

UNIVERSIDAD NACIONAL DE RÍO CUARTO
FACULTAD DE AGRONOMÍA Y VETERINARIA

Trabajo Final presentado para optar al Grado de Médico
Veterinario

Modalidad: Monografía

Helicobacter GÁSTRICOS EN PERROS Y GATOS

SIBILLA MARIA LOURDES

37.187.629

Director: Guendulain Corina

Río Cuarto - Córdoba

2017

UNIVERSIDAD NACIONAL DE RÍO CUARTO
FACULTAD DE AGRONOMÍA Y VETERINARIA
CERTIFICADO DE APROBACIÓN

Título del Trabajo Final:

Autor:

DNI:

Director:

Co-Director:

Aprobado y corregido de acuerdo con las sugerencias de la
Comisión Evaluadora:

Prof. Ma. Sandra Babini _____

Prof. Virginia Macloughlin _____

MV Corina Guendulain _____

Fecha de Presentación: ____/____/____

Secretario Académico

INDICE GENERAL

RESUMEN.....	V
SUMMARY	¡Error! Marcador no definido.
INTRODUCCIÓN	1
OBJETIVOS	2
OBJETIVO GENERAL.....	2
OBJETIVOS PARTICULARES:.....	2
HISTORIA	3
CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS Y FACTORES DE VIRULENCIA	3
ESPECIES.....	5
<i>H. heilmannii</i>	5
<i>H. felis</i>	5
<i>H. bizzozeronii</i>	6
<i>H. salomonis</i>	7
<i>H. cynogastricus</i>	7
<i>H. baculiformis</i>	7
<i>H. ailurogastrico</i>	8
PREVALENCIA.....	8
EPIDEMIOLOGÍA Y TRANSMISIÓN	8
UBICACIÓN	9
SIGNOS CLÍNICOS	10
HALLAZGOS ENDOSCÓPICOS.....	10
HALLAZGOS HISTOPATOLÓGICOS	10
DIAGNÓSTICO	12
Citología por cepillado.....	12
Prueba de ureasa.....	13
Examen histológico.....	14
Microscopía electrónica	15
Pruebas serológicas	17

Cultivo.....	17
Prueba de urea en aliento (UBT).....	17
PCR.....	18
Detección en heces.....	18
TRATAMIENTO.....	19
CONCLUSIONES.....	20
BIBLIOGRAFÍA.....	20

ÍNDICE DE FIGURAS Y FOTOS

Foto1	7
Foto 2	8
Foto 3	8
Foto 4	9
Figura 1	11
Foto 5	13
Foto 6	13
Foto 7	15
Foto 8	15
Foto 9	16
Foto 10	17
Foto 11	17
Foto 12	18
Foto 13	19
Foto 14	21

RESUMEN

El vómito crónico en el perro y en el gato es un motivo frecuente de consulta en la clínica de pequeños animales como signo de gastropatía crónica. Son muchas las causas de estas patologías gástricas y, en ocasiones, es difícil llegar al diagnóstico etiológico, debiendo recurrir en la mayoría de los casos a la exploración endoscópica de la mucosa gástrica y al estudio histopatológico de la biopsia obtenida. A través de este estudio se puede reconocer la gastritis crónica superficial, la gastritis crónica atrófica, la gastritis crónica eosinofílica, la gastritis crónica antral y las neoplasias gástricas. Las bacterias de localización gástrica, pertenecientes al género *Helicobacter* (*H*), también se han sugerido como factor etiológico de las gastritis crónicas (Guilford y Strombeck, 1996). La prevalencia de *Helicobacter* spp. en perros y gatos es alta y varía según se trate de animales clínicamente sanos o con signos digestivos (Quiroga *et al.*, 2009; Polanco *et al.*, 2011; Amorim *et al.*, 2015), pero la relación que existe entre estas bacterias y la enfermedad gástrica es poco clara, ya que la gastritis acompaña la infección en algunos, pero no en todos los perros y gatos, y muchos no tienen signos clínicos a pesar de la infección (Diker *et al.*, 2002; Gómez y Orozco, 2003). El objetivo de este trabajo es investigar la importancia del género *Helicobacter* en la producción de patologías gástricas en perros y gatos.

SUMMARY

Chronic vomiting in dogs and cats is a frequent reason for consultation in the small animal clinic as a sign of chronic gastropathy. There are many causes of these gastric pathologies and, sometimes, it is difficult to arrive at the etiological diagnosis, having to resort in the majority of the cases to the endoscopic exploration of the gastric mucosa and the histopathological study of the biopsy obtained. Through this study, chronic superficial gastritis, chronic atrophic gastritis, chronic eosinophilic gastritis, chronic antral gastritis and gastric neoplasms can be recognized. Gastric localization bacteria, belonging to the genus *Helicobacter* (*H*), have also been suggested as the etiological factor of chronic gastritis (Guilford and Strombeckc, 1996). The prevalence of *Helicobacter* spp. In dogs and cats is high and varies according to whether they are clinically healthy animals or with digestive signs (Quiroga *et al.*, 2009; Polanco *et al.*, 2011; Amorim *et al.*, 2015), but the relationship between these bacteria and disease Gastric disease is unclear, since gastritis accompanies infection in some, but not in all dogs and cats, and many do not have clinical signs despite infection (Diker *et al.*, 2002; Gómez and Orozco, 2003). The objective of this work is to investigate the importance of the genus *Helicobacter* in the production of gastric pathologies in dogs and cats.

INTRODUCCIÓN

El vómito crónico es, en el perro y en el gato, un motivo frecuente de consulta en la clínica de pequeños animales como signo de gastropatía crónica. Hay muchas causas, tanto digestivas como no digestivas (dietéticas, fármacos, tóxicos, enfermedades metabólicas o sistémicas, enfermedades neurológicas, etc.) que producen esta signología, y se requiere, en general, de un examen clínico exhaustivo para poder llegar a un diagnóstico etiológico, debiendo recurrir en la mayoría de los casos a la exploración endoscópica de la mucosa gástrica y al estudio histopatológico de la biopsia obtenida. A través de este estudio se pueden reconocer la gastritis crónica superficial, la gastritis crónica atrófica, la gastritis crónica eosinofílica, la gastritis crónica antral y las neoplasias gástricas. Las bacterias de localización gástrica, pertenecientes al género *Helicobacter* (*H*), se han sugerido también como factor etiológico de las gastritis crónicas (Guilford y Strombeck, 1996). Estas bacterias son Gram negativas, de forma curvada o espiralada, microaerófilas, productoras de ureasa, proteinasas y lipasas y muy móviles, debido a la presencia de flagelos que le facilitan su penetración y movimiento dentro de la capa mucosa (Rappin, 1881).

El grupo de especies de *Helicobacter* que colonizan la mucosa de perros y gatos son: *H. felis*, *H. bizzozeronii*, *H. salomonis*, *H. cynogastricus*, *H. baculiformis* y *H. heilmannii sensu stricto* (*s.s.*) (Haesebrouck *et al.*, 2011) y son comunes las infecciones mixtas involucrando diferentes especies (Van den Bulck *et al.*, 2005; Ekman *et al.*, 2013). Actualmente, para mencionar a estas bacterias cuando son identificadas por su morfología y no a nivel de especie, se utiliza el término *Helicobacter* no *H. pylori* “non-*H. pylori Helicobacter*” (NHPH).

La prevalencia de NHPH en perros es alta y varía de un 67% a un 100% según se trate de perros clínicamente sanos o con signos digestivos (Hermanns *et al.*, 1995; Hwang *et al.*, 2002). En gatos la prevalencia varía entre 41 a 100% (Eaton *et al.*, 1996; Jalava *et al.*, 1998; Happonen *et al.*, 1998; Simpson, 1998; Diker *et al.*, 2002; Hwang *et al.*, 2002; Van den Bulck *et al.*, 2005; Quiroga *et al.*, 2009; Polanco *et al.*, 2011; Amorim *et al.*, 2015). Aunque la presencia de NHPH en perros y gatos es alta, se desconoce su rol en la patogenia de la enfermedad gástrica, debido a que no está clara la relación existente entre la presencia de esta bacteria y la patología, ya que algunos animales infectados presentan signos clínicos evidentes y otros no (Diker *et al.*, 2002; Gómez y Orozco, 2003).

Por otra parte, se han detectado cambios histopatológicos en perros y gatos infectados con signos digestivos, pero también en otros clínicamente sanos (Hermanns *et al.*, 1995; Simpson y Burrows, 1999).

Los métodos diagnósticos para las NHPH pueden ser invasivos y no invasivos, pero el más utilizado es la histopatología, donde las bacterias se reconocen fácilmente usando tinciones de Hematoxilina-Eosina, Giemsa o tinciones con plata. Su valor diagnóstico radica en que, además de identificar la bacteria, permite visualizar las alteraciones de la mucosa gástrica (Scanziani *et al.*, 2001; Mandado Pérez *et al.*, 2003).

Los protocolos de tratamiento en animales de compañía se basan en los que han resultado efectivos contra *H. pylori* en humanos, combinando un inhibidor de la bomba de protones y antimicrobianos, aunque algunos de estos regímenes causan sólo supresión transitoria en vez de erradicación de la bacteria en perros y gatos (Strauss-Ayali y Simpson, 1999).

Esta infección es, además, de importancia en la salud pública, ya que se considera de riesgo zoonótico, debido a que se han aislado en pacientes humanos especies de NHPH que habitan normalmente en la mucosa gástrica de perros y gatos (Lekunze Fritz *et al.*, 2006; De Bock *et al.*, 2007; Yakoob *et al.*, 2012).

El objetivo de este trabajo es investigar la importancia del género *Helicobacter* en la producción de patologías gástricas en perros y gatos.

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL:

-Investigar la importancia del género *Helicobacter* en la producción de patologías gástricas en perros y gatos.

OBJETIVOS PARTICULARES:

- Adquirir destreza en la búsqueda y selección bibliográfica.
- Lograr entrenamiento en la lectura y escritura de textos científicos.
- Estudiar las distintas especies de *Helicobacter* presentes en la mucosa gástrica de perros y gatos.

