Jul;41(7):767-72.
12. Moshkowitz M, Horowitz N, Beit-Or A, Halpern Z, Santo E. Gender-associated differences in urea breath test for *Helicobacter pylori* infection referrals and results among dyspeptic patients. *World J Gastrointest Pathophysiol*. 2012 Jun 15;3(3):80-4.
13. Kitagawa M, Natori M, Katoh M, Sugimoto K, Omi H, Akiyama Y, et al. Maternal transmission of *Helicobacter pylori* in the perinatal period. *J Obstet Gynaecol Res*. 2001 Aug;27(4):225-30.

14. Rothenbacher D, Winkler M, Gonser T, Adler G, Brenner H. Role of infected parents in transmission of helicobacter pylori to their children. *Pediatr Infect Dis J*. 2002 Jul;21(7):674-9.
15. Parsonnet J, Friedman GD, Vandersteen DP, Chang Y, Vogelman JH, Orentreich N, et al. Helicobacter pylori infection and the risk of gastric carcinoma. *N Engl J Med*. 1991 Oct 17;325(16):1127-31.
16. Moayyedi P, Feltbower R, Crocombe W, Mason S, Atha P, Brown J, et al. The effectiveness of omeprazole, clarithromycin and tinidazole in eradicating Helicobacter pylori in a community screen and treat programme. Leeds Help Study Group. *Aliment Pharmacol Ther*. 2000 Jun;14(6):719-28.
17. Atherton JC. Non-endoscopic tests in the diagnosis of Helicobacter pylori infection. *Aliment Pharmacol Ther*. 1997 Apr;11 Suppl 1:11-20. Review.
18. Gisbert JP, Olivares D, Jimenez I, Pajares JM. Is there any correlation between 13C-urea breath test values and response to first-line and rescue Helicobacter pylori eradication therapies? *Dig Liver Dis*. 2006 Apr;38(4):254-9.
19. Atherton JC, Washington N, Blackshaw PE, Greaves JL, Perkins AC, Hawkey CJ, et al. Effect of a test meal on the intragastric distribution of urea in the 13C-urea breath test for Helicobacter pylori. *Gut*. 1995 Mar;36(3):337-40.
20. Klein PD, Malaty HM, Czinn SJ, Emmons SC, Martin RF, Graham DY. Normalizing results of 13C-urea breath testing for CO<sub>2</sub> production rates in children. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 1999 Sep;29(3):297-301.
21. Chang MC, Chang YT, Sun CT, Wu MS, Wang HP, Lin JT. Quantitative correlation of Helicobacter pylori stool antigen (HpSA) test with 13C-urea breath test (13C-UBT) by the updated Sydney grading system of gastritis. *Hepatogastroenterology*. 2002 Mar-Apr;49(44):576-9.
22. Debonnie JC, Pauwels S, Raat A, de Meeus Y, Haot J, Mainguet P. Quantification of Helicobacter pylori infection in gastritis and ulcer disease using a simple and rapid carbon-14-urea breath test. *J Nucl Med*. 1991 Jun;32(6):1192-8.
23. Ellenrieder V, Glasbrenner B, Stoffels C, Weiler S, Bode G, Möller P, et al. Qualitative and semi-quantitative value of a modified 13C-urea breath test for identification of Helicobacter pylori infection. *Eur J Gastroenterol Hepatol*. 1997 Nov;9(11):1085-9.
24. Kato M, Saito M, Fukuda S, Kato C, Ohara S, Hamada S, et al. 13C-Urea breath test, using a new compact nondispersive isotope-selective infrared spectrophotometer: comparison with mass spectrometry. *J Gastroenterol*. 2004 Jul;39(7):629-34.
25. Sheu BS, Lee SC, Yang HB, Lin XZ. Quantitative result of 13C urea breath test at 15 minutes may correlate with the bacterial density of H. pylori in the stomach. *Hepatogastroenterology*. 1999 May-Jun;46(27):2057-62.

