

UNIVERSIDAD AUSTRAL DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS
INSTITUTO DE CIENCIAS CLÍNICAS VETERINARIAS

**DETERMINACIÓN DE LA PRESENCIA DE *Helicobacter sp.* EN PERROS
(*Canis familiaris*) DE VALDIVIA, A TRAVÉS DE BIOPSIA GÁSTRICA
OBTENIDA POR ENDOSCOPIA.**

Memoria de Título presentada como parte
de los requisitos para optar al TÍTULO DE
MÉDICO VETERINARIO.

VERÓNICA MARCELA PAZ ZÚÑIGA.

VALDIVIA – CHILE

2002

PROFESOR PATROCINANTE Julio Thibaut L.
Nombre Firma

PROFESOR COPATROCINANTE Enrique Paredes H.
Nombre Firma

PROFESOR COLABORADOR Santiago Ernst M.
Nombre Firma

PROFESORES CALIFICADORES Gastón Valenzuela J.
Nombre Firma

Fernando Wittwer M.
Nombre Firma

FECHA DE APROBACIÓN: 20 de Junio 2002

A mis padres, por ser los mejores y apoyarme en este camino.

A Emilio, por su amor, su colaboración, sus consejos y confianza.

A mis hermanos, Soledad y Wilson, por su cariño.

ÍNDICE.

CAPÍTULO	PÁGINA
1. RESUMEN	1
2. SUMMARY	2
3. INTRODUCCIÓN	3
4. MATERIAL Y MÉTODOS	9
5. RESULTADOS	14
6. DISCUSIÓN	21
7. BIBLIOGRAFÍA	26
8. ANEXOS	32
9. AGRADECIMIENTOS	38

1. RESUMEN.

El presente estudio se realizó con el objeto de determinar la frecuencia de presentación de *Helicobacter sp.* en caninos de Valdivia, a través de biopsia gástrica de las zonas fúndica y antro pilórico obtenida por endoscopia y analizadas mediante prueba de ureasa e histología. Se utilizaron 29 perros, 9 machos y 20 hembras, con un rango de edad de 7 meses a 12 años, y un peso entre 5,5 y 21,2 kilos.

Para el análisis de apariencia endoscópica del estómago, frecuencia de presentación de la bacteria según sexo y edad, tiempo de reacción de las muestras positivas a la prueba de ureasa, determinación del grado de infección y distribución de *Helicobacter sp.* se utilizó estadística descriptiva. Para el análisis de la frecuencia de presentación de la bacteria según el método de diagnóstico y la zona del estómago, se utilizó la prueba de chi cuadrado de Mac Nemar para observaciones relacionadas con un nivel de significancia de 0,05.

Los resultados de este estudio indican que la bacteria *Helicobacter sp.* 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 ($p > 0,05$). El examen histológico reveló la bacteria en todas las muestras fúndicas y en el 92% de las muestras del antro pilórico ($p > 0,05$). 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 ($p > 0,05$).

La bacteria fue encontrada en animales de todas las edades, y tanto en machos como hembras. Las muestras que resultaron positivas a la prueba de ureasa, reaccionaron principalmente entre las 3 y 24 horas de ser incubadas. En el examen histológico se determinó el grado de infección de *Helicobacter sp.*, siendo las muestras clasificadas mayormente en los grados moderado a marcado, ubicándose sobre la superficie de la mucosa, en las fosas gástricas, en las glándulas gástricas y en las células parietales.

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

2. SUMMARY.

A study was carried out in order to determinate *Helicobacter spp.* in dogs of Valdivia city, gastric mucosal biopsy from fundus and pyloric antrum were obtained by endoscopy and analyzed by urease test and histology. Twenty-nine dogs were used, nine males and twenty females, from 7 months to 12 years old, weighing between 5,5 to 21,2 kg.

Stomach endoscopic appearance, frequency presentation of *Helicobacter spp.* according to sex and age, time to reaction positive samples to urease test, degree of infection and distribution *Helicobacter spp.* were analyzed by descriptive statistical. The analysis of the bacterium presentation frequency according to diagnostic methods and region of the stomach, was carried out by Mac Nemar test.