HISTORIA

Los organismos espirales han sido descritos en la mucosa gástrica de gatos y perros desde el siglo XIX y se consideran habitantes comunes de dicha mucosa (Happonen *et al.*, 1996)

En el año 1881 Rappin reportó la presencia de organismos espiralados en el estómago de perros (Rappin, 1881), y en el año 1893 el investigador italiano Giulio Bizzozero confirmó el descubrimiento hecho por Rappin, y señaló que estas bacterias se asociaban con las células parietales del estómago del perro (Bizzozero, 1893). En 1896, Salomon, luego de un importante estudio, describió tres bacterias espiraladas, morfológicamente diferentes, encontradas en la mucosa gástrica de perros y gatos, y logró además, transmitir la infección a ratones al inocularles raspados gástricos en forma experimental (Salomon, 1896).

Después del desarrollo de las técnicas de microscopía electrónica y de biología molecular, se describieron distintas especies de bacterias *Helicobacter* dentro de la mucosa gástrica canina y felina (Weber y Schmittiel, 1962; Lockard y Boler, 1970).

CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS Y FACTORES DE VIRULENCIA

Helicobacter spp. son bacterias Gram negativas, de forma curvada o espiralada, microaerófilas, productoras de ureasa, y muy móviles debido a la presencia de múltiples flagelos en uno o en ambos polos (Rappin, 1881). Al menos 24 especies han sido reportadas (Fox JG, 2002), las cuales tienen genes productores de ureasa, que al desdoblar la urea, genera amoníaco, originando una cubierta alcalina a su alrededor, lo que le permite sobrevivir en el medioambiente ácido del estómago (Heilmann y Borchard, 1991; Hermanns *et al.*, 1995; Hänninen *et al.*, 1996). Esta enzima se localiza principalmente en el citoplasma de las bacterias, pero también en su superficie, y constituye un mecanismo importante de supervivencia para la colonización del estómago (Marcus y Scott, 2001); tiene dos subunidades, *ureA* y *UreB* y en *H. felis*, se ha detectado un segundo sistema de ureasa, *UreA2B2*, pero se desconoce su función y regulación (Pot *et al.*, 2007).

Además, producen enzimas proteinasas y lipasas, que les permiten obtener nutrientes para su desarrollo, reducir la viscosidad del mucus gástrico y facilitar su movimiento flagelar

(Valdés, 2000), como también gamma-glutamyltranspeptidasa (GGT), involucrada en la muerte de células epiteliales gástricas y en la inhibición de la proliferación de linfocitos T. Además, convierten la glutamina (Gln) y el glutatión (GSH) en glutamato, lo que da lugar a la formación de especies reactivas de oxígeno y a un agotamiento de estos dos compuestos, que puede conducir al desarrollo de patologías gástricas (Kim *et al.*, 2007; Schmees *et al.*, 2007; Zhang *et al.*, 2015).

Su forma espiralada y sus múltiples flagelos le facilitan su penetración y movimiento dentro de la capa mucosa, permitiéndole escapar del pH extremadamente bajo y de los movimientos peristálticos del estómago (Mc Gowan *et al.*, 1996).

La adherencia a la mucosa gástrica desempeña un papel importante en la colonización y patogenicidad de algunas especies de *Helicobacter* (Taylor *et al.*, 1992), sin embargo, no es esencial para la colonización de todos los NHPH, porque, por ejemplo, *H. heilmannii* y *H. felis* no se adhieren, sino que mantienen una proximidad a la mucosa, presumiblemente por su motilidad activa (Lee *et al.*, 1993).

Estos factores de virulencia contribuyen a los efectos patogénicos de la bacteria, como la inflamación, la alteración de la barrera mucosa y la función gástrica fisiológica (Happonen, 1999). *H. felis* y *H. bizzozeronii* difieren en su patogenicidad, siendo *H. felis* más patógeno que *H. bizzozeronii*, evidenciado por los efectos citopatogénicos (Peyrol *et al.*, 1998; Norris *et al.*, 1999).

Durante mucho tiempo, a estas bacterias se las denominó *H. heilmannii* o “*H. heilmannii*-like organisms”. Pero, a través del análisis de secuencias de los genes que codifican para el *16S rRNA* y *23S rRNA* se supo que las bacterias llamadas *H. heilmannii* comprendían varias especies que diferían entre sí en más del 3% de las secuencias de nucleótidos, por lo cual se las subclasificó como “*H. heilmannii*” tipo 1 y “*H. heilmannii*” tipo 2 (Dewhirst *et al.*, 2005). “*H. heilmannii*” tipo 1 corresponde al actual *H. suis* (Baele *et al.*, 2008 a), y “*H. heilmannii*” tipo 2 incluye a un grupo de especies: *H. felis*, *H. bizzozeronii*, *H. salomonis* y *H. heilmannii* s.s. que se encuentran en el estómago de perros y gatos. *H. cynogastricus* encontrado en el perro, y *H. baculiformis* en el gato, también forman parte de este grupo (Van den Bulck *et al.*, 2006; Baele *et al.*, 2008 b). Luego, para evitar confusiones, se propuso mencionarlas como *H. heilmannii sensu lato* (s.l.) a todas las especies del grupo reconocidas por su morfología, y *H. heilmannii* s.s. cuando se identifica como tal a nivel de especie mediante técnicas moleculares. Actualmente, para mencionar a estas bacterias cuando son identificadas por su morfología y no a nivel de especie, se utiliza el término *Helicobacter* no *H. pylori* “non-*H. pylori* helicobacters” (NHPH) (Haesebrouck *et al.*, 2009).

ESPECIES

H. heilmannii

H. heilmannii tiene forma helicoidal, es fuertemente espiralada (4 a 8 espirales) y no tiene fibrilos periplásmicos. Tiene 6 a 12 flagelos en cada polo. Mide de 3,5 a 7,5 μm de largo y 0,5 a 0,9 μm de diámetro. Es muy parecido a *H. felis* pero sin fibrilos periplásmicos (Hänninen *et al.*, 1996; O'Rourke *et al.*, 2004; Baele *et al.*, 2008 b). (Figura 1).

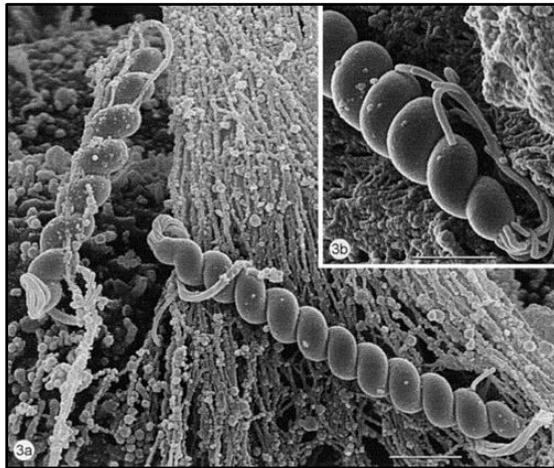


Foto 1: Fotografía por microscopía electrónica de *H. heilmannii* (Stoffel *et al.*, 2000).

H. felis

H. felis tiene forma helicoidal, con un complejo de bobinas fuertemente enrolladas y con fibrilos periplásmicos que se disponen de a pares y se enrollan alrededor del cuerpo del microorganismo. En cada extremo tiene flagelos posicionados ligeramente fuera del centro (Lee *et al.*, 1988). Se encuentra exclusivamente en la capa de moco y no se une al epitelio gástrico (Schreiber *et al.*, 1999). En 1988 Lee *et al.* lograron aislarlo de biopsias gástricas de perros y gatos, hasta ese entonces, sólo se tenía la descripción morfológica de *H. felis*. (Figura 2).



Foto 2: Microfotografía electrónica de *H. felis*. (Lucy Thompson, school of Biotechnology & Biomolecular Sciences, University of New South Wales).

H. bizzoeronii

H. bizzoeronii tiene forma espiralada muy cerrada, con 3 a 8 espirales, no tiene fibrilos periplásmicos y posee entre 10 a 20 flagelos envainados en ambos extremos, ubicados ligeramente fuera del centro. Mide de 5 a 10 μm de largo por 0,3 μm de ancho (Hänninen *et al.*, 1996; O'Rourke *et al.*, 2004; Baele *et al.*, 2008 b). Se puede encontrar superficialmente en el mucus, y en las glándulas gástricas, así como en el interior de las células parietales (Lockard y Boler, 1970). (Figura3).

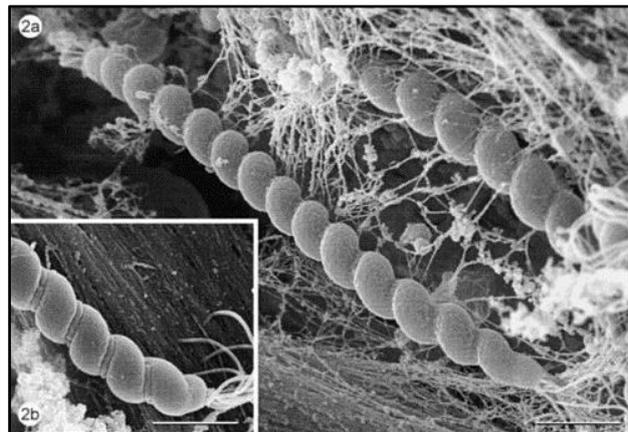


Foto 3: Microfotografía electrónica de *H. bizzoeronii* (Stoffel *et al.*, 2000).

H. salomonis

H. salomonis tiene forma espiralada, pero menos cerrada, con espirales más sueltas, de 5 a 7 μm de largo por 0,8 a 1,2 μm de ancho, y no tiene fibrilos periplásmicos. Tiene de 10 a 23 flagelos enfundados, en uno o en ambos extremos; el movimiento es más lento que el de *H. felis* o *H. bizzozeronii*. Los cultivos crecen como una película difusa en medios de agar fresco húmedo, pero no se forman colonias individuales (Jalava *et al.*, 1997). (Figura 4).

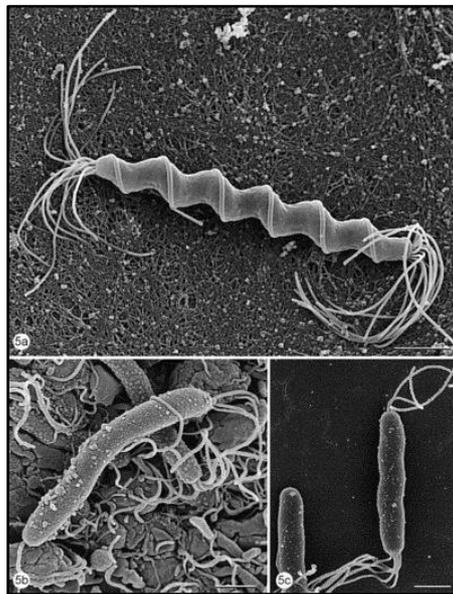


Foto 4: Microfotografía electrónica de *H. salomonis* (Stoffel *et al.*, 2000).

