

DETERMINACIÓN DE LA PRESENCIA DE *Helicobacter spp.* EN PERROS, MEDIANTE BIOPSIA GÁSTRICA OBTENIDA POR ENDOSCOPIA.

Determination of *Helicobacter spp.* by Gastric Biopsy Obtained by Endoscopy in Dogs.

Julio Thibaut ¹, Verónica Paz ¹, Enrique Paredes ² y Santiago Ernst ³

¹ Instituto de Ciencias Clínicas Veterinarias. ² Instituto de Patología Animal. ³ Instituto de Medicina Preventiva Veterinaria. Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Austral de Chile, Casilla 567, Valdivia, Chile. E-mail: jthibaut@uach.cl

RESUMEN

Con el objeto de determinar la frecuencia de presentación de *Helicobacter spp.* se realizó un estudio en caninos de Valdivia, Chile, a través de biopsia gástrica de las zonas fúndica y pilórica obtenida por endoscopia y analizadas mediante las pruebas de ureasa e histología. Los resultados indican que la bacteria *Helicobacter spp.* fue detectada en todos los perros. La prueba de ureasa dio resultados positivos a *Helicobacter* en el 86,2% de las muestras de la zona fúndica y en el 75,9% del antro pilórico. El examen histológico reveló la bacteria en todas las muestras fúndicas y en el 92% de las muestras del antro pilórico. En la zona fúndica las frecuencias obtenidas entre la prueba de ureasa e histología resultaron estadísticamente significativas, a diferencia de lo que se obtuvo en la zona del antro pilórico. La bacteria fue encontrada en perros de todas las edades de ambos sexos. Las muestras que resultaron positivas a la prueba de ureasa, reaccionaron principalmente entre las 3 y 24 horas de incubación. En el examen histológico se determinó el grado de infección por el *Helicobacter spp.*, siendo las muestras clasificadas mayormente en los grados moderado a marcado, ubicándose sobre la superficie de la mucosa, en las fosas gástricas, glándulas gástricas y en las células parietales.

Palabras clave: Perros, estómago, helicobacter, prueba de ureasa, histología.

ABSTRACT

A study was carried out in order to determinate *Helicobacter spp.* in dogs of Valdivia city, Chile. Gastric mucosal biopsy from fundus and pyloric antrum were obtained by endoscopy

and analyzed by urease test and histology. Stomach endoscopic appearance, frequency presentation of *Helicobacter spp.* according to sex and age, time reaction to urease test, degree of infection and distribution *Helicobacter spp.* were analyzed. Results indicated that *Helicobacter spp.* was detected in all dogs. The urease test was positive in 86.2% of the fundus samples and in 75.9% of the pyloric antrum samples. Histological examination revealed the bacterium in all of the fundus samples and in 92% of the antrum samples. In fundus samples the frequency obtained by urease test and histology resulted statistically significant, different to the results obtained in the antrum region. *Helicobacter spp.* was found in young and old animals of both sexes. Samples that gave positive results in the urease test reacted mainly between 3 to 24 hours post incubated. Histological examination to determinate degree of infection to *Helicobacter spp.*, were classified moderate to marked degree and detected on the mucosal surface, gastric pits, gastric glands and parietal cells.

Key words: Dogs, stomach, helicobacter, urease test, histology.

INTRODUCCIÓN

Las bacterias del género *Helicobacter*, se asocian con gastritis, úlcera gastroduodenal y cáncer gástrico, debido al aislamiento de *Helicobacter pylori* desde la mucosa gástrica en humanos [13,40].

Estas bacterias fueron aisladas en el estómago de los perros en 1881, por Rappin [23], y en 1893 por Bizzozero [18], pero no cobró importancia hasta ser aislada y asociada a sintomatología gastrointestinal en humanos.

El género *Helicobacter* incluye actualmente 19 especies [8]. Se caracterizan por ser móviles por flagelos polares monó-

tricos o lofótricos, Gram negativas, microaerofílicas (lo que les permite existir dentro de la mucosa gástrica ya que tiene baja concentración de oxígeno) y una temperatura óptima de crecimiento de 37°C [1, 27].

Hermanns y col. [23], las clasifican según su ubicación en, especies gástricas y no gástricas, encontradas estas últimas en intestino e hígado. Las bacterias *Helicobacter* de ubicación gástrica, se caracterizan por la producción de ureasa. Debido a la acción de esta enzima, se genera amoniaco, originando una cubierta alcalina alrededor de la bacteria, lo que le permite sobrevivir en el medioambiente ácido del estómago [13, 21, 23].

McGowan y col. [29] agregan que su forma espiral y sus múltiples flagelos le facilitan su penetración y movimiento dentro de la capa mucosa, permitiéndole al organismo escapar del pH extremadamente bajo y de los movimientos peristálticos. Valdés [38] señala que producen enzimas proteinasas y lipasas, que les permite obtener nutrientes para su desarrollo, reducir la viscosidad del mucus gástrico y facilitar su movimiento flagelar.

Bacterias de este género han sido detectadas en diversos animales: gatos y perros, hurones, cerdos, terneros, guepardos y primates [23].

Las bacterias gástricas encontradas en perros son *H. felis* [25], *H. bizzozeroni* [13], *H. salomonis* [24], *Flexispira rappini* (*H. rappini*) [5] y *H. heilmannii* [24] y en la mucosa gástrica de los gatos se han encontrado *H. felis*, *H. heilmannii*, *H. pametensis* y *H. pylori* [34].