26. Suto H, Azuma T, Ito S, Ito S, Ito Y, Miyaji H, et al. Endoscopic [C-13]-urea breath test for quantification of *Helicobacter pylori* infection. *J Gastroenterol Hepatol*. 2000 Feb; 15(2):161–7.
27. Vincent P, Michaud L, Martin de Lasalle E, Benon B, Turck D, et al. 13C-urea breath test and gastric mucosal colonization by *Helicobacter pylori* in children: quantitative relation and usefulness for diagnosis of infection. *Helicobacter*. 1999 Dec;4(4):233-7.
28. Mégraud F, Lehours P. *Helicobacter pylori* detection and antimicrobial susceptibility testing. *Clin Microbiol Rev*. 2007 Apr;20(2):280-322. Review.
29. Auroux J, Lamarque D, Tankovic J, Benamouzig R, Mahé S, Chaumette MT, et al. [Comparison of quantifying *Helicobacter pylori* gastric infection by culture, histology and C13 urea breath test]. *Gastroenterol Clin Biol*. 1998 Apr;22(4):407-12. French.
30. Tummala S, Sheth SG, Goldsmith JD, Goldar-Najafi A, Murphy CK, Osburne MS, et al. Quantifying gastric *Helicobacter pylori* infection: a comparison of quantitative culture, urease breath testing, and histology. *Dig Dis Sci*. 2007 Feb;52(2):396-401.
31. Coelho LGV, Passos MCF, Chausson Y, Fernandes MLM, Franco G, Castro LP. Can 14C-urea breath test predict *H. pylori* response to treatment? *Acta Gastroenterol Belg* 1993;56(Suppl): 132.
32. Sheu BS, Yang HB, Su IJ, Shiesh SC, Chi CH, Lin XZ. Bacterial density of *Helicobacter pylori* predicts the success of triple therapy in bleeding duodenal ulcer. *Gastrointest Endosc*. 1996 Dec;44(6):683-8.
33. Perri F, Festa V, Clemente R, Andriulli A. Bacterial density of *Helicobacter pylori* predicts the success of triple therapy in bleeding duodenal ulcer. *Gastrointest Endosc*. 1997 Sep;46(3):287.
34. Perri F, Clemente R, Festa V, Quitadamo M, Conoscitore P, Niro G, et al. Relationship between the results of pre-treatment urea breath test and efficacy of eradication of *Helicobacter pylori* infection. *Ital J Gastroenterol Hepatol*. 1998 Apr;30(2):146-50.
35. Maconi G, Parente F, Russo A, Vago L, Imbesi V, Bianchi Porro G. Do some patients with *Helicobacter pylori* infection benefit from an extension to 2 weeks of a proton pump inhibitor-based triple eradication therapy? *Am J Gastroenterol*. 2001 Feb;96(2):359-66.
36. Lai YC, Yang JC, Huang SH. Pre-treatment urea breath test results predict the efficacy of *Helicobacter pylori* eradication therapy in patients with active duodenal ulcers. *World J Gastroenterol*. 2004 Apr 1;10(7):991-4.
37. Matthews GM, Cummins AG, Lawrence A, Johnson B, Campbell F, Butler RN. 13C-urea breath test: reproducibility and association with the severity of *Helicobacter pylori*-associated antral gastritis. *J Gastroenterol Hepatol*. 2005 Feb;20(2):270-4.

38. Moayyedi P, Chalmers DM, Axon AT. Patient factors that predict failure of omeprazole, clarithromycin, and tinidazole to eradicate *Helicobacter pylori*. *J Gastroenterol*. 1997 Feb;32(1):24-7.
39. Cox AJ. Variations in Size of the Human Stomach. *Cal West Med*. 1945 Dec;63(6):267-8.
40. Salih BA. *Helicobacter pylori* infection in developing countries: the burden for how long? *Saudi J Gastroenterol*. 2009 Jul-Sep;15(3):201-7.
41. Weyermann M, Adler G, Brenner H, Rothenbacher D. The mother as source of *Helicobacter pylori* infection. *Epidemiology*. 2006 May;17(3):332-4.

### 3 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A análise do banco de dados do Laboratório de Testes Respiratórios do Instituto Alfa de Gastroenterologia do Hospital das Clínicas da UFMG possui significado especial em minha vida acadêmica e profissional. Tendo lá atuado como bolsista de iniciação científica durante minha graduação em medicina tive oportunidade de trabalhar em diferentes projetos de pesquisa que culminaram com apresentações em Semanas de Iniciação Científica da UFMG, congressos regionais, nacionais e internacionais de gastroenterologia, além de publicação de artigo completo em periódico nacional. Nasceu aí minha determinação em abraçar a gastroenterologia como especialidade e retornar à academia para a pós-graduação e atuação profissional.

Os dados obtidos nesse banco de dados extrapolam os resultados apresentados na dissertação e merecerão estudos futuros. Por exemplo, um fato ainda controverso na literatura especializada é a definição do ponto de corte (*cut-off*) ideal entre indivíduos considerados positivos e negativos ao teste respiratório com  $^{13}\text{C}$ -ureia. Isto porque, embora o teste possua elevada acurácia, permanece controversa a interpretação dos resultados de pequena parcela de pacientes cujos resultados se situam muito próximos do ponto de corte estabelecido pelos diferentes grupos de estudo. Por definição denominamos “zona cinzenta” aqueles resultados compreendidos entre os valores de DOB situados entre 2,5 e 5,0‰, faixa de valores onde a presença do *H. pylori*, idealmente, deveria ser confirmada por outro método propedêutico. Nosso estudo identificou 345 pacientes, 2,67% de nossa amostra, com valores situados nesta faixa. Uma análise cuidadosa de todas as variáveis desta população vem sendo já feita,



cotejando-a com o restante de nossa amostra, e poderá trazer subsídios importantes para a melhor compreensão desses achados.

Embora nossos dados avaliassem majoritariamente a população adulta, encontramos nos pacientes até 10 anos de idade, resultados diferentes daqueles obtidos em todas as faixas etárias no tocante aos valores de DOB em relação ao sexo, já que não encontramos diferenças significativas nesta variável na população infantil. Embora tais dados tenham como limitação a baixa amostragem (n=43, 21 masculinos, 22 femininos), tais achados justificam o prosseguimento de estudos nesta faixa etária. Cumpre lembrar que a aquisição da infecção ocorre, quase sempre, até os 10 anos de idade. Estudos com maior amostragem, preferencialmente com desenho multicêntrico com foco na população pediátrica, e procedendo uma estratificação minuciosa de variáveis epidemiológicas poderão contribuir para melhor compreensão dos achados observados na população adulta.

Finalmente, os desafios encontrados na análise deste grande banco de dados associado ao amadurecimento científico adquirido nas disciplinas cursadas durante o mestrado, e no convívio diuturno, em ambientes diversos, com colegas, professores e pesquisadores de diferentes áreas da Universidade reforçaram em mim a certeza do desejo de continuar a trilhar este fascinante caminho da pesquisa médica.