H. cynogastricus

H. cynogastricus tiene forma espiralada, cerrada, y tiene un fibrilo periplásmico a lo largo del lado externo del cuerpo (Van den Bulck *et al.*, 2006).

H. baculiformis

Es una varilla grande y delgada con forma ligeramente espiralada y con fibrilos periplásmicos (Baele *et al.*, 2008 b).

H. ailurogastrico

Su forma es espiralada, mide de 3 a 5,5 µm de largo y 0,5 a 0,7 µm de ancho. Tiene de 6 a 8 flagelos y no posee fibrilos periplásmicos. Recientemente, nueve cepas felinas de *H. heilmannii* fueron clasificadas en dos grupos, uno altamente virulento y otro de baja virulencia. Los genomas de estas cepas fueron secuenciados en un estudio realizado por Joosten *et al.* (2016), quienes descubrieron que las cepas de baja virulencia no pertenecían a la especie *H. heilmannii* sino a una especie nueva, estrechamente relacionada para la que se propuso el nombre de *H. ailurogastricus*.

PREVALENCIA

La prevalencia de NHPH en perros es alta y varía de un 67% a un 100% según se trate de perros clínicamente sanos o con signos digestivos (Hermanns *et al.*, 1995; Hwang *et al.*, 2002; Sung-Woo Ha *et al.*, 2008). En gatos la prevalencia varía entre 41 a 100% (Eaton *et al.*, 1996; Jalava *et al.*, 1998; Happonen *et al.*, 1998; Simpson, 1998; Diker *et al.*, 2002; Hwang *et al.*, 2002; Van den Bulck *et al.*, 2005; Quiroga *et al.*, 2009; Polanco *et al.*, 2011; Amorim *et al.*, 2015).

H. felis (51,2%) y *H. heilmannii* (55,8%) son las especies más prevalentes en gatos, tanto en infecciones únicas como mixtas. En perros *H. bizzozeronii* es la principal especie infectante, ya que se identificó en el 70% de los estómagos estudiados (Van den Bulck *et al.*, 2005; Jalava *et al.*, 1998).

Las altas tasas de infecciones mixtas actualmente detectadas en los estómagos felinos y caninos es del 62,8% y 55,5% respectivamente (Van den Bulck *et al.*, 2005; Jalava *et al.*, 2005; Hänninen *et al.*, 1998; Norris *et al.*, 1999; Stoffel *et al.*, 2000).

La tasa de prevalencia relacionada con la edad en perros es desconocida; en gatos, los NHPH se han encontrado con más frecuencia en adultos que en jóvenes (Weber *et al.*, 1958; Otto *et al.*, 1994; Guendulain *et al.*, 2016).

EPIDEMIOLOGÍA Y TRANSMISIÓN

La transmisión entre perros pareciera ser oral-oral y fecal oral, ya que se ha detectado ADN de *Helicobacter* en la cavidad oral de perros y gatos (Recordati *et al.*, 2007; Shojaee Tabrizi *et al.*, 2010). Hänninen *et al.* (1998) describieron la transmisión de *H.*

salomonis de una madre a sus cachorros, por lo que se sospecha que la transmisión sería oral-oral u oral gástrico, por el íntimo contacto que tiene la madre con sus cachorros. También reportaron la transmisión entre cachorros infectados y no infectados.

Sung-Woo Ha *et al.* (2008) realizaron un estudio en heces, saliva y placa dental en perros con y sin signos gastrointestinales, de los cuales resultaron positivos un 68, 23 y 1% respectivamente.

Otro indicador de la transmisión entre animales, es el índice de prevalencia, que es más alto en aquellos que viven en colonias donde la transmisión es más probable (Weber *et al.*, 1958; Henry *et al.*, 1987, Eaton *et al.*, 1996).

UBICACIÓN

Los NHPH se ubican en las regiones cardial, fúndica, del cuerpo y pilórica del estómago (Hänninen *et al.*, 1996), encontrándose histológicamente sobre la superficie de la mucosa, en las fosas gástricas, glándulas gástricas y células parietales (Henry *et al.*, 1987; Geyer *et al.*, 1993).

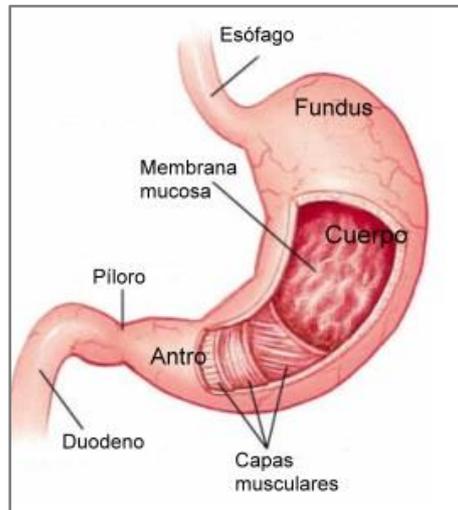


Figura 1: Esquema que muestra las distintas partes del estómago canino.

H. felis se encuentra, generalmente, en las proximidades de las microvellosidades de las células parietales, en aposición a su membrana externa, a nivel de los fibrilos periplásmicos. Esto no sucede con *H. bizzozeronii* (De Bock *et al.*, 2006).

SIGNOS CLÍNICOS

En el perro pueden presentarse signos digestivos, aunque pareciera no existir una relación directa entre la presencia de la bacteria en el estómago y enfermedad gástrica, ya que algunos perros infectados presentan signos clínicos evidentes y otros no. Si bien 61 a 100% de perros infectados han tenido vómitos crónicos, en un 67 a 86% de perros también infectados, no se han evidenciado signos clínicos (Diker et al., 2002; Hwang et al., 2002; Gómez y Orozco, 2003).

HALLAZGOS ENDOSCÓPICOS

En el estudio endoscópico del estómago de perro se observa gran número de bacterias y la presencia de abundante cantidad de mucus con zonas hiperémicas (Simpson y Burrows, 1999), aunque Paz (2002), señala que la apariencia endoscópica de la mayoría de los perros no presenta alteraciones evidentes.

La presencia de NHPH, en general, no se relaciona con alteraciones tales como hiperplasia de la mucosa, metaplasia, atrofia o úlceras. Las úlceras gástricas y duodenales no son frecuentes en perros y no se sabe aún si están asociadas a la infección con NHPH (Simpson y Burrows, 1999).

HALLAZGOS HISTOPATOLÓGICOS

Los NHPH caninos y felinos inducen gastritis histológicamente verificable; los cambios histológicos tales como inflamación, folículos linfocitarios y degeneración de las glándulas gástricas y células parietales en presencia de estos organismos indican su patogenicidad, sin embargo, tales cambios se han detectado no sólo en perros y gatos que padecen signos gastrointestinales, sino también en perros y gatos clínicamente sanos (Weber et al., 1958; Henry et al., 1987; Lee et al., 1992b; Geyer et al., 1993; Otto et al., 1994; Hermanns et al., 1995).

En la mayoría de los animales los cambios histopatológicos de la mucosa gástrica incluyen, la dilatación de glándulas gástricas, cambios degenerativos del epitelio superficial y necrosis. También se producen cambios inflamatorios con infiltrado de neutrófilos, linfocitos y células plasmáticas en el epitelio gástrico (Hermanns et al., 1995; Eaton et al.,

1996). Sin embargo, estos cambios se han detectado en perros y gatos con signología gastrointestinal, como también en animales clínicamente sanos (Simpson y Burrows, 1999).

La gastritis verificada histológicamente en perros y gatos es una causa común de vómito crónico en estas especies (Happonen, 1999). La misma puede clasificarse como aguda o crónica en base a los tipos de células inflamatorias, y como superficial o difusa según la distribución de las células. Según el tipo celular predominante, la gastritis crónica puede dividirse en gastritis con células no específicas (células mononucleares), gastritis eosinofílicas (eosinófilos) y gastritis granulomatosa / histiocítica (macrófagos), siendo la primera la más frecuente. Tanto la gastritis atrófica, caracterizada por adelgazamiento de la mucosa gástrica, reducción del número de glándulas y aumento del número de linfocitos y de células plasmáticas, como la gastritis hipertrófica, caracterizada por proliferación de la mucosa, no son tan comunes (Happonen, 1999).

La gastritis superficial a menudo cura, mientras que la gastritis severa difusa, la atrófica y la hipertrófica pueden persistir durante meses, incluso años (Van der Gaag y Happé, 1989).

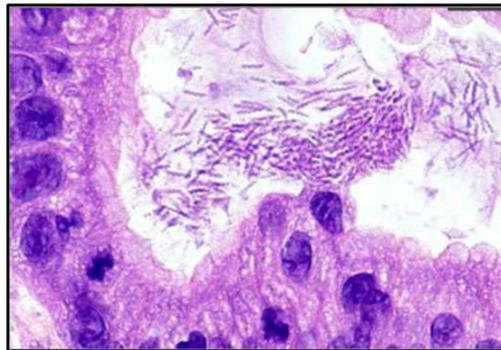


Foto 5: Numerosas bacterias espiraladas en la superficie gástrica teñidas con Hematoxilina-eosina. 1000x.

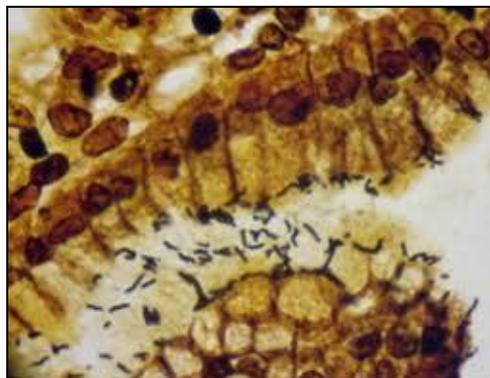


Foto 6: Numerosas bacterias espiraladas en la superficie gástrica teñidas con Warthin Starry. 1000x.