En humanos se ha descrito que la transmisión de *Helicobacter pylori* se produciría por contacto directo vía oral-oral o fecal-oral, lo cual se ha evidenciado por el aislamiento de la bacteria desde saliva y heces [7]. Por lo tanto, las condiciones sanitarias inadecuadas, podrían favorecerla. En animales, las tasas de prevalencia más altas se han obtenido en aquellos que viven en grupos [5], apoyando el rol que tiene el contacto íntimo en esta transmisión. Además se postula que existiría una vía iatrogénica, dada por una inadecuada limpieza y desinfección de los equipos endoscópicos [9,36]. Por último, Hänninen y col. [14], Cattoli y col. [3] y Happonen [17] demostraron que los cachorros pueden adquirir la infección con *Helicobacter* gástrico desde las hembras durante el período de lactancia y a su vez, los cachorros pueden infectar a otros durante su crecimiento.

Recientemente, Hegarty y col. [20] han aislado *H. pylori* en EUA y Suecia desde la superficie del agua, sugiriendo que la infección del agua sea probablemente una ruta importante de difusión.

La infección se ha detectado en perros de 2 y más de 11 años de edad meses así como en gatos desde 5 meses a 10 años de edad [40].

El vómito crónico es común en perros y gatos, y se ha ligado a menudo con gastritis. La bacteria *Helicobacter* se ha sugerido como un factor etiológico de gastritis crónica [11, 21]. Heilmann y Borchard [21] señalan que el amoniaco, que es producido en el desdoblamiento de la urea, ayuda a inflamar y erosionar la mucosa gástrica, colaborando de esta manera con la patogenia de la gastritis y/o úlceras gástricas.

Los organismos *Helicobacter* gástricos se ubican en las regiones cardial, fúndica, cuerpo y pilórica del estómago [13], encontrándose histológicamente sobre la superficie de la mucosa, en las fosas gástricas, glándulas gástricas y células parietales [22].

Los cambios histológicos tales como, inflamación, folículos linfoides y degeneración de las glándulas gástricas y células parietales en presencia de *Helicobacter* gástrico, indicarían la patogenicidad de la bacteria [23]. Sin embargo, estos cambios se han detectado no solamente en perros y gatos con sintología gastrointestinal, sino también en animales clínicamente sanos [34].

Actualmente existe gran preocupación respecto al potencial de los animales domésticos, de ser una posible fuente zoonótica de la infección de *Helicobacter* [24]. Se evaluó anticuerpos de *H. pylori* en dueños de gatos y los compararon con personas sin contacto con gatos, sin observarse aumento del riesgo en el primer grupo [39].

Se ha propuesto que *H. pylori* es una antroponosis, o sea, una infección animal con un patógeno humano [35].

En el presente estudio se determinará la presencia de *Helicobacter spp.* en el estómago de perros de la ciudad de Valdivia, Chile, mediante la prueba de ureasa y la observación histológica de biopsias gástricas obtenidas por endoscopia.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se examinaron 29 perros (9 machos y 20 hembras), de 7 meses a 11 años de edad, y entre 5,5 a 21,2 kg. de peso. Los exámenes endoscópicos, toma de biopsias y la prueba de ureasa se realizaron en el Hospital Clínico Veterinario y los exámenes histológicos en el Instituto de Patología Animal de la Universidad Austral de Chile, de la ciudad de Valdivia.

Los animales se sometieron a un ayuno de 24 horas previo al examen endoscópico, ya que se requería tener el estómago sin contenido para realizar un adecuado examen visual de la superficie gástrica y reconocimiento de sus zonas. Se realizó anestesia general en base a acepromazina, atropina y tiopental sódico. El examen se realizó con un fibroscopio flexible SCHOTT modelo VFS – 321102, de origen alemán, de 10mm de calibre y 110cm de largo, con una fuente de luz modelo 1185 – A Illuminator de 150 Watt. Las imágenes se grabaron en sistema VHS.

Cada animal fue puesto en posición decúbito lateral izquierdo para que el antro y el píloro quedaran en contraposición a la mesa, facilitando la introducción del endoscopio y una mejor visualización del estómago.

El endoscopio se introdujo por vía oral, desde el esófago al esfínter gastroesofágico, pasando por el esfínter esófago proximal, deslizando el endoscopio por toda la longitud del esófago hasta llegar al cardias, pasándolo con cuidado hacia el estómago en donde se observó los pliegues rugosos de la mucosa gástrica a lo largo de la curvatura mayor. Luego se insufló una pequeña cantidad de aire para distender el lumen, esta distensión alisa los pliegues y ayuda a visualizar la superficie de la mucosa [37]. Una vez localizada la incisura angular, pliegue que demarca la unión entre la curvatura menor y el antro pilórico, se ubicaba el antro. Hacia arriba se ubica el cuerpo del estómago y retroflectando la punta del endoscopio se observa la zona cardial y fúndica mediante la maniobra endoscópica de retroversión [6,28].

Se realizó un examen visual de la mucosa del estómago, que es rosada, lisa y brillante, evaluándose la presencia de enrojecimiento, cantidad de mucus, erosiones y/o úlceras. La apariencia endoscópica del estómago de animales que presentan gran número de *Helicobacter spp.* presenta aumento de mucus y marcas eritematosas en la mucosa superficial, lo que parece estar correlacionado con los folículos linfoides, dando la apariencia de elevaciones blanquecinas sobre un fondo eritematoso (aspecto de empedrado) [34].