Results of this study indicated that *Helicobacter spp.* was detected in all dogs. The urease test gave positive results in 86,2% of the fundus samples and in 75,9% of the pyloric antrum samples ($p > 0,05$). Histological examination revealed the bacterium in all of the fundus samples and in 92% of the antrum samples ($p > 0,05$). In fundus samples the frequency obtained by urease test and histology resulted statistically significant ($p < 0,05$), different to the results obtained in the antrum region ($p > 0,05$).

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.

3. 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 (Hänninen y col., 1996; Yamasaki y col., 1998).

Taxonómicamente, el género *Helicobacter* (del griego: helix, helicoidal; bacter, bacteria), pertenece a la superfamilia VI de la clase *Proteobacteria*, división *Gracillicutes*. El género *Helicobacter* incluye actualmente 19 especies (Fox y Lee, 1997). Se caracterizan por ser móviles por flagelación polar monótrica o lofótrica, 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 para la mayoría de las especies (Lee y col., 1993; Andrews y Fernández, 1997).

Morfológicamente son curvos o helicoidales de 0,3-1 um de longitud, que en cultivos viejos, pueden transformarse en cuerpos esféricos o cocoides (Andrews y Fernández, 1997). Por su semejanza morfológica al género *Campylobacter*, inicialmente fueron incluidas dentro de este género (Lee, 1994; Happonen y col., 1996).

Hermanns y col. (1995), las clasifican según su ubicación en especies gástricas y no gástricas, encontradas éstas 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 (Heilmann y Borchard, 1991; Hermanns y col., 1995; Happonen y col., 1996).

McGowan y col. (1996) 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 (2000) 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 (Weber y col., 1958; Hermanns y col., 1995).

Las investigaciones de la relación de enfermedad gástrica y *Helicobacter sp.* en animales, llevó al descubrimiento de *H. mustelae* en los hurones con gastritis y úlceras pépticas; *H. acinonychis* en guepardos con gastritis severa; y *H. heilmannii* en cerdos con úlceras gástricas (Simpson y col., 2000), estudios que sugerirían un posible rol en la patogenicidad de gastritis en perros y gatos.

Estas bacterias fueron aisladas en el estómago de los perros en 1881, por Rappin (Weber y col., 1958; Hermanns y col., 1995), y en 1893 por Bizzozero (Happonen y col., 2000), pero no cobró importancia hasta ser aislada y asociada a signología gastrointestinal en humanos.

Las bacterias gástricas encontradas en perros son *H. felis* (Lee y col., 1988), *H. bizzozeroni* (Hänninen y col., 1996), *H. salomonis* (Jalava y col., 1997), *Flexispira rappini* (*H. rappini*) (Eaton y col., 1996) y *H. heilmannii* (Jalava y col., 1998) y en la mucosa gástrica de los gatos se han encontrado *H. felis*, *H. heilmannii*, *H. pametensis* y *H. pylori* (Simpson y Burrows, 1999).

En humanos se ha descrito que la transmisión de *Helicobacter pylori* se produciría por contacto directo, por lo que se sospecha que es transmitido vía oral-oral o fecal-oral, lo cual se ha evidenciado por el aislamiento de la bacteria desde saliva y fecas (Fox y col., 1996). Por lo tanto, las condiciones sanitarias inadecuadas, podrían favorecer tal transmisión. En animales, las tasas de prevalencia más altas se han obtenido en aquellos que viven en grupos (Weber y col., 1958; Eaton y col., 1996), 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 (Smoot, 1996; Gitnick, 1997). Por último, Hänninen y col. (1998), Cattoli y col. (1999) y Happonen (1999) 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 etapa de vida temprana.

Recientemente Hegarty y col. (1999) han aislado *H. pylori* en USA y Suecia desde la superficie del agua, sugiriendo que la infección del agua sea probablemente una ruta importante, especialmente considerando que *H. pylori* es más resistente a la cloración que *E. coli* (Neiger y Simpson, 2000).

La infección no se ha relacionado con un grupo etario específico, detectándose en perros tan jóvenes como de 2 meses y 5 meses en gatos y en perros viejos de más de 11 años de edad y gatos de 10 años de edad (Yamasaki y col., 1998).