DIAGNÓSTICO

Los métodos diagnósticos para NHPH pueden ser invasivos y no invasivos. Los invasivos, como el cultivo, histopatología, impronta, prueba de ureasa en biopsias, microscopía electrónica, reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y citología por cepillo, requieren de biopsia gástrica, la cual se toma por endoscopia y bajo anestesia. Los métodos no invasivos como la serología, prueba de urea en aliento (UBT), detección de ADN bacteriano y antígenos en materia fecal, no requieren de biopsia gástrica ni anestesia, pero sus costos son elevados (Happonen, 1999; Strauss-Ayali y Simpson, 1999; Esteves *et al.*, 2000).

Los NHPH pueden ser visualizados directamente mediante las técnicas de citología por cepillo, histopatología, microscopía electrónica y en muestras de cultivo. La presencia del organismo puede ser demostrada indirectamente mediante pruebas de ureasa, serología y por UBT. El uso de más de un método diagnóstico incrementa la sensibilidad en la detección (Happonen *et al.*, 2000). En animales, la PCR, los métodos serológicos y el UBT no se usan rutinariamente (Happonen, 1999).

La prueba más utilizada para el diagnóstico es la histopatología, donde las bacterias se reconocen fácilmente usando tinciones de Hematoxilina-Eosina, Giemsa o tinciones con plata. Su valor diagnóstico radica en que, además de identificar la bacteria, permite visualizar las alteraciones de la mucosa gástrica (Scanziani *et al.*, 2001; Mandado Pérez *et al.*, 2003).

Citología por cepillado:

La citología por cepillado (Gad *et al.*, 1989; Mendoza *et al.*, 1993; Carmona *et al.*, 1995) se lleva a cabo mediante la extensión de moco gástrico sobre un portaobjetos que después se seca y se tiñe con Romanovsky si se requiere un resultado rápido, o con May-Grünwald-Giemsa (MGG). La citología del cepillado (Happonen *et al.*, 1996) (citología por contacto) y de la impronta de una muestra de biopsia gástrica (Debongnie *et al.*, 1995) son excelentes métodos para la detección de estas bacterias por microscopía óptica (Neiger *et al.*, 2009), y ha demostrado ser más sensible que la observación histológica de la biopsia (Debongnie *et al.*, 1994; Debongnie *et al.*, 1995; Guendulain *et al.*, 2012). Las bacterias espirales se ven fácilmente al microscopio óptico con un aumento de 400x.

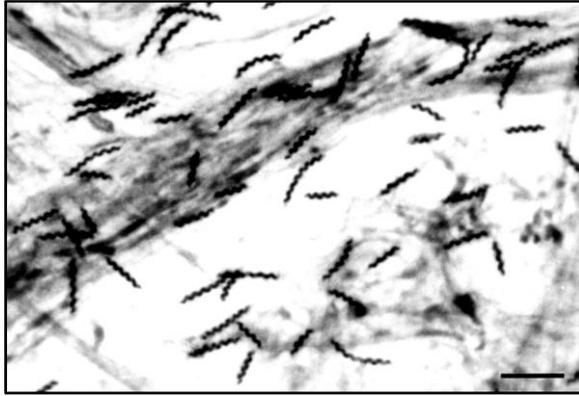


Foto 7: Numerosas bacterias con morfología espiralada en una citología por cepillado a partir del estómago de un canino, May-Grünwald-Giemsa, 1000x (Happonen, I., 1999).

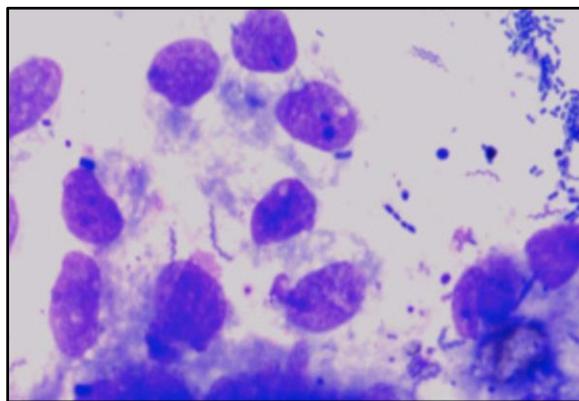


Foto 8: Impronta gástrica con bacterias compatibles con *Helicobacter* spp. (May Grünwald Giemsa, 1000x).

Prueba de ureasa:

Es una prueba fácil de realizar, rápida y económica. Una característica típica de los NHPH gástricos es que son potentes productores de ureasa y esta prueba revela su producción enzimática. Las muestras de biopsia de mucosa gástrica se colocan en un medio que contiene urea y un color indicador de cambio de pH. El amoníaco liberado por la enzima ureasa causa un cambio de pH, y posteriormente, un cambio de color en el reactivo de ensayo. El tiempo necesario para un resultado positivo es usualmente proporcional al número de bacterias, es decir, cuando se obtiene un resultado positivo rápidamente, es probable que el recuento de bacterias sea alto (Hazell *et al.*, 1987). Al duplicar la cantidad de tejido (tanto en tamaño o número) en la prueba de ureasa acelera el resultado positivo aproximadamente

1,5 a 2 horas (Laine *et al.*, 1996). De manera similar, se ha demostrado que la incubación a 37 °C acelera el tiempo de obtención de un resultado positivo, en comparación con la incubación a temperatura ambiente (22-24 °C), por lo que se recomienda el calentamiento de la muestra cuando el resultado final es deseado dentro de 1 a 2 horas (Laine *et al.*, 1996 b).

Examen histológico:

Las muestras de biopsia gástrica para el examen histológico generalmente se fijan en formalina, son incrustadas en cera de parafina, y seccionadas. Las bacterias se pueden visualizar con Hematoxilina eosina (HE), y con tinciones especiales tales como las tinciones con plata Warthin Starry (Stevens *et al.*, 1990), tinción con Giemsa (Madan *et al.*, 1988), tinción con Genta (Laine *et al.*, 1997) y coloración amarillo alfa / toluidina azul (Leung *et al.*, 1996). El método de tinción Warthin-Starry es sensible para la demostración de organismos espiralados, pero es más caro y difícil de realizar y no tiene ninguna ventaja sobre la tinción Giemsa (Barthel *et al.*, 1988). La tinción Genta también es buena para la visualización de especies de *Helicobacter* y además permite la visualización de rasgos histológicos simultáneamente, pero es un método laborioso y costoso.

Histológicamente, además de demostrar la presencia y localización de NHPH gástricos, pueden evaluarse lesiones tales como inflamación (Ashton-Key *et al.*, 1996). Una de las limitaciones es que cuando la densidad de los organismos en una muestra de biopsia gástrica es baja, puede ser difícil su detección (El-Zimaity *et al.*, 1998).

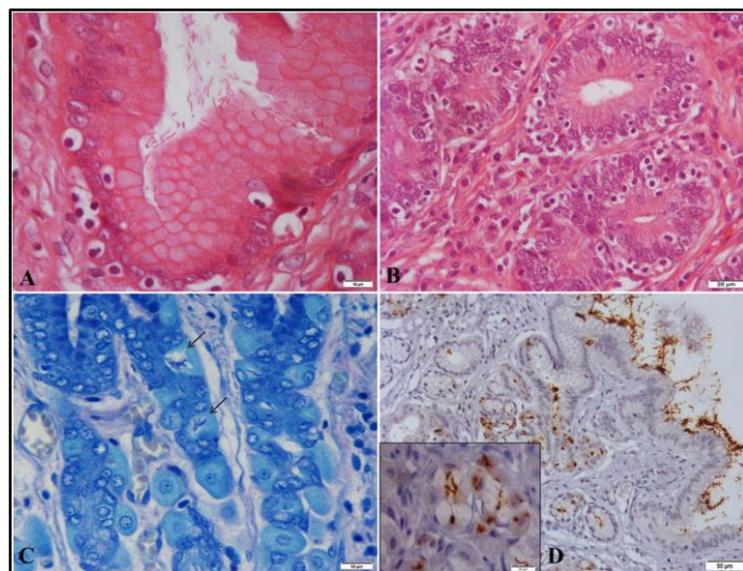


Foto 9: A) Numerosas bacterias espiraladas en el epitelio superficial del estómago. B) Infiltración de linfocitos dentro de las glándulas gástricas de la mucosa antral de un perro positivo a NHPH. C) Presencia de NHPH dentro de células parietales de la región del cuerpo

gástrico. D) Grandes cantidades de bacterias dentro del moco gástrico superficial y en el lumen de las glándulas gástricas en la región del cuerpo del estómago. El recuadro muestra *Helicobacter* spp. dentro de las células parietales (Amorim *et al* 2015).

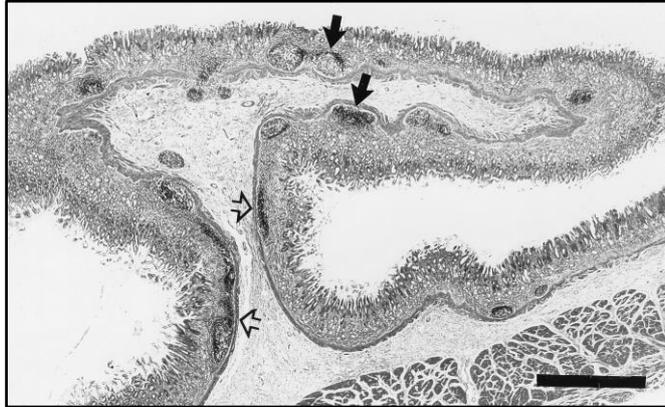


Foto 10: Infiltración extensa de células linfoides (flechas abiertas) con formación de folículos linfoides (flechas sólidas) en la mucosa y submucosa del estómago del gato, Hematoxilina-eosina. Bar, 1.13 mm. (Handt *et al.*, 1995).

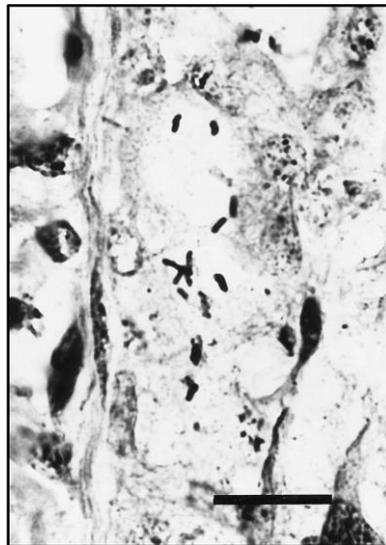


Foto 11: Se observan numerosos *H. pylori* sobre el epitelio del lumen de una cripta glandular en el estómago de un gato con tinción de Warthin-Starry. Bar, 19.5 μ m (Handt *et al.*, 1995).