Se obtuvieron dos biopsias de mucosa gástrica desde cada región (fondo y antro pilórico). La primera se utilizó para la prueba de ureasa y la segunda para el examen histológico.

Las biopsias utilizadas para la prueba rápida de ureasa eran extraídas desde la pinza de biopsia y sumergidas en el gel contenido en el pocillo del He-Py Test (Bios Chile Ingeniería Genética S.A), registrándose los datos del animal en el reverso indicando: número, fecha y hora en que se depositó la muestra, la que se mantuvo entre 30 y 40°C durante las tres primeras horas, y posteriormente a temperatura ambiente 20°C. La muestra se observó a los 2; 3; 15; 30 min., 1,3 y 24 horas. El test se basa en la detección de la actividad de ureasa. Las biopsias se colocan en un sustrato que contiene urea junto a un indicador de pH (rojo fenol). Se considera positiva

cuando existe un cambio de color de amarillo a rosado, ya que si existen bacterias *Helicobacter* en la muestra, habrá ureasa que desdoblará la urea en amoníaco [6].

Las muestras utilizadas para el examen histológico, se colocaron en tubos que contenían formalina al 10%, identificados con el número del animal y zona del estómago, posteriormente se realizó la inclusión en parafina y tinción de plata (Warthin-Starry), que se caracteriza por ser una prueba rápida, económica, de alta sensibilidad y especificidad [15]. La presencia de la bacteria se evidencia en cortes histológicos de mucosa gástrica teñidos con la tinción de plata capaz de detectar cantidades pequeñas de bacterias que son fácilmente distinguibles desde la mucosa, especialmente en glándulas y células parietales como espirales negras sobre un fondo café [34].

De acuerdo al examen histológico de las biopsias gástricas, se clasificó el grado de infección con *Helicobacter* en: ausencia, leve, moderado o marcado [14], utilizándose una escala análoga visual modificada para muestras de biopsias gástricas caninas [4] (TABLA I).

Los datos fueron analizados mediante estadística descriptiva. Se utilizó en la frecuencia de presentación de *Helicobacter spp.* entre las pruebas diagnósticas y entre las zonas gástricas la prueba de Ji cuadrado (χ^2) de Mac Nemar para observaciones relacionadas, con un nivel de significación de 0,05.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Apariencia endoscópica del estómago.

La apariencia endoscópica del estómago observada en la mayoría de los perros no evidenció alteraciones, presentando los 29 perros las siguientes características: en un 17,2% (5 perros) se observó enrojecimiento de la mucosa, 20,7% (6 perros) presentaron una cantidad aumentada del mucus, 2 perros presentaron edema en la superficie gástrica y ninguno evidenció erosiones o úlceras (FIG. 1).

La endoscopia es un excelente procedimiento para obtener biopsias del estómago y utilizarlas para los distintos métodos de diagnóstico de *Helicobacter spp.* La endoscopia gástrica permite realizar una inspección visual de la apariencia del estómago, evaluar el color y la consistencia de la superficie

TABLA I
GRADO DE INFECCIÓN CON *Helicobacter spp.*/ *Helicobacter spp.* INFECTION SCALE.

Ausencia	Leve	Moderado	Marcado
No se observa infección con <i>Helicobacter spp.</i>	Se observan pocos organismos sobre la superficie mucosa con o sin organismos en las glándulas gástricas o células parietales.	Varios organismos observados sobre la superficie mucosa con o sin organismos en glándulas gástricas y/o, células parietales, o pocos organismos sobre la superficie mucosa y algunos en las glándulas gástricas, células parietales o ambos.	Se observan numerosos organismos sobre la superficie mucosa y varios organismos en las glándulas gástricas o células parietales.

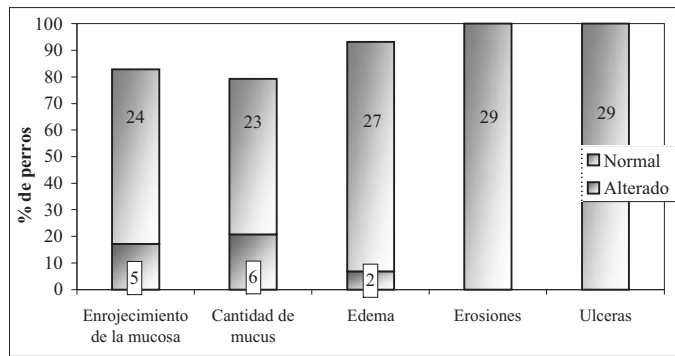


FIGURA 1. CARACTERÍSTICAS EN LA APARIENCIA DEL ESTÓMAGO OBSERVADAS A TRAVÉS DEL EXAMEN ENDOSCÓPICO EN 29 PERROS (*CANIS FAMILIARIS*) DE LA CIUDAD DE VALDIVIA-CHILE/STOMACH APPEARANCE THROUGH ENDOSCOPIC EXAMINATION IN 29 DOGS FROM VALDIVIA CITY-CHILE.

mucosa [12]. Para que esta inspección sea objetiva es importante que al avanzar con el endoscopio se examine las alteraciones macroscópicas, para no confundirse con lesiones que sean provocadas por el instrumento [33].

Happonen y col. [14], examinaron 25 perros clínicamente sanos y 21 con signos gastrointestinales, de 1,5 a 8 años, sin encontrar evidencia de lesiones macroscópicas a pesar de obtener prevalencias de *Helicobacter spp.* en los sanos y en el 95% de los afectados. Esto coincide con los resultados obtenidos en esta investigación, ya que en la mayoría de los perros, aún presentando frecuencias altas de la bacteria, no presentaron alteraciones.