Guilford y Strombeck (1996) señalan que las úlceras gástricas y tumores son raros en perros y gatos, siendo más común que las drogas antiinflamatorias no esteroideas (AINES) causen úlceras gástricas, las cuales tienden a ser más frecuentes en el antro. Los carcinomas y linfomas son los dos tipos de tumor gástrico más comunes, y se encuentran más a menudo en perros viejos (Gualtieri y col., 1999).

El vómito crónico es una enfermedad gastrointestinal común en perros y gatos, y se ha ligado a menudo con gastritis crónica. La bacteria *Helicobacter* se ha sugerido como un factor etiológico de gastritis crónica (Guilford y Strombeck, 1996). Heilmann y Borchard (1991), 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 (Hänninen y col., 1996), encontrándose histológicamente sobre la superficie de la mucosa, en las fosas gástricas, glándulas gástricas y células parietales (Weber y col., 1958; Henry y col., 1987).

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 (Weber y col., 1958; Hermanns y col., 1995). Sin embargo, estos cambios se han detectado no solamente en perros y gatos que sufren de signología gastrointestinal, sino también en animales clínicamente sanos (Simpson y Burrows, 1999).

Se ha especulado que *H. felis* y *H. bizzozeronii* pueden diferir en su patogenicidad, siendo *H. felis* más patógeno que *H. bizzozeronii*, de acuerdo a sus efectos citopatogénicos (Peyrol y col., 1998; Norris y col., 1999).

Actualmente existe gran preocupación respecto al potencial de los animales, especialmente los domésticos, de ser una posible fuente zoonótica de la infección de *Helicobacter* (Jalava y col., 1998); Webb y col. (1996), evaluaron anticuerpos de *H. pylori* en dueños de gatos y los compararon con humanos sin contacto con gatos, y los resultados mostraron que no aumentaba el riesgo en el primer grupo

Neiger y Simpson (2000), midieron el riesgo en Médicos Veterinarios de adquirir una infección de *H. pylori*, a partir de las mascotas, obteniendo resultados igualmente negativos. Se ha propuesto que *H. pylori* es una antroponosis, o sea, una infección animal con un patógeno humano (Simpson y col., 2000).

3.1. MÉTODOS DE DIAGNÓSTICO.

Las pruebas diagnósticas usadas para confirmar la presencia de *Helicobacter* gástrico consisten en **pruebas invasivas**, las cuales requieren de la técnica endoscópica e incluyen la extracción de muestras de mucosa gástrica (prueba rápida de ureasa, histología, citología, cultivo, PCR y microscopía electrónica), y **pruebas no invasivas** (prueba de aliento urémico (UBBT) y serología) (Valdés, 2000).

De estos métodos, la histología, el test de ureasa y la microscopía electrónica han sido usados más comúnmente para la detección de *Helicobacter* en animales (Happonen, 1999).

3.1.1. Endoscopia. La endoscopia es un método que permite al Médico Veterinario clínico realizar un examen visual de la superficie del estómago. El endoscopio usado para examen del estómago contiene un tubo de inserción flexible y largo con una punta móvil que puede girarse, un ocular y una sección de control (Ettinger, 2000).

Simpson y Burrows (1999) señalan que la apariencia endoscópica del estómago de animales que presentan gran número de *Helicobacter sp.* se caracteriza por la presencia de

grandes cantidades de mucus y marcas rojas en la mucosa superficial, lo que parece estar correlacionado con los folículos linfoides.

3.1.2. Prueba rápida de ureasa. Se basa en la detección de la actividad de ureasa y ha sido usada como herramienta de diagnóstico para asegurar la colonización por organismos *Helicobacter* en biopsias gástricas de perros, gatos y hurones (Happonen y col., 1996). Las biopsias se colocan en un sustrato que contiene urea junto a un indicador de pH (generalmente rojo fenol). Se considera positiva la prueba cuando existe un cambio de coloración de amarillo a rosado, el cambio de color se produce cuando existen bacterias *Helicobacter* en la muestra, debido a que habrá ureasa que desdoblará la urea en amoníaco (Yamasaki y col., 1998; Ettinger, 2000).

Se caracteriza por ser una prueba rápida, económica, de alta sensibilidad y especificidad (Happonen y col., 1996).