Microscopía electrónica:

La microscopía electrónica de transmisión (TEM) y la microscopía electrónica de barrido (SEM) revelan no sólo la presencia de NHPH sino también su morfología típica, el tamaño de la bacteria, el número de espirales, la presencia de flagelos y de fibrilos

periplásmicos (Weber y Schmittiel 1962, Lockard y Boler 1970, Henry *et al.*, 1987, Lee *et al.*, 1988, Geyer *et al.*, 1993, Handt *et al.*, 1994).

H. heilmannii y *H. felis* (Eaton *et al.*, 1996) son muy similares a *H. bizzozeronii*, basándose en sus características morfológicas en TEM y SEM, a su vez la ultraestructura celular de cepas cultivadas de *H. bizzozeronii* y *H. salomonis* no muestra una variación significativa entre ambas especies, por lo tanto, la microscopía electrónica no es un método lo suficientemente sensible para determinar la especie (McNulty *et al.*, 1989).

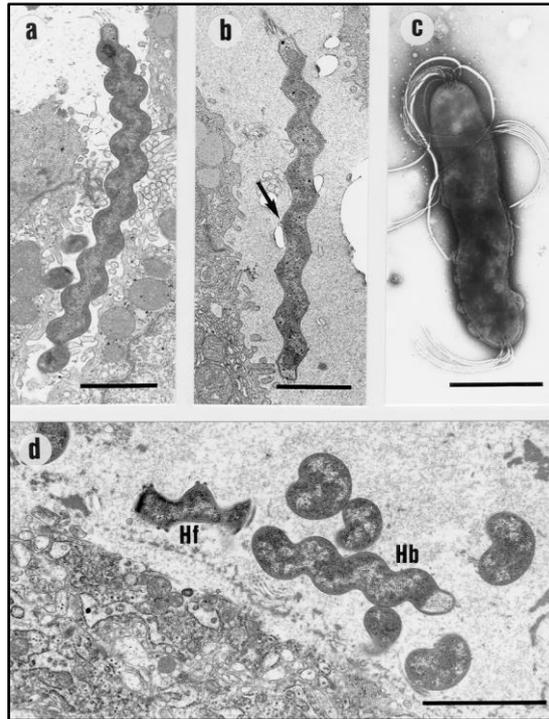


Foto 12: Microscopía electrónica de transmisión de mucosa gástrica canina revelando características morfológicas típicas de (a) *H. bizzozeronii*, (b) *H. felis* con fibrilos periplásmicos alrededor del cuerpo celular (flecha), y (c) cultivo de *H. salomonis*, así como (d) Infección mixta con *H. bizzozeronii* (Hb) y *H. felis* (Hf) (Happonen, 1999).

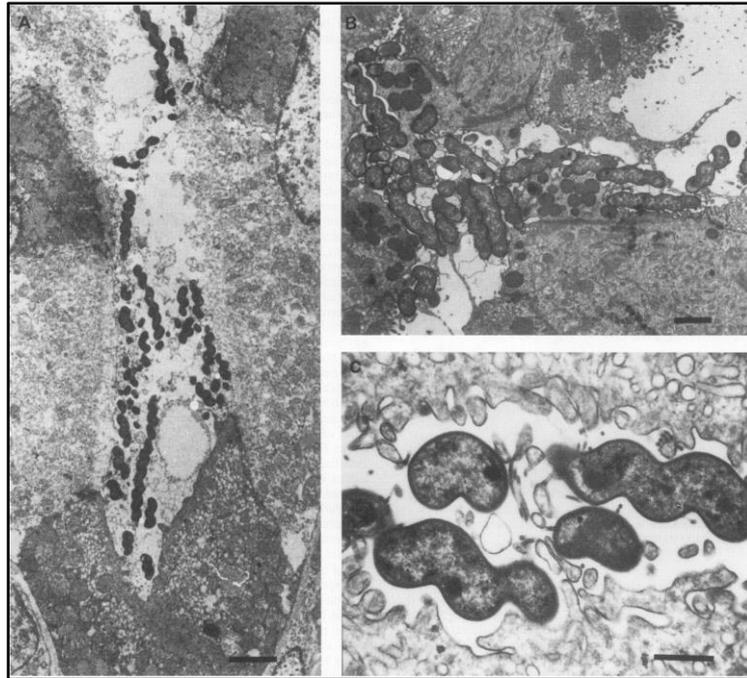


Foto 13: Microscopía electrónica de transmisión del estómago de un gato (Otto *et al.*, 1994).

Pruebas serológicas:

Actualmente no hay anticuerpos específicos disponibles para la detección serológica e inmunohistoquímica de NHPH, los anticuerpos policlonales anti-*H. pylori* disponibles comercialmente muestran reactividad cruzada entre *H. pylori* y las NHPH (Singhal y Sepulveda, 2005).

Cultivo:

El cultivo bacteriológico de las especies de *Helicobacter* es difícil y no siempre exitoso y, además, en el cultivo estas bacterias pueden perder su morfología típica, por lo cual no permite la determinación de las especies. Por otra parte, la mayoría de los organismos gástricos no son cultivables (Jalava *et al.*, 1998). Para el aislamiento de estas bacterias se pueden usar, tanto el agar infusión cerebro corazón, como el agar *Brucella*, con sangre bovina o equina y suplemento antibiótico Skirrow (Hänninen *et al.*, 1995).

Prueba de urea en aliento (UBT):

Esta prueba diagnostica la infección del género *Helicobacter* demostrando la actividad de la ureasa de las bacterias. Después de un ayuno nocturno, se obtienen muestras

de aliento basales, y luego se administra oralmente urea radiomarcada como sustrato. La urea se puede marcar con ^{13}C , un isótopo no radioactivo (Graham *et al.*, 1987, Logan *et al.*, 1991), o con radioactividad ^{14}C (Kubota *et al.*, 2013). El aire exhalado se muestrea usualmente 30 minutos después de la ingestión y el nivel de radiactividad se mide con un espectrómetro de masas (^{13}C) o un contador de centelleo (^{14}C). Las desventajas de la UBT son los mayores costos debido a equipos especiales y el requisito de un isótopo radiactivo tal como lo es el ^{14}C (Happonen, 1999). La prueba de aliento de ^{13}C -urea se ha evaluado en perros y proporciona un procedimiento no invasivo para detectar NHPH en caninos (Cornetta *et al.*, 1998). Sin embargo, esta prueba no puede aplicarse a los animales debido a la necesidad de instrumentos analíticos y a su alto costo (Nyan DC *et al.*, 2004).

PCR:

Es la técnica más precisa para determinar con certeza el género y para identificar las especies. En un trabajo realizado por Moyaert *et al.* (2008), se estudiaron seis PCRs género *Helicobacter* específicas, basadas en el gen *16S rRNA*. Los resultados de este estudio demostraron que la PCR descrita por Al-Soud *et al.* (2003) es altamente confiable para la identificación de especies de *H.* a nivel de género; esta resultó ser 100% inclusiva y 95,5% exclusiva, y puede detectar 10 células bacterianas por mezcla de reacción. Además es una técnica que puede utilizarse para muestras fecales (Hoshina *et al.*, 1990; Lee *et al.*, 2007; Moyaert *et al.*, 2008).

Para la mayoría de las especies de *Helicobacter*, $<2\%$ de divergencia o $>98\%$ de similitud en la secuencia del gen *16S rRNA*, define de forma confiable una especie (Dewhirst *et al.*, 2005). Sin embargo, existe una similitud excepcionalmente alta (98-100%) en la secuencia del gen *16S rRNA* entre *H. felis*, *H. bizzozeronii*, *H. salomonis*, *H. heilmannii*, *H. cynogastricus* y *H. baculiformis* (Jalava *et al.*, 1997; O'Rourke *et al.*, 2004; Van den Bulck *et al.*, 2006; Baele *et al.*, 2008 b).

Detección en heces:

Dentro de los métodos no invasivos, las muestras de heces son fáciles de obtener y de alto interés para la detección directa de NHPH. La PCR fue utilizada con éxito para detectar bacterias en heces (Lee *et al.*, 2007). La detección del antígeno de *H. felis* en las heces, tiene ciertas desventajas: la excreción del antígeno es variable y puede degradarse al pasar a través del intestino (Demirturk *et al.*, 2003).

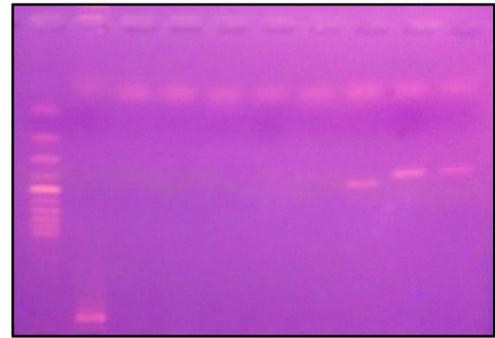
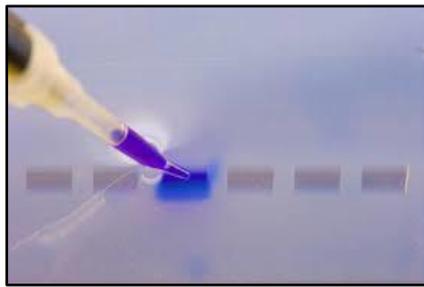


Foto 14: Siembra en gel de agarosa del producto de la PCR para la corrida electroforética y observación mediante luz UV de bandas con peso molecular característico.

TRATAMIENTO

Los protocolos de tratamiento en animales de compañía se han basado en los que han resultado efectivos contra *H. pylori* en humanos (Strauss-Ayali y Simpson, 1999). *H. bizzozeronii*, *H. felis* y *H. salomonis* obtenidos de perros y gatos, mostraron ser sensibles, *in vitro*, a la ampicilina, claritromicina y tetraciclina, aunque también se encontró resistencia al metronidazol de algunas cepas de *H. bizzozeronii* y *H. felis* (Van den Bulck *et al.*, 2005).

En perros, la terapia triple con claritromicina, amoxicilina y omeprazol o lansoprazol administrada durante 7 días, resultó eficiente para la erradicación de *Helicobacter* spp., aunque la infección recurrió en los perros mantenidos en contacto con otros perros portadores de la bacteria (Anacleto *et al.*, 2011).