La infección con *Helicobacter spp.* a menudo es detectada en mucosas que no presentan alteraciones macroscópicas, por lo cual los términos usados para describir anomalías de la superficie mucosal, como edema, eritema, friabilidad, exudado, erosiones, hiperplasia y atrofia de pliegues, son de limitado valor y de baja correlación con los hallazgos histológicos [31].

Esto se podría explicar porque las alteraciones que produce la infección con *Helicobacter spp.* son microscópicas, por lo tanto, no se indica el examen visual de la mucosa gástrica como para el diagnóstico de la bacteria [33].

Frecuencias de presentación de *Helicobacter spp.*

Presentación de *Helicobacter spp.* gástrico en los perros según zona del estómago. Todos los perros resultaron positivos a la detección de la bacteria *Helicobacter spp.* según los métodos de diagnóstico “prueba de ureasa e histología”.

Del total de perros (29) sometidos a la prueba de ureasa, 25 (86,2%) resultaron positivos a la presencia de *Helicobacter spp.* en la zona fúndica y 22 (75,9%) en la zona del antro pilórico, no encontrándose diferencias ($\chi^2 = 0,8182$ y $P = 0,3657$), esto coincide en parte con lo reportado por Happonen y col., quienes al utilizar 10 perros y obtener muestras de 3 zo-

nas gástricas (fúndica, cuerpo y antro), obtuvieron resultados positivos a la prueba de ureasa en el 100% para el cuerpo, 95% en la zona fúndica y 62% en el antro pilórico.

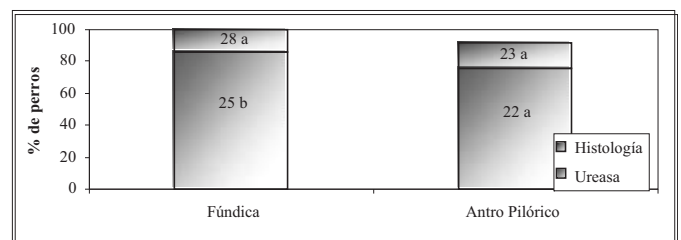
En humanos se ha utilizado la prueba del aliento urémico para confirmar la erradicación de *H. pylori*, luego de un tratamiento antimicrobiano [2].

La frecuencia de *Helicobacter spp.* obtenida mediante el examen histológico indica que los resultados son similares entre ambas zonas ($\chi^2 = 2$ y $P = 0,1573$).

Se encontraron diferencias significativas entre las frecuencias obtenidas por la prueba de ureasa y de histología en la zona fúndica ($\chi^2 = 4$ y $P = 0,0455$). En la zona del antro pilórico, los resultados no revelaron diferencias significativas ($P < 0,05$). (FIG. 2).

La frecuencia de *Helicobacter spp.* mediante la prueba de histología se obtuvo con una menor cantidad de muestras, debido a la pérdida durante el procesamiento histológico de 1 muestra fúndica y 4 muestras del antro pilórico, lo que se debe al pequeño tamaño de ellas, causado por una sobreinsuflación del estómago, lo que impide, en ciertas ocasiones, la obtención de muestras de adecuado tamaño [33, 37]. Al respecto Happonen y col. [16], señalan que es difícil obtener muestras del antro pilórico debido a las características anatómicas que posee, razón por la cual algunos endoscopistas no obtienen rutinariamente biopsias desde el antro a menos que hayan cambios macroscópicos visibles.

El examen histológico detectó la bacteria en todas las muestras obtenidas de la zona fúndica y en el 92% del antro pilórico. Estos resultados concuerdan con los obtenidos por Eaton y col. [5], quienes detectaron en el examen histológico y test de ureasa la bacteria en todos los perros del grupo A y B (31 perros de laboratorio y 8 perros provenientes de un albergue) y en el 67% en el grupo C (15 animales con patología gastrointestinal). Del mismo modo, Cattoli y col. [3], con 25 perros infectados naturalmente obtuvieron un 92% positivos a *Helicobacter spp.*, y Happonen [17], en 25 perros clínicamente sanos y 21 perros con signología de gastritis, encontró *Helicobacter spp.* en todos los sanos y en el 95% de los afectados.



*Letras diferentes indican diferencia significativa ($P < 0,05$).

FIGURA 2. FRECUENCIA DE PRESENTACIÓN DE *HELICOBACTER SPP.* EN 29 PERROS DE LA CIUDAD DE VALDIVIA, MEDIANTE “PRUEBA DE UREASA” E “HISTOLOGÍA”, SEGÚN ZONA DEL ESTÓMAGO/ GASTRIC *HELICOBACTER SPP.* PRESENTATION IN 29 DOGS BY MEANS OF “UREASA TEST” AND “HISTOLOGICAL” EXAMINATION.

En relación a las altas frecuencias detectadas de *Helicobacter spp.*, Eaton y col. [5] señalan que éstas se presentan en animales que viven en grupos, como sucedió en un estudio realizado por Henry y col. [22], donde todos los perros de raza beagle criados en un laboratorio tenían la bacteria.

En el presente trabajo las altas frecuencias obtenidas se podrían deber a que estos perros, si bien tenían propietario, permanecían la mayor parte del tiempo en la vía pública, posibilitando el contacto con otros animales y facilitando la transmisión de la bacteria. La presencia de *Helicobacter spp.* detectada en perros menores al año de edad, puede deberse a que la infección de esta bacteria es adquirida durante el periodo de lactancia, siendo la madre el reservorio, y además a que los cachorros pueden infectar a otros durante su etapa de crecimiento [14].