3.1.3. Histología. La presencia de la bacteria se evidencia en cortes histológicos de mucosa gástrica teñidos con tinción Hematoxilina-Eosina (H-E) y Giemsa. La tinción de plata (por ejemplo, Warthin-Starry o Steiner modificado) es capaz de detectar cantidades más pequeñas de bacterias que con H-E y permite que ellas sean más fácilmente distinguibles desde la mucosa, especialmente en glándulas y células parietales (la bacteria aparece como espirales negras sobre un fondo café) (Simpson y Burrows, 1999).

La ventaja de este método es que se puede determinar la localización de los *Helicobacter*, células inflamatorias y lesiones (Weber y col., 1958; Geyer y col., 1993). Además presenta una alta sensibilidad y especificidad (Hermanns y col., 1995).

3.1.4. Microscopía electrónica. La microscopía electrónica ha sido usada para identificar morfológicamente los microorganismos (Lockard y Keith, 1970; Geyer y col., 1993), pero requiere de equipamientos especiales de alto costo (Happonen y col., 1996).

Debido a que la morfología de la bacteria varía in vivo e in vitro (Jalava y col., 1998), este método parece no ser el medio definitivo para distinguir los distintos organismos *Helicobacter* gástrico.

3.1.5. Cultivos. A pesar de que estos microorganismos se observaron en el siglo XIX, *H. pylori* no se cultivó hasta el año 1982 desde humanos (Warren y Marshall, 1983), y el primer organismo cultivado desde animales fue *H. felis* (Lee y col., 1988).

El cultivo de los organismos espirales gástricos a partir de muestras frescas de mucosa del estómago no es muy recomendada como método de rutina, debido a que el crecimiento de la bacteria depende de muchos factores: experiencia del laboratorista, manipulación rápida y apropiada de la muestra, medio de cultivo adecuado y fresco, ambiente de incubación microaerófilico. Se evalúa a los 3 días y si no existe desarrollo, se recomienda la evaluación de las placas a los 14 días post siembra (Monath y col., 1998). Lo útil del aislamiento, si se

obtiene, es que se puede caracterizar bioquímica y morfológicamente la bacteria (Happonen y col., 1996).

3.1.6. Prueba del aliento urémico o UBBT. La prueba ha sido recomendada como medio no invasivo para confirmar la erradicación de la infección de *H. pylori* en humanos después del tratamiento antimicrobiano (Atherton y Spiller, 1994). Se administra oralmente al paciente urea marcada con un isótopo de carbono, pudiendo usarse C13 o C14. En los individuos infectados con *Helicobacter*, se transforma la urea en amoníaco y CO2 marcado, que se detecta en el aire exhalado y se cuantifica en un espectrómetro de masas o un instrumento contador de centelleo (Pajares, 2001).

En humanos se ha logrado especificidad de 95% en la evaluación post tratamiento de infectados. Dentro de los métodos no invasivos, sería una prueba de elección para el diagnóstico de la infección activa, tanto antes como después del tratamiento (Loutit, 1995).

3.1.7. Prueba de polimerasa en cadena: PCR. Es capaz de aislar y replicar el DNA de la bacteria en material biológico (Clayton y col., 1993). Este método es muy sensitivo y no requiere de microorganismos vivos para detectar la infección, son suficientes los fragmentos de la bacteria para su reconocimiento (Malfertheiner, 1994). La técnica del PCR ha sido aplicada en muestras de biopsias gástricas, saliva y jugo gástrico (Westblom, 1993; Neiger y col., 1998)

3.1.8. Serología. Usado extensivamente como herramienta de diagnóstico en medicina humana y para estudios epidemiológicos. La detección de anticuerpos séricos, solamente indicaría que el paciente estuvo expuesto a la bacteria, pero no necesariamente que existe infección activa (Hodgson y col., 1995).

Las técnicas serológicas están basadas en la hemoaglutinación, aglutinación bacteriana, fijación de complemento e inmunofluorescencia. Sin embargo, la prueba de ELISA es el método preferido debido a su rapidez, simplicidad, reproducibilidad y su alta precisión de diagnóstico (Peña y col., 1989). Se utiliza para la detección de IgA, IgM e IgG desde el suero, y de IgG o IgA desde el fluido gástrico. Se encuentra en etapa experimental la determinación de las Ig desde orina y saliva (Sutton, 1998).

La principal desventaja de este método es que no sería útil para el seguimiento de pacientes, ya que los títulos de anticuerpos no declinan hasta 12 meses o varios años post tratamiento (Sutton, 1998).