En un estudio realizado por DeNovo y Magne (1995) en 63 perros y gatos, usando una combinación de metronidazol, amoxicilina y famotidina, resolvieron los signos clínicos en el 90% de los casos. Mirzaeian *et al.* (2013) también utilizaron omeprazol como inhibidor de la bomba de protones 0,5 mg/kg, claritromicina 7,5 mg/kg y amoxicilina 20 mg/kg pero durante 21 días, con buenos resultados.

Khoshnegah *et al.* (2011) utilizaron una terapia cuádruple (omeprazol, amoxicilina, metronidazol y claritromicina) por 14 días en 13 gatos infectados naturalmente y asintomáticos, pero no lograron eliminar los NHPH.

Leib *et al.* (2007) no encontraron ventajas de adicionar medicación para suprimir la secreción de ácido gástrico al tratamiento con antibióticos.

Una terapia durante 21 días o una terapia cuádruple sería apropiada para la erradicación de los NHPH de la mucosa gástrica de perros y gatos.

CONCLUSIONES

La prevalencia de *Helicobacter* spp. en perros y gatos es alta, considerándose casi universal su presencia en estos animales, pero aunque estas bacterias se han sugerido como factor etiológico de las gastritis crónicas, su relación con la enfermedad gástrica es poco clara, ya que la gastritis acompaña la infección en algunos, pero no en todos los perros y gatos, y muchos no tienen signos clínicos a pesar de la infección. Por este motivo, ante casos clínicos de gastropatía crónica, deberán descartarse todas las demás causas, antes de involucrar a este agente como etiología, a pesar de encontrarlo en la biopsia gástrica. Por lo tanto, el tratamiento sólo debería instaurarse si queda finalmente la sospecha de que los signos son producidos por especies de este género, luego de descartar las demás causas probables.

BIBLIOGRAFIA

AL-SOUD, W.; M. BENNEDSEN.; S. ON.; I. OUIS.; P. VANDAMME.; H. NILSSON.; A. LJUNGH.; T. WADSTROM. 2003. Assessment of PCR-DGGE for the identification of diverse *Helicobacter* species, and application to faecal samples from zoo animals to determine *Helicobacter* prevalence. *J Medic Microbiol*; 52: 765-771.

AMORIM, I.; A. SMET.; O. ALVES.; S. TEIXEIRA.; A.L. SARAIVA.; M. TAULESCU.; C. REIS.; F. HAESEBROUCK.; F. GÄRTNER. 2015. Presence and significance of *Helicobacter* spp. in the gastric mucosa of portuguese dogs. *Gut Pathog*; 7:12.

ANACLETO, T.P.; L.R. LOPES.; N.A. ANDREOLLO.; W.O. BERNIS FILHO.; M.C.C RESCK.; A. MACEDO. 2011. Studies of distribution and recurrence of *Helicobacter* spp. gastric mucosa of dogs after triple therapy. *Acta Cirurgica Brasileira* 26, 82–87.

ASHTON-KEY, M.; T.C DISS.; P.G ISAACSON. 1996. Detection of *Helicobacter pylori* in gastric biopsy and resection specimens. *J. Clin. Pathol.* 49, 107-111.

BAELE, M.; A. DECOSTERE.; P. VANDAMME.; L. CEELLEN.; A. HELLEMANS.; K. CHIERS.; R. DUCATELLE.; F. HAESEBROUCK. 2008. Isolation and characterization of *Helicobacter suis* sp. nov. from pig stomachs. *Int J Syst Evol Microbiol.* 58: 1350-1358 (a).

BAELE, M.; F. HAESBROUCK.; P. VANDAMME.; K. VAN DEN BULCK.; I. GRUNTAR.; J. MEHLE.; J. MAST.; R. DUCATELLE.; A. DECOSTERE. 2008. *Helicobacter baculiformis* sp. nov. isolated from feline stomach mucosa. Int. J. Syst. Evol. Microbiol. 58:357–364 (b).

BARTHEL, J.S.; T.U. WESTBLOM.; A.D. HAVEY.; F. GONZALEZ.; E.D. EVERETT. 1988. Gastritis and *Campylobacter pylori* in healthy, asymptomatic volunteers. Arch. Intern. Med. 148: 1149-1151.

BIZZOZERO, G. 1893. Ueber die schlauchförmigen Drüsen des Magendarmkanals und die Beziehungen ihres Epithels zu dem oberflächeneithel der Schleimhaut. Archiv für Microskopische Anatomie Entwicklungsmechanik 42, 82-152.

CARMONA, T.; E. MUÑOZ.; M.M. ABAD.; J.I. PAZ.; F. GÓMEZ.; M.J. ALONSO.; A. SÁNCHEZ.; A. BULLÓN. 1995. Usefulness of antral brushing samples stained with Diff-Quick in the cytologic diagnosis of *Helicobacter pylori*. A comparative methodologic study. Acta Cytol. 39: 669-672.

CORNETTA, A.; K.W. SIMPSON.; D. STRAUSS-AYALI.; P.L. MCDONOUGH.; R.D. GLEED. 1998. Evaluation of a ¹³C-urea breath test for detection of gastric infection with *Helicobacter* spp. in dogs. Am J Vet Res; 59: 1364-1369.

DE BOCK, M. ; K. VAN DEL BULCK.; A. HELLEMANS. ; S. DAMINET. ; J. COCHE.; J. DEBONGNIE.; A. DECOSTERE.; F. HAESBROUCK.; R. DUCATELLE. 2007. Peptic ulcer disease associated with *Helicobacter felis* in a dog owner. Eur J Gastroenterol Hepatol 19 (1): 79-82.

DE BOCK, M.; K. D'HERDE.; L. DUCHATEAU.; A. HELLEMANS.; A. DECOSTERE.; F. HAESBROUCK.; R. DUCATELLE. 2006. The pathogenic effect of *Helicobacter felis* and *Helicobacter bizzozeronii* on the gastric mucosa in Mongolian gerbils: a sequential pathological study. J Comp Pathol ;135: 226-236.

DEMIRTURK, L.; Y. YAZGAN.; O. TARCIN.; M. OZEL.; M. DILER.; O. ONCUL.; S. YILDIRIM. 2003. Does N-acetyl cystein affect the sensitivity and specificity of *Helicobacter pylori* stool antigen test *Helicobacter*. 8(2): 120-123.

DENOVO, R.C. Y M.L. MAGNE .1995. Current concepts in the management of *Helicobacter* – associated gastritis. In: Proceedings 13th Annual ACVIM Veterinary Forum, Lake Buena Vista, FL, American College of Veterinary Internal Medicine.

DEWHIRST, F.E.; Z. SHEN.; M.S. SCIMECA.; L.N. STOKES.; T. BOUMENNA.; T. CHEN.; B.J. PASTER.; J.G. FOX. 2005. Discordant 16S and 23S rRNA gene phylogenies for the genus *Helicobacter*: implications for phylogenetic inference and systematics. *J Bacteriol* ; 187: 6106-6118.

DEWHIRST, F.E.; Z. SHEN.; M.S. SCIMECA.; L.N. STOKES.; T. BOUMENNA.; T. CHEN.; B.J. PASTER.; J.G. FOX. 2005. Discordant 16S and 23S rRNA gene phylogenies for the genus *Helicobacter*: implications for phylogenetic inference and systematics. *J Bacteriol*; 187: 6106-6118.

DIKER, K.S.; R. HAZIROGLU.; M. AKAN.; S. CELIK.; N. KABAKCI. 2002. The prevalence, colonization sites and pathological effects of gastric *Helicobacter* in dogs. *Turk J Vet Animal Sci.* 26: 345-351.

EATON, K.; F. DEWHIRST.; B. PASTER.; N. TZELLAS.; B. COLEMAN.; J. PAOLA.; R. SHERDING. 1996. Prevalence and varieties of *Helicobacter* species in dogs from random sources and pet dogs: animals and public health implications. *J Clin Microbiol.* 34 (4): 3165-3170.

EKMAN E.; M. FREDRIKSSON.; G. TROWALD-WIGH. 2013. *Helicobacter* spp. in the saliva, stomach, duodenum and faeces of colony dogs. *Vet J.* 195(1):1279.

EL-ZIMAITY, H.M.T., A.M. SEGURA., R.M GENTA.; D.Y. GRAHAM. 1998. Histologic assessment of *Helicobacter pylori* status after therapy: 73 comparison of Giemsa, Diff-Quick, and Genta stains. *Mod. Pathol.* 11: 288- 291.

ESTEVEZ, MI.; MD. SCHRENZEL.; RP. MARINI.; NS. TAYLOR.; S. XU.; S. HAGEN. 2000. *Helicobacter pylori* gastritis in cats with long- term natural infection as a model of human disease. *Am J Pathol.* 156:709-721.

FOX, J.G. The non-*H. pylori* helicobacters: their expanding role in gastrointestinal and systemic diseases. *Gut* 2002; 50(2):273-283.

GAD, A. 1989 Rapid diagnosis of *Campylobacter pylori* by brush cytology. Scand. J. Gastroenterol. 24: 101-103.

GEYR, C.; F. COLBATZKY.; J. LECHNER.; W. HERMANNNS. 1993. Occurrence of spiral-shaped bacteria in gastric biopsies of dogs and cats. Vet. Rec. 133: 18-19.

GÓMEZ, L Y OROZCO, S. 2003. *Helicobacter spp.* en un perro con vómito crónico. Reporte de un caso. Rev Col Cienc Pec; 16: 1.

GUENDULAIN, C.; GONZÁLEZ, G.; CAFFARATTI, M.; GONZÁLEZ, P.; BABINI, S.; BESSONE, A.; MARTÍNEZ, V. 2012. Histopatología versus impronta de mucosa gástrica para la detección de *Helicobacter spp.* en perros. Rev Méd Peq Esp; 10: 44-61.

GUENDULAIN, C.; GONZÁLEZ, G.; PELLIZA, B.; CAFFARATTI, M.; BESSONE, A.; TAMIOZZO P. 2016. Detección de *Helicobacter bizzozeronii* y *Helicobacter felis* en biopsias gástricas de perros. Rev Cient, FCV-LUZ; 26 (5): 286-292.

GUILFORD, W.G. y D.R. STROMBECK. 1996. Chronic gastric diseases. In: Strombeck's Small Animal Gastroenterology. (W.G. Guilford, S. A. Center, D. R. Strombeck, D. A. Williams, D.J. Meyer. Eds.). 3rd Ed. W.B. Saunders, Philadelphia, USA. pp. 275-302.