Frecuencia de *Helicobacter* gástrico según sexo y edad.

En la prueba de la ureasa se observó que los 9 machos presentaron la bacteria en las biopsias de la zona fúndica, a su vez 16 hembras resultaron positivas (80%). En la zona del antro pilórico, 8 machos y 14 hembras resultaron positivos a la prueba de la ureasa.

En el examen histológico, todos los machos y hembras presentaron la bacteria en la zona fúndica. En la zona antro pilórico se detectó *Helicobacter spp.* en 8 machos y 15 hembras (TABLA II). En relación a la edad se pudo determinar que existe una alta presencia de *Helicobacter spp.* en los distintos rangos de edad, encontrándose en perros menores a 1 año como en perros de 8-12 años (TABLA III).

La bacteria fue encontrada, tanto en animales jóvenes como viejos de ambos sexos, lo que coincide con Happonen [16, 17], quienes señalan que las tasas de prevalencia fueron similares en perros de todas las edades y sexos, además no se detectó asociación entre la edad y la densidad de colonización.

Tiempo de reacción de las muestras positivas a la prueba de la ureasa.

Considerando el promedio del tiempo de reacción de ambas zonas, un 39,4% de las muestras reaccionaron a las 3 horas de iniciada la prueba y un 49,6% reaccionaron a las 24 horas (TABLA IV).

De las 29 muestras obtenidas, resultaron positivas a la prueba de la ureasa 25 de la región fúndica y 22 del antro pilórico, reaccionando la mayoría entre las 3 y las 24 horas (89,4%), lo que es semejante con lo observado en el estudio de Lee y col. [26], quienes utilizando 5 perros inoculados experimentalmente, observaron que las muestras de las zonas (cardial, fúndica, cuerpo, antro pilórico y canal pilórico), reaccionaron en su mayoría entre las 6 y las 24 horas (76%). Sin embargo, los tiempos de reacción en la prueba de la ureasa difieren con lo obtenido por Happonen [17], donde sus resultados fueron registrados entre los 15 y los 60 minutos posterior a la incubación de las muestras.

Estas diferencias se podrían explicar según Malfertheiner [31], debido a que existirían factores que pueden influenciar la rapidez para obtener el resultado del test, los cuales serían, volumen del caldo o agar, concentraciones de urea y fenol, pH y temperatura de incubación.

En el presente trabajo, el tiempo de reacción y el grado de infección, no indicaron una relación inversa entre ambas variables; sin embargo, para Hazell y col., citado por Lee y col. [19], y Happonen [17], el tiempo entre incubación de la muestra en la prueba de la ureasa y registro de la reacción positiva, es proporcional al número de bacterias, por lo tanto, un tiempo menor de reacción indicaría mayor número de bacterias en la muestra.

Comparación de los métodos de diagnóstico.

La prueba de la ureasa obtuvo una frecuencia menor de positividad (86,2 y 75,9%) en comparación al método histológico.

TABLA II
FRECUENCIA DE PRESENTACIÓN DE *HELICOBACTER SPP.* SEGÚN SEXO, MEDIANTE EL MÉTODO DE DIAGNÓSTICO "PRUEBA DE UREASA" (A) E "HISTOLOGÍA" (B) EN LA REGIÓN FÚNDICA Y ANTRO PILÓRICO DEL ESTÓMAGO EN 29 PERROS DE LA CIUDAD DE VALDIVIA-CHILE/GASTRIC *HELICOBACTER SPP.* PRESENTATION ACCORDING SEX BY MEANS OF "UREASA TEST" AND "HISTOLOGICAL" EXAMINATION FROM FUNDIC AND PYLORIC ZONE IN 29 DOGS FROM VALDIVIA CITY-CHILE.

Sexo	n	Región del estómago				
		Fúndica		Antro-Pilórico		
		Positivo	%	n	Positivo	%
A						
Macho	9	9	100	9	8	88,9
Hembra	20	16	80	20	14	70,0
B						
Machos	9	9	100	9	8	88,9
Hembras	19 ¹	19	100	16 ²	15	93,8

¹ Pérdida de 1 muestra en el proceso de deshidratación. ² Pérdida de 4 muestras en el proceso de deshidratación.

TABLA III
FRECUENCIA DE PRESENTACIÓN SEGÚN EDAD, DE HELICOBACTER SPP., OBTENIDA POR LA “PRUEBA DE UREASA” (A) E “HISTOLOGÍA” (B) EN LA REGIÓN FÚNDICA Y ANTRO PILÓRICO DEL ESTÓMAGO EN 29 PERROS DE LA CIUDAD DE VALDIVIA-CHILE/ GASTRIC HELICOBACTER SPP., PRESENTATION ACCORDING AGE BY JEANS OF “UREASA TEST” AND “HISTOLOGICAL” EXAMINATION FROM FUNDIC AND PYLORIC ZONE IN 29 DOGS FROM VALDIVIA CITY-CHILE.

Edad (años)	n	Región del estómago					
		Fúndica			Antro-Pilórico		
		Positivo	%	n	Positivo	%	
A							
< 1	4	4	100	4	2	50	
1 - < 5	10	7	70,0	10	9	90,0	
5 - < 8	9	8	88,9	9	5	55,5	
8 - 12	6	6	100	6	6	100	
B							
< 1	4	4	100	4	3	75,0	
1 - < 5	10	10	100	9 ²	9	100	
5 - < 8	9	9	100	7 ²	6	85,7	
8 - 12	5 ¹	5	100	5 ²	5	100	

¹ Pérdida de 1 muestra en el proceso de deshidratación. ² Pérdida de 1, 2 y 1 muestras en el proceso de deshidratación.