3.2. TRATAMIENTO.

Debido a que la mayoría de las infecciones por *Helicobacter* en caninos son asintomáticas, el tratamiento debería realizarse en animales con signos clínicos obvios y evidencia histopatológica de infección (Ettinger, 2000). Se requieren estudios controlados para determinar los beneficios de una terapia antimicrobiana en perros. En pacientes humanos

infectados con *H. pylori* asintomáticamente no se recomienda la terapia (Tytgat, 1996). En medicina veterinaria, una combinación de metronidazole, amoxicilina y famotidina producen una marcada disminución de los signos clínicos de la infección de *Helicobacter* sobre el 90% de los perros tratados (Ettinger, 2000).

A nivel nacional se han realizado estudios epidemiológicos para evaluar el rol de la infección con *Helicobacter pylori*, se han descrito en 21 reportes, provenientes de 9 centros de varias regiones del país (I – II - R.M. – VIII – X – XII), obteniéndose rangos amplios tanto en niños (6–100%) como adultos (43-92%), realizados con distintas pruebas diagnósticas (histología, cultivo, prueba de ureasa y pruebas serológicas) (Figuroa y col., 1997). Sin embargo, aún no se han generado reportes sobre la detección de la bacteria en perros y gatos (Valdés, 2000).

Se plantea como hipótesis: Los perros de la ciudad de Valdivia presentan *Helicobacter sp.* en el estómago, por lo cual, a través del presente trabajo se pretende determinar su presencia mediante la prueba de ureasa y la observación histológica de biopsias gástricas obtenidas por endoscopia.

4. MATERIAL Y MÉTODOS.

4.1. MATERIAL.

4.1.1. Material biológico. Para el presente estudio se utilizaron 29 perros (*Canis familiaris*) (9 machos y 20 hembras) considerando una población infinita con al menos el 10% de ella infectada con *Helicobacter* y un nivel de confianza de 95% (Thrusfield, 1990). Con un rango de edad desde 7 meses a 11 años, y un peso entre 5,5 y 21,2 kg.

Los animales pertenecían al programa de eutanasia voluntaria dependiente del Departamento de Medio Ambiente de la Ilustre Municipalidad de Valdivia y el Departamento de Programa Sobre el Ambiente del Servicio de Salud de Valdivia.

4.1.2. Material de equipo endoscópico:

- FibroscoPIO flexible SCHOTT modelo VFS-3211002.
- Pinza de biopsia SCHOTT.

4.1.3. Material de registro:

- Fichas para el registro individual de Reseña de los pacientes (Anexo 1).
- Fichas para el registro individual de los hallazgos endoscópicos y los resultados de prueba de ureasa e histología (Anexo 2).

4.1.4. Material de preparación del paciente:

- Acepromazina¹: 0,5-1 mg/kg
- Atropina²: 0,04 mg/kg
- Tiopental sódico³: 20 mg/kg

4.2. MÉTODOS.

Los exámenes endoscópicos, toma de biopsias y la prueba de ureasa se realizaron en el Hospital Clínico Veterinario de la UACH, y los exámenes histológicos se realizaron en el Instituto de Patología Animal de la UACH, entre los meses de Septiembre de 2001 y Febrero de 2002.

4.2.1. Endoscopia. Los animales permanecieron en caniles del Hospital Veterinario, y se sometieron a un ayuno de agua y comida, de 12 y 24 horas previo al examen endoscópico,

¹ Acedán inyectable (Laboratorio Holliday), frasco de 10 ml

² Atropina (Drag Pharma Invetec), ampolla de 1mg/ml

³ Tiopental Sódico (Chile), frasco de 1g

debido a que se requería tener el estómago sin contenido para realizar un adecuado examen visual de la superficie gástrica y reconocimiento de sus zonas.

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 dentro del antro y una buena visualización del estómago.