HAESEBROUCK, F.; F. PASMANS.; B. FLAHO.; A. SMET.; P. VANDAMME.; R. DUCATELLE. 2011. Non-*Helicobacter pylori* *Helicobacter* species in the human gastric mucosa: a proposal to introduce the terms *H. heilmannii* sensu lato and sensu stricto. Helicobacter 16(4): 339-40.

HAESEBROUCK, F.; F. PASMANS; B. FLAHO.; K CHIERS.; M. BAELE.; T. MEYNS. 2009. Gastric *helicobacters* in domestic animals and nonhuman primates and their significance for human health. Clin Microbiol Rev. 2 (2):202-23.

HANDT, L.K.; J.G. FOX.; F.E. DEWHIRST.; G.J. FRASER.; B.J. PASTER.; L.L. YAN.; H. ROZMIAREK.; R. RUFO.; I.H. STALIS. 1994. *Helicobacter pylori* isolated from the domestic cat: public health implications. Infect Immun; 62: 2367-2374.

HÄNNINEN 1998. Isolation and identification of *Helicobacter spp.* from canine and feline gastric mucosa. Appl. Environ. Microbiol. 64:3998-4006.

HÄNNINEN, M.L.; I. HAPPONEN.; S. SAARI.; K. JALAVA. 1996. Culture and characteristics of *Helicobacter bizzozeronii*, and new canine gastric *Helicobacter* spp. *Int J Syst Bacteriol.* 46: 160-166.

HAPPONEN, I. 1999. Canine and feline *Helicobacters*: Diagnosis and significance in chronic gastritis. Tesis de Doctorado. Medicine Faculty of Veterinary Medicine University of Helsinki, Finland. 83 p.

HAPPONEN, I.; J. LINDEN.; E. WESTERMARCK. 2000. Effect of triple therapy on eradication of canine gastric *Helicobacter* and gastric disease. *J Small Anim Pract.* 41:1-6.

HAPPONEN, I.; J. LINDEN.; S. SAARI.; M. KARJALAINEN.; M. HÄNNINEN.; K. JALAVA.; E. WESTERMARCK. 1998. Detection and effects of *Helicobacters* in healthy dogs and dogs with signs of gastritis. *J Am Vet Med Assoc.* 213 (12): 1767-1774.

HAPPONEN, I.; S. SAARI.; L. CASTREN.; O. TYNI.; M. L. HÄNNINEN.; E. WESTERMARCK. 1996. Occurrence and topographical mapping of gastric *Helicobacter*-like organisms and their association with histological changes in apparently healthy dogs and cats. *J. Vet. Med. A.* 43, 305-315 (1996).

HAZELL, S.L.; T.J. BORODY.; A. GAL.; A. LEE. 1987. *Campylobacter pyloridis* gastritis I: Detection of urease as a marker of bacterial colonization and gastritis. *Am. J. Gastroenterol.* 82: 292-296.

HEILMANN, K. y F. BORCHARD. 1991. Gastritis due to spiral shaped bacteria other than *Helicobacter pylori*: clinical, histological, and ultrastructural findings. *Gut* 32: 137-140.
Helicobacter species in the gastric mucosa of cats. *J Vet Diagn Invest* 13: 3-12.

HENRY, G.; P. LONG.; L. BURNS.; D. CHARBONNEAU. 1987. Gastric spirillosis in beagles. *Am. J. Vet. Res.* 48: 831-836.

HERMANN, W.; K. KREGEL.; W. BREUER.; J. LECHNER. 1995. *Helicobacter*-like organisms: histopathological examination of gastric biopsies from dogs and cats. *J. Comp. Path.* 112: 307-318.

HOSHINA, S.; S.M. KAHN.; W. JIANG.; P.H. GREEN.; H.C. NEU.; N. CHIN.; M. MOROTOMI.; P. LOGERFO.; I.B. WEINSTEIN. 1990. Direct detection and amplification of *Helicobacter pylori* ribosomal 16S gene segments from gastric endoscopic biopsies. *Diagn Microbiol Infect Di.* 13(6): 473-479.

HWANG, C.; H. HAN.; H. YOUN. 2002. Prevalence and clinical characterization of gastric *Helicobacter* species infection of dogs and cats in Korea. *J Vet Sci.* 3 (2): 123-133.

HÄNNINEN, M.L.; K. JALAVA.; S. SAARI.; I. HAPPONEN.; E. WESTERMARCK. 1995. Culture of “*Gastrospirillum*” from gastric biopsies of dogs. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*; 14: 145.

JALAVA, K.; M. KAARTINEN.; M. UTRIAINEN.; I. HAPPONEN.; M. HÄNNINEN. 1997. *Helicobacter salomonis* sp. nov., a canine gastric *Helicobacter* sp. related to *Helicobacter felis* and *Helicobacter bizzozeronii*. *Int J Syst Bacteriol*; 47: 975-982.

JALAVA, K.; S. ON.; P. VANDAMME.; I. HAPPONEN.; A. SUKURA.; M. HANNINEN. 1998. Isolation and identification de *Helicobacter spp.* from canine and feline gastric mucosa. *Eukaryot Cell. Appl Environ Microbiol.* 64 (10): 3998-4006.

JOOSTEN, M.; S. LINDÉN.; M. ROSSI.; A. CHIN YEN TAY.; E. SKOOG.; M. PADRA.; F. PETERS.; T. PERKINS.; P. VANDAMME.; F. VAN NIEUWERBURGH.; K. D’HERDE.; W. VAN DEN BROECK.; B. FLAHOUE.; D. DEFORCE.; R. DUCATELLE.; B. MARSHALL.; F. HAESEBROUCK.; A. SMETA. 2016. Divergence between the highly virulent zoonotic pathogen *Helicobacter heilmannii* and its closest relative, the low-virulence “*Helicobacter ailurogastricus*” sp. nov. infection and immunity. (8): 1 293-306.

KHOSHNEGAH, J.; S. JAMSHIDI.; M. MOHAMMADI.; F. SASANI. 2011 : The efficacy and safety of long-term *Helicobacter* species quadruple therapy in asymptomatic cats with naturally acquired infection. *Journal of Feline Medicine and Surgery* 13, 88–93.

KIM, K.M.; S.G. LEE.; M.G. PARK.; J.Y. SONG.; H.L. KANG.; W.K. LEE.; M.J. CHO.; K.H. RHEE.; H.S. YOUN.; S.C. BAIK. 2007. Gamma-glutamyltranspeptidase of *Helicobacter pylori* induces mitochondria-mediated apoptosis in AGS cells. *Biochem Biophys Res Commun*; 355: 562-567.

KUBOTA, S.; K. OHNO.; A. TSUKAMOTO.; S. MAEDA.; Y. MURATA.; K. NAKASHIMA.; K. FUKUSHIMA.; K. UCHIDA.; Y. FUJINO.; H. TSUJIMOTO. 2013. Value of the ¹³C-urea breath test for detection of gastric *Helicobacter* spp. infection in dogs undergoing endoscopic examination. J Vet Med Sci; 75:1049-1054.

LAINE, L.; D. CHUN.; C. STEIN.; I. EL-BEBLAWI.; V. SHARMA.; P. CHANDRASOMA. 1996^a. The influence of size or number of biopsies on rapid urease test results: a prospective evaluation. Gastrointest. Endosc: 43: 49-53

LAINE, L.; R. ESTRADA.; D.N. LEWIN.; H. COHEN. 1996. The influence of warming on rapid urease test results: a prospective evaluation. Gastrointest. Endosc. 44: 429-432.

LAINE, L.; D.N. LEWIN.; W. NARITOKU.; H. COHEN. Prospective comparison of H&E, Giemsa, and Genta stains for diagnosis of *Helicobacter pylori*. Gastrointest Endosc 1997; 45: 463-467.

LEE, A., J. FOX; S. HAZELL. 1993b. Pathogenicity of *Helicobacter pylori*: a perspective. Infect. Immun. 61: 1601-1610.

LEE, A.; S. Krakowka.; J.G FOX.; G. OTTO.; K.A EATON.; J.C MURPHY. 1992b. Role of *Helicobacter felis* in chronic canine gastritis. Vet. Pathol. 29: 487-494.

LEE, A.; S.L. HAZELL.; J. O'ROURKE.; S. KOUPRACH. 1988. Isolation of a spiral-shaped bacterium from the cat stomach. Infect Immun; 56: 2843-2850.

LEE, H.; Y. PARK.; O. KIM. 2007. Prevalence of *Helicobacter* Species in Feces of Dogs using Polymerase Chain Reaction Analysis. Lab Anim Res. 23(3): 339-344.

LEIB, M.S.; R.B. DUNCAN.; D.L. WARD. 2007. Triple antimicrobial therapy and acid suppression in dogs with chronic vomiting and gastric *Helicobacter* spp. J Vet Intern Med; 21 (6): 1185-1192.

LEKUNZE FRITZ, E.; T. SLAVIK.; W. DELPORT.; B. OLIVIER.; S.W. VAN DER MERWE. 2006. Incidence of *Helicobacter felis* and the effect of coinfection with *Helicobacter pylori* on the gastric mucosa in the african population. J Clin Microbiol 44 (5): 1692-1696.

LEUNG, J.K.; K.J GIBBON.; R.K. VARTANIAN. 1996. Rapid staining method for *Helicobacter pylori* in gastric biopsies. *The J. Histotechnol.* 19: 131-132.

LOCKARD VG, BOLER RK. 1970. Ultrastructure of a spiraled microorganism in the gastric mucosa of dogs. *Am J Vet Res* ; 31: 1453-1462.

MADAN, E.; J. KEMP.; U. WESTBLOM.; M. SUBIK.;S.SEXTON.; J. COOK. 1988. Evaluation of staining methods for identifying *Campylobacter pylori*. *Am. J. Clin. Pathol.* 90: 450- 453.

MANDADO PÉREZ, S.; B. ORAMAS.; M. GOZÁLEZ CARAVAJAL.; M. PANIAGUA ESTÉVEZ.; F. PIÑOL NERY.; C. DOMINGUEZ ALVAREZ. 2003. Diagnóstico morfológico de *Helicobacter pylori* mediante citología gástrica por cepillado. *Rev. Cubana de Med.*; 42 (1): 27-33.