TABLA IV
TIEMPO DE REACCIÓN DE LAS MUESTRAS POSITIVAS EN LA PRUEBA DE LA UREASA, SEGÚN ZONA DEL ESTÓMAGO EN 29 PERROS DE LA CIUDAD DE VALDIVIA-CHILE/TIME OF REACTION IN POSITIVE UREASA TEST SAMPLES ACCORDING TO STOMACH AREA IN 29 DOGS FROM VALDIVIA CITY-CHILE.

Región del estómago	n	Muestras positivas							
		Intervalos de lectura							
		30 min.	%	1 H.	%	3 H.	%	24 H.	%
Fúndica	25	0	-	1	4,0	14	56,0	10	40,0
Antro pilórico	22	2	9,1	2	9,1	5	22,7	13	59,1

co (100 y 92%) en las biopsias de la zona fúndica y antro pilórico.

En la zona fúndica 24 muestras resultaron positivas para ambos métodos y en 4 muestras, que para la prueba de la ureasa resultaron negativas, histológicamente se clasificaron en grado medio (1) y en grado marcado (3). En el antro pilórico 20 muestras positivas y 2 negativas coincidieron para ambos métodos. Tres muestras que resultaron negativas para ureasa, fueron positivas en el examen histológico y se clasificaron en grado medio (2) y grado marcado (1).

Estas diferencias de los resultados obtenidos entre un método y otro, también fueron observados por Happonen y col. [15], quienes detectaron la bacteria en un 95% en la zona fúndica y 62% en el antro pilórico mediante la prueba de la ureasa, mientras mediante histología los resultados fueron 100% y 74%, respectivamente.

La obtención de falsos negativos en la prueba de la ureasa, se debería al pequeño número de *Helicobacter spp.* presentes en la muestra [15], o debido a la discontinua distri-

bución de la bacteria en el estómago [30], o por una pérdida espontánea de la actividad enzimática de la ureasa, fenómeno visto en distintas especies de *Helicobacter* [24]. El manual de He-Py Test indica como limitaciones el tamaño de las muestras y la distribución de las bacterias en el estómago. A pesar de ello la prueba de la ureasa se considera bastante segura [15].

Resultados falsos positivos, aunque raros, pueden ocurrir debido a otras bacterias gástricas productoras de ureasa como: *Proteus* y *Klebsiella* [10, 32].

Grado de infección de *Helicobacter spp.* según escala análoga visual en el examen de histología.

Se observó que en la zona fúndica, el total de muestras procesadas se encontraba con bacterias, y el 57,1% se clasificó en grado marcado.

De las 25 muestras provenientes del antro pilórico, 2 (8,0%) no presentaban bacterias y un 44% se clasificó en grado marcado.

Para determinar el grado de infección con *Helicobacter spp.* se utilizó una escala análoga visual para las muestras de biopsia gástrica, lo que hace posible la comparación entre distintos estudios [16].

El 85,7% de las muestras de la zona fúndica y el 68% de las muestras del antro, que se analizaron por histología, presentaban moderado a marcado grado de infección. Eaton y col. [5], en 3 grupos de perros (31 perros de laboratorio, 8 perros de un albergue y 15 perros con afección gastrointestinal), detectaron que la mayoría presentaba grado de infección moderado a marcado, sin presentar diferencias significativas entre ellos. A su vez, Happonen y col. [16], en 25 perros sanos y 21 perros con gastritis, obtuvieron una clasificación en grado moderado a marcado en ambos grupos.

Distribución de *Helicobacter spp.*

Por ambos métodos de diagnóstico las bacterias *Helicobacter spp.* se detectaron en las dos regiones del estómago. En la observación directa de las bacterias en el examen histológico, se determinó su distribución dentro de las zonas del estómago, a nivel superficial (sobre la superficie de la mucosa y las fosas gástricas) y a nivel más profundo en las glándulas gástricas y células parietales (FIG. 3).

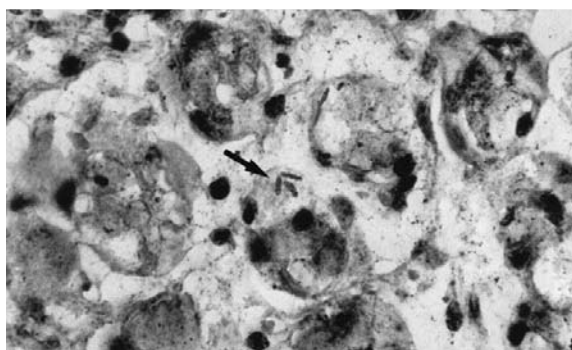


FIGURA 3. DEMOSTRACIÓN DE HELICOBACTER SPP. EN GLÁNDULAS GÁSTRICAS DE LA REGIÓN FÚNDICA DEL ESTÓMAGO DE UN CANINO TINCIÓN DE WARTHIN-STARRY (X100)/ HELICOBACTER SPP. IN GASTRIC GRAND FROM FUNDIC STOMACH AREA IN A DOG WARTHIN-STARRY STAIN (X 100).