El procedimiento consistió en introducir el endoscopio desde el esófago al esfínter gastroesofageal, luego se realizaba un leve cambio de dirección para avanzar al estómago. Una vez dentro del estómago, era importante observar los pliegues rugosos a lo largo de la curvatura mayor, siendo normalmente anchos y altos. Luego de evaluar los pliegues, se insuflaba una pequeña cantidad de aire para distender el lumen, esta distensión alisaba los pliegues y ayudaba a visualizar la superficie de la mucosa (Tams, 1990). Una vez localizada la incisura angular, pliegue que demarca la unión entre la curvatura menor y el antro pilórico, se puede ubicar el antro pilórico continuando con la punta del endoscopio hacia abajo. Si se mueve hacia arriba se ubica el cuerpo del estómago y retroflectando la punta del endoscopio se observa la zona cardinal y fúndica. Para visualizar el píloro, el endoscopio debería avanzar hacia el antro. La apariencia del píloro es variable y puede cambiar durante el examen (Leib y Monroe, 1997; Ettinger, 2000).

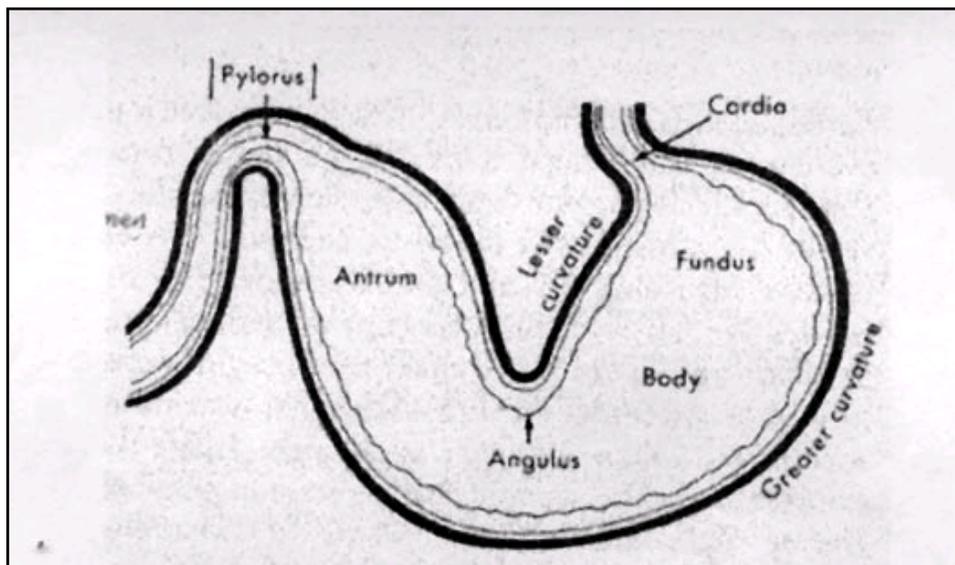


Figura 1. Diagrama del estómago que muestra las regiones gástricas, indicándose las zonas muestreadas (fúndica y antro pilórico).

Se realizó un examen visual de la superficie de la mucosa del estómago, siendo normalmente rosada, lisa y brillante, evaluándose la presencia de enrojecimiento, cantidad de mucus, erosiones y/o úlceras. Los hallazgos se registraron para cada animal.

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

La pinza de biopsia se pasó a través del endoscopio flexible y bajo control visual, se dirigió a las distintas regiones gástricas. Las biopsias utilizadas para la prueba de ureasa eran extraídas desde la pinza de biopsia con una aguja estéril 19G y sumergidas en el gel contenido en el pocillo de He-Py Test®, registrándose los datos del animal en el reverso indicando: número, fecha y hora a la que se depositó la muestra en el gel. El HE-PY TEST® se mantenía entre 30 y 40°C durante las tres primeras horas, y posteriormente fueron mantenidas a temperatura ambiente (20°C). Las muestras utilizadas para el examen histológico, se colocaron en tubos que contenían solución de formalina al 10%, identificados con el número del animal y zona del estómago, posteriormente se llevaron al Laboratorio de Patología para realizar la inclusión en parafina, cortar las muestras en secciones de un espesor de 3 μ m y teñirlas con tinción de plata (Warthin-Starry).

4.2.3. Determinaciones.

4.2.3.1. Evaluación de la apariencia endoscópica del estómago. Del total de animales examinados con endoscopia, se determinó en cuántos se detectan las siguientes alteraciones en la apariencia de la mucosa gástrica:

- enrojecimiento de la mucosa gástrica,
- cantidad de mucus,
- erosiones y/o úlceras.