MARCUS, EA. Y SCOTT DR. 2001. Cell lysis is responsible for the appearance of extracellular urease in *Helicobacter pylori*. *Helicob*; 6: 93-99.

MC GOWAN, C.; T. COVER.; M. BLASER. 1996. *Helicobacter pylori* and gastric acid: biological and therapeutic implications. *Gastroenterol.* 110: 926-938.

MCNULTY, C.A.; J.C. DENT.; A. CURRY.; J.S. UFF.; G.A. FORD.; M.W. GEAR.; S.P. WILKINSON. 1989. New spiral bacterium in gastric mucosa. *J Clin Pathol*; 42: 585-591.

MENDOZA, M.L.; P. MARTIN-RABADÁN.; I. CARRIÓN.; J.D MORILLAS.; G. LÓPEZ-ALONSO.; M. DIAZ-RUBIO. 1993. *Helicobacter pylori* infection. Rapid diagnosis with brush cytology. *Acta Cytologica.* 37: 181-185.

MIRZAEIAN, S.; A.A. SARCHAHI.; A. SHOJAEI TABRIZI.; A. DERAKHSHANDEH. 2013. Eradication of gastric *Helicobacter* spp. by triple therapy in dogs. *Veterinari Medicina*, 58, (11): 582–586.

MOYAERT, H.; F. PASMANS.; R. DUCATELLE.; F. HAESEBROUCK.; M. BAELE. 2008. Evaluation of 16S rRNA gene-based PCR assays for genus-level identification of *Helicobacter* species. *J Clin Microbiol*; 46 (5): 1867-1869.

NORRIS, C. R.; S. L. MARKS.; K. A. EATON.; S. Z. TORABIAN.; R. J. MUNN.; J. V. SOLNICK. 1999. Healthy cats are commonly colonized with “*Helicobacter heilmannii*” that is associated with minimal gastritis. *J. Clin. Microbiol.* 37:189– 194.

NYAN, DC.; A.R. WELCH.; A. DUBOIS.; W.G. Jr COLEMAN. 2004. Development of a noninvasive method for detecting and monitoring the time course of *Helicobacter pylori* infection. *Infect Immun.* 72: 5358-5364.

O’ROURKE, J.L.; J.V. SOLNICK.; B.A. NEILAN.; K. SEIDEL.; R. HAYTER.; L.M. HANSEN.; A. LEE. 2004. Description of “*Candidatus Helicobacter heilmannii*” based on DNA sequence analysis of 16S rRNA and urease genes. *Int J Syst Evol Microbiol*; 54: 2203-2211.

OTTO, G.; S.H. HAZELL.; J.G. FOX.; C.R. HOWLETT.; J.C MURPHY.; J.L O’ROURKE. 1994. Animal and public health implications of gastric colonization of cats by *Helicobacter*-like organisms. *J. Clin. Microbiol.* 32: 1043-1049.

PEYROL, S.; P. LECOINDRE.; I. Berger.; J. DELEFORGE.; M. CHEVALLIER. 1998. Differential pathogenic effect of two *Helicobacter*-like organisms in dog gastric mucosa. *J. Submicrosc. Cytol. Pathol.* 30: 425-433.

POLANCO, R.; V. SALAZAR.; N. REYES.; M.A. GARCÍA-AMADO.; F. MICHELANGELI.; M. CONTRERAS. 2011. High prevalence of DNA from non-*H. pylori* helicobacters in the gastric mucosa of Venezuelan pet dogs and its histological alterations. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo.* Jul-Aug;53(4):207-12.

POT, RGJ. ; J. STOOF.; P.J.M. NUIJTEN.; L.A.M. DE HAAN.; P. LOEFFEN.; E.J. KUIPERS.; A.H.M. VAN VLIET.; J.G. KUSTERS. 2007. UreA2B2: a second urease system in the gastric pathogen *Helicobacter felis*. *FEMS Immunol Med Microbiol* ; 50: 273-279.

QUIROGA, LA.; P. URRUTIA CID.; V. MERINO MUÑOZ.; J. TOBAR VILLANUEVA.; A. GARCÍA CANCINO. 2009. Relación entre el grado de contacto perro-propietario y la carga de helicobacterias en mucosa gástrica canina. *Rev Cient Univ Zulia Venezuela.* 19 (5): 455-459.

RAPPIN. 1881. Contribution à l'étude des bactéries de la bouche à l'état normal et dans la

fièvre typhoïde. PhD thesis. Collège de France, Nantes.

RECORDATI, C.; V. GUALDI.; S. TOSI.; R. VAILATI FACCHINI.; G. PENGO.; M. LUINI.; K.W. SIMPSON. ; E. SCANZIANI. 2007. Detection of *Helicobacter* spp. DNA in the oral cavity of dogs. *Vet Microbiol*; 119: 346-351.

SALOMON, H. 1896. Über das Spirillum des Säugetiermagens und sein Verhalten zu den Belegzellen. *Zbl. Bakt. (Zentbl. Bakteriologie) Parasitenkd. Infektionskr. Hyg. Abt. 1* 19, 433-442 and Taf. VIII and Taf IX.; 19: 433-442.

SCANZIANI, E.; W. SIMPSON KENNETH, S. MONESTIROLI, S. SOLDATI, D. STRAUSS-AYALI, F. DEL PIERO. 2001. Histological and immunohistochemical detection of different *Helicobacter* species in the gastric mucosa of cats. *J Vet Diagn Invest*; 13 (1): 3-12.

SCHMEES, C.; C. PRINZ.; T. TREPTAU.; R. RAD.; L. HENGST.; P. VOLAND.; S. BAUER.; L. BRENNER.; R.M. SCHMID.; M. GERHARD. 2007. Inhibition of T-cell proliferation by *Helicobacter pylori* gamma-glutamyl transpeptidase. *Gastroenterol* ; 132: 1820-1833.

SCHREIBER, S.; M. STÜBEN.; C. JOSEPHANS.; P. SCHEID.; S. SUERBAUM. 1999. In vivo distribution of *Helicobacter felis* in the gastric mucus of the mouse: experimental method and results. *Infect. Immun* ; 67: 5151-5156.

SHOJAEI TABRIZI, A.; SH. JAMSHIDI.; A. OGHALAEI.; T. ZAHRAEI SALEHI.; A. BAYATI ESHKAFTAKI.; M. MOHAMMADIA. 2010. Identification of *Helicobacter* spp. in oral secretions vs. gastric mucosa of stray cats. *Veterinary Microbiology* 140 142–146.

SIMPSON, K. 1998. *Helicobacter* spp: do they cause GI disease in dogs and cats XXIII Congress of the world small animal veterinary association. Proceedings. Buenos Aires. Argentina.

SIMPSON, K. y C. BURROWS. 1999. Gastric *Helicobacter* species infection in dogs and cats. *In Pract.* 21: 427-435.

SINGHAL, A.V.; A.R. SEPULVEDA. 2005. *HELICOBACTER HEILMANNII* GASTRITIS: A CASE STUDY WITH REVIEW OF LITERATURE. AM J SURG PATHOL; 29 (11):1537-1539.

STEVENS, A. 1990. Micro-organisms. In: J.D. Bancroft, A. Stevens (eds), Theory and Practice of Histological Techniques, 3rd ed., Churchill Livingstone, New York. : 289-308.

STOFFEL, M. A. E. FRIESS, A. BURNENS, A. SCHMASSMANN, AND R. NEIGER. 2000. Distinction of gastric helicobacter spp. in humans and domestic pets by scanning electron microscopy. *Helicobacter* 5:232–239.

STRAUSS-AYALI D y KW SIMPSON. 1999. Gastric *Helicobacter* infection in dogs. Vet Clin North Am. 29:397-411.

SUNG-WOO HA.; JONG-HYUN YOO.; TAE-HO CHUNG.; WOO-SUNG JUNG.; HWA-YOUNG YOUN.; JOON-SEOK CHAE.; CHEOL-YONG HWANG. 2008. PCR based detection of *Helicobacter* spp. in saliva, dental plaque, vomitus and feces of dogs: J Vet Clin 25(6) 447-451.

TAYLOR, N.S.; A.T. HASUBSKI.; J.G. FOX.; A. LEE. 1992 Haemagglutination profiles of *Helicobacter* species that cause gastritis in man and animals. J. Med. Microbiol. 37: 299-303.

VAN DEN BULCK, K.; A. DECOSTERE.; M. BAELE.; P. VANDAMME.; J. Mast.; R. DUCATELLE.; F. HAESEBROUCK. 2006. *Helicobacter cynogastricus* sp. nov., a *Helicobacter* species isolated from the canine gastric mucosa. Int. J. Syst. Evol. Microbiol. 56:1559–1564.

VAN DEN BULCK, K.; A. DECOSTERE.; M. BAELE.; A. DRIESEN.; JC. DEBONGNIE.; A. BURETTE.; M. STOLTE.; R. DUCATELLE.; F. HAESEBROUCK. 2005. Identification of non-*Helicobacter pylori* spiral organisms in gastric samples from humans, dogs, and cats. J Clin Microbiol. 42: 2256-2260.

WEBER, A.F. Y SCHMITTDIEL E.F. 1962. Electron microscopic and bacteriologic studies of spirilla isolated from the fundic stomachs of cats and dogs. Am J Vet Res; 23: 422-427.

WEBER, A.F.; O. HASA.; J.H SAUTTER. 1958. Some observations concerning the presence of spirilla in the fundic glands of dogs and cats. Am. J. Vet. Res. 19: 677-680.

YAKOOB, J.; Z. ABBAS.; R. KHAN.; S. NAZ.; Z. AHMAD.; M. ISLAM.; S. AWAN.; F. JAFRI.; W. JAFRI. 2012. Prevalence of non *Helicobacter pylori* species in patients presenting with dyspepsia. BMC Gastroenterol 12: 3.

YAMASAKI, K.; H. SUEMATSU.; T. TAKAHASI. 1998. Comparison of gastric lesions in dogs and cats with and without gastric spiral organisms. J. Am. Vet. Med. Assoc. 212: 529-533.

ZHANG, G.; R. DUCATELLE.; E. DE BRUYNE.; M. JOOSTEN.; I. BOSSCHEM.; A. SMET.; F. HAESBROUCK.; B. FLAHOUE. 2015. Role of γ -glutamyltranspeptidase in the pathogenesis of *Helicobacter suis* and *Helicobacter pylori* infections. Vet Res 2015; 46 (31): 1-14.