Las bacterias se encontraron principalmente en la zona fúndica, sin presentar diferencias significativas respecto del antro pilórico, lo que sería explicado por Happonen [17], al señalar que los *Helicobacter spp.* caninos y felinos pueden tener una mayor afinidad por las células parietales que el *Helicobacter pylori* en humanos, y esto podría estar relacionado a la predominancia de la bacteria por zonas distintas al antro pilórico. Yamasaki y col. [40], al trabajar con 21 perros sanos y 56 con signología gastrointestinal, detectaron que la bacteria se encontraba en un 70% en la zona fúndica y en un 45% en el antro pilórico.

Durante el examen histológico de la mucosa gástrica, se pudo determinar que las bacterias *Helicobacter spp.* se localizan en la superficie de la mucosa y en las fosas gá-

stricas, así como en las glándulas gástricas y células parietales, lo que coincide con lo señalado por diferentes autores [15, 22, 23, 40].

CONCLUSIONES

Se concluye que *Helicobacter spp.* es una bacteria habitante común del estómago de los perros de las distintas edades y sexos estudiados, la cual no produce alteraciones evidentes en la apariencia endoscópica del estómago.

La bacteria fue detectada en todos los perros estudiados, por medio de la prueba de la ureasa y del examen histológico, de las biopsias obtenidas de la zona fúndica y del antro pilórico.

Las bacterias fueron encontradas en la superficie de la mucosa, fosas y glándulas gástricas así como en las células parietales, clasificándose las biopsias gástricas, en su mayoría, en un grado alto de infección.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] ANDREWS, E.; FERNÁNDEZ, H. Género *Helicobacter*: una entidad taxonómica en expansión, de características zoonóticas. **Rev. Chil. Cs. Med. Biol.** 7: 17-24. 1997.
- [2] ATHERTON, J.C.; SPILLER, R.C. The urea breath test for *Helicobacter pylori*. **Gut.** 35: 723-725. 1994.
- [3] CATTOLI, G.; VAN VUGT, R.; ZANONI, G.; SANGUINETTI, V.; CHIOCCETTI, R.; GUALTIERI, M.; VANDENBROUCKE-GRAULS, C.; GAASTRA, W.; KUSTERS, J.G. Occurrence and characterization of gastric *Helicobacter spp.* in naturally infected dogs. **Vet. Microbiol.** 70: 239-250. 1999.
- [4] DIXON, M.F.; GENTA, R.M.; YARDLEY, J.F. Classification and grading of gastritis. The updated Sydney System. **Am. J. Surg. Pathol.** 20: 1161-1181. 1996.
- [5] EATON, K.; DEWHIRST, F.; PASTER, B.; TZELLAS, N.; COLEMAN, B.; PAOLA, J.; SHERDING, R. Prevalence and varieties of *Helicobacter species* in dogs from random sources and pet dogs: animal and public health implications. **J. Clin. Microbiol.** 34: 3165-3170. 1996.
- [6] ETTINGER, S. Textbook of Veterinary Internal Medicine. 5th Ed., W.B. Saunders, Philadelphia. USA. 391-392, 1163-1164pp. 2000.
- [7] FOX, J.G.; PERKINS, S.; YAN, L.; SHEN, Z.; ATTARDO, L.; PAPPO, J. Local immune response in *Helicobacter pylori*-infected cats and identification of *H. pylori* in saliva, gastric fluid and faeces. **Inmunol.** 88: 400-406. 1996.
- [8] FOX, J.G.; LEE, A. The role of *Helicobacter species* in newly recognizedgastrointestinal tract diseases of animals. **Lab. Anim. Sci.** 47: 222-255. 1997.