4.2.3.2. Identificación de *Helicobacter*. La bacteria se identificó por su morfología (Hermanns y col., 1995; Geyer y col., 1993; Simpson y Burrows, 1999) y por su afinidad por tinciones de plata (Whartin Starry).

4.2.3.3. Frecuencia de la presentación de *Helicobacter sp.* gástrico. Se analizó la frecuencia de presentación de *Helicobacter sp.* gástrico, mediante uso de examen histológico y prueba de ureasa rápida, considerando las variables de total de animales, zona del estómago, sexo y edad.

Se utilizó en la frecuencia de presentación de *Helicobacter sp.* entre las pruebas y entre las zonas, la prueba de Chi cuadrado de Mac Nemar para observaciones relacionadas, con un nivel de significación de 0,05.

4.2.3.4. Tiempo de reacción de las muestras positivas a la prueba de ureasa. Se describen los tiempos en que reaccionan las muestras positivas a la prueba de ureasa, considerando la zona gástrica proveniente (Figura 2).



Figura 2. Imagen del HE-PY TEST® negativo (superior) y positivo (inferior).

4.2.3.5. Grado de infección de *Helicobacter sp.* en el examen histológico. De acuerdo al examen histológico de las biopsias gástricas, se clasificó el grado de infección con *Helicobacter* en cuatro grados: ausencia, leve, moderado o marcado (Happonen y col., 1998), utilizándose una escala análoga visual (Dixon y col., 1996) modificada para muestras de biopsias gástricas caninas (Tabla 1).

Tabla 1. Grado de infección con *Helicobacter sp.*

Ausencia	Leve	Moderado	Marcado
No se observa infección con <i>Helicobacter sp.</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.

La biopsia gástrica utilizada para la prueba de ureasa rápida He-Py Test® (Bios Chile Ingeniería Genética S.A.), se observó a los 2, 3, 15, 30 minutos, 1 hora, 3 horas y 24 horas. Un resultado positivo es indicado por el cambio de color de amarillo a rosado. Se registró en una planilla el resultado y el tiempo en que se produjo el cambio de color en caso de ser positivo.

4.2.3.6. Distribución de *Helicobacter sp.* gástrico. Se determinó su distribución dentro del estómago y su ubicación histológica dentro de las zonas gástricas.

Los datos fueron analizados mediante estadística descriptiva, y la presentación de los resultados se realizó empleando gráficos proporcionales y cuadros.

5. RESULTADOS.

5.1. 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.

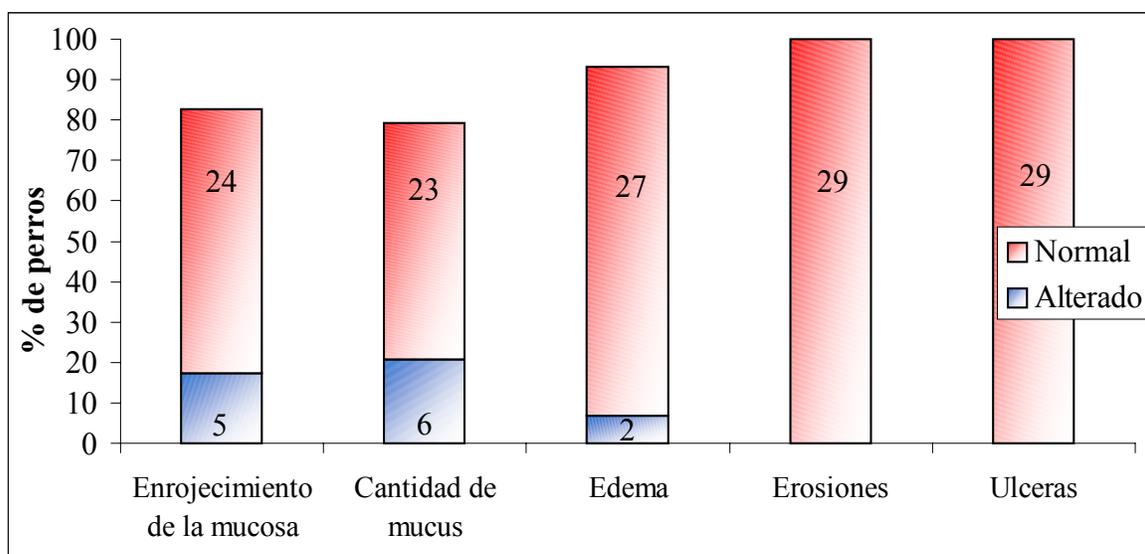


Gráfico 1. Características en la apariencia del estómago observadas a través del examen endoscópico en 29 perros (*Canis familiaris*) de la ciudad de Valdivia.