- [9] GITNICK, G. Diagnosis and management of peptic ulcer disease. Professional Communications Inc. Fulfillment Center. 2nd Ed., Caddo, OK. USA. 117-123 pp. 1997.
- [10] GOLDIE, J.; VELDHUYZEN, S.J.O.; JALALI, S.; HOLLINGSWORTH, J.; RIDDELL, R.H.; RICHARDSON, H.; HUNT, R.C. Optimization of a medium for the rapid urease test for detection of *Campylobacter pylori* in gastric antral biopsies. **J. Clin. Microbiol.** 27: 2080-2082. 1989.
- [11] GUILFORD, W.G.; STROMBECK, D.R. 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. 275-302 pp. 1996.
- [12] HALL, J.A. Clinically evaluating gastric diseases in dogs and cats. **Vet. Med.** 95: 450-465. 2000.
- [13] HÄNNINEN, M.L.; HAPPONEN, I.; SAARI, S.; JALAVA, K. Culture and characteristics of *Helicobacter bizzozeronii*, and new canine gastric *Helicobacter spp.* **Int. J. Syst. Bacteriol.** 46: 160-166. 1996.
- [14] HÄNNINEN, M.L.; HAPPONEN, I.; JALAVA, K. Transmission of canine gastric *Helicobacter salomonis* infection from dam to offspring and between puppies. **Vet. Microbiol.** 62: 47-58. 1998.
- [15] HAPPONEN, I.; SAARI, S.; CASTREN, L.; TYNI, O.; HÄNNINEN, M.L.; WESTERMARCK, E. Comparison of diagnostic methods for detecting gastric helicobacters-like organisms in dogs and cats. **J. Comp. Path.** 115: 117-127. 1996.
- [16] HAPPONEN, I.; LINDEN, J.; SAARI, S.; KARJALAINEN, M.; HÄNNINEN, M.L.; JALAVA, K.; WESTERMARCK, E. Detection and effects of *helicobacter* in healthy dogs and dogs with signs of gastritis. **J. Am. Vet. Med. Assoc.** 213: 1767-1774. 1998.
- [17] HAPPONEN, I. Canine and feline gastric *Helicobacters*: diagnosis and significance in chronic gastritis. Faculty of Veterinary Medicine, University of Helsinki Helsinki, Finland. (Thesis) 44, 46, 55, 57, 58, 64 pp. 1999.
- [18] HAPPONEN, I.; LINDEN, J.; WESTERMARCK, E. Effect of triple therapy on eradication of canine gastric *Helicobacter A.* and gastric disease. **J. Small Anim. Pract.** 41: 1-6. 2000.
- [19] HAZELL, S.L.; BORODY, T.J.; GAL, A.; LEE, A. *Campylobacter pyloridis* gastritis I: detection of urease as a marker of bacterial colonization and gastritis. **Am. J. Gastroenterol.** 82: 292-296. 1987.
- [20] HEGARTY, J.; DOWD, M.; BAKER, K. Occurrence of *Helicobacter pylori* in surface water in the United States. **Appl. Environ. Microbiol.** 87: 697-701. 1999.
- [21] HEILMANN, K.; BORCHARD, F. Gastritis due to spiral shaped bacteria other than *Helicobacter pylori*: clinical, histological, and ultrastructural findings. **Gut.** 32: 137-140. 1991.
- [22] HENRY, G.; LONG, P.; BURNS, L.; CHARBONNEAU, D. Gastric spirillosis in beagles. **Am. J. Vet. Res.** 48: 831-836. 1987.
- [23] HERMANN, W.; KREGEL, K.; BREUER, W.; LECHNER, J. Helicobacter-like organisms: histopathological examination of gastric biopsies from dogs and cats. **J. Comp. Path.** 112: 307-318. 1995.
- [24] JALAVA, K.; STEPHEN, L.; VANDAMME, P.; HAPPONEN, I.; SUKURA, A.; HÄNNINEN, M.L. Isolation and identification of *Helicobacter spp.* from canine and feline gastric mucosa. **Appl. Environ. Microbiol.** 64: 3998-4006. 1998.
- [25] LEE, A.; HAZELL, S.L.; O'ROURKE, J.; KOUPRACH, S. Isolation of a spiral-shaped bacterium from the cat stomach. **Infect. Immun.** 56: 2843-2850. 1988.
- [26] LEE, A.; KRAKOWKA, S.; FOX, J.G.; OTTO, G. Role of *Helicobacter felis* in chronic canine gastritis. **Vet. Pathol.** 29: 487-494. 1992.
- [27] LEE, A.; FOX, J.; HAZELL, S. Pathogenicity of *Helicobacter pylori*: a perspective. **Infect. Immun.** 61: 1601-1610. 1993.
- [28] LEIB, M.; MONROE, W. Practical small animal internal medicine. W.B. Saunders, Philadelphia. USA. 661 pp. 1997.
- [29] Mc GOWAN, C.; COVER, T.; BLASER, M. *Helicobacter pylori* and gastric acid: biological and therapeutic implications. **Gastroenterol.** 110: 926-938. 1996.
- [30] Mc NULTY, C.A.; DENT, J.C.; CURR, A.; UFF, J.S.; FORD, G.A.; GEAR, M.W.; WILKINSON, S.P. New spiral bacterium in gastric mucosa. **J. Clin. Pathol.** 42: 585-591. 1989.
- [31] MALFERTHEINER, P. Diagnosis of *Helicobacter pylori* infection. In: Axon, A. T. R. (Ed.). *Helicobacter pylori* its role in gastrointestinal disease. Science Press, Leeds. UK. 46-56pp. 1994.
- [32] PAJARES, J.M. Diagnóstico de *Helicobacter pylori*: técnicas diagnósticas y recomendaciones para su utilización en la práctica. **Rev. Gastroenterol.** 3: 69-84. 2001.
- [33] SIMPSON, J.W. Sistema gastrointestinal y páncreas exocrino. En: Davidson, M., R. Else, J. Lumsden. (Eds.) Manual de patología clínica en pequeños animales. Ediciones S., Barcelona. España. Cap. 8. 197-223pp. 2000.
- [34] SIMPSON, K.; BURROWS, C. Gastric *Helicobacter species* infection in dogs and cats. **In Pract.** 21: 427-435. 1999.

- [35] SIMPSON, K.; NEIGER, R.; DE NOVO, R.; SHERDING, R. The relationship of *Helicobacter spp.* infection to gastric disease in dogs and cats. **J. Vet. Intern. Med.** 14: 223-227. 2000.
- [36] MOOT, D. Microbiology and epidemiology of *H. pylori* infection. **Drug Benefit Trends.** 8: 10-15. 1996.
- [37] TAMS, T.R. Small animal endoscopy. C.V. Mosby Company, Philadelphia. USA. 497pp. 1990.
- [38] VALDÉS, A. *Helicobacter spp.* ¿nuevo patógeno en caninos y felinos? **Monogr. Med. Vet.** 20: 117-123. 2000.
- [39] WEBB, P.; KNIGHT, T.; ELDER, J. Is *Helicobacter pylori* transmitted from cats to humans? **Helicobacter.** 1:79-81. Citado por Neiger, R., K. Simpson. 2000. *Helicobacter* infection in dogs and cats: facts and fiction. **J. Vet. Intern. Med.** 14:125-133. 1996.
- [40] YAMASAKI, K.; SUEMATSU, H.; TAKAHASHI, T. Comparison of gastric lesions in dogs and cats with and without gastric spiral organisms. **J. Am. Vet. Med. Assoc.** 212: 529-533. 1998.