5.2. FRECUENCIAS DE PRESENTACIÓN DE *Helicobacter sp.*

En los siguientes cuadros se presentan las frecuencias de *Helicobacter sp.* gástrico para el total de animales, el sexo y la edad, y el gráfico de la frecuencia de presentación de la bacteria según la zona del estómago determinadas por los métodos diagnósticos: prueba de ureasa e histología.

5.2.1. Presentación de *Helicobacter sp.* gástrico en los perros. La tabla 2 muestra la frecuencia de la bacteria considerando un animal positivo cuando se detecta *Helicobacter sp.* en cualquier zona del estómago. Todos los perros resultaron positivos a la detección de la bacteria.

Tabla 2. Frecuencia de presentación de *Helicobacter sp.* obtenida según los métodos de diagnóstico “prueba de ureasa e histología” para *Helicobacter sp.* en 29 perros de la ciudad de Valdivia.

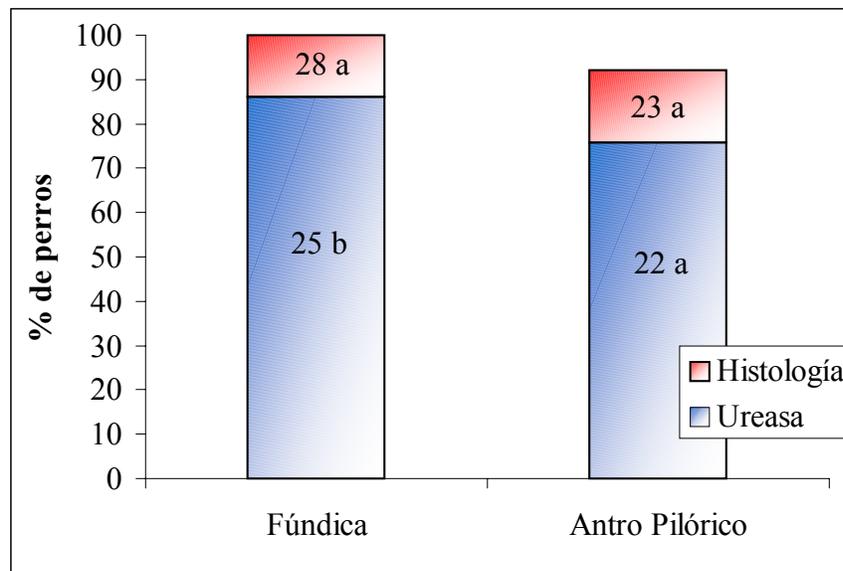
Total perros	Método de diagnóstico					
	Prueba de Ureasa			Histología		
	n	Positivo	%	n	Positivo	%
Frecuencia de <i>Helicobacter sp.</i>	29	29	100	28 ¹	28	100

¹ Pérdida de 1 muestra en el proceso de deshidratación.

5.2.2. Frecuencia de *Helicobacter* gástrico según zona del estómago. Del total de perros (29) sometidos a la prueba de ureasa, 25 (86,2%) resultaron positivos a la presencia de *Helicobacter sp.* en la zona fúndica y 22 (75,9%) en la zona del antro pilórico, no encontrándose diferencias ($\chi^2 = 0,8182$ y $p = 0,3657$).

La frecuencia de *Helicobacter sp.* 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 la histología en la zona fúndica, ($\chi^2 = 4$ y $p = 0,0455$). En cambio, en la zona del antro pilórico, los resultados obtenidos en ambas pruebas no revelaron diferencias significativas.



^{a, b}: letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0,05$).

Gráfico 2. Frecuencia de presentación de *Helicobacter sp.* gástrico en 29 perros de la ciudad de Valdivia, mediante “prueba de ureasa” e “histología”, según zona del estómago.

5.2.3. Frecuencia de *Helicobacter* gástrico según sexo. En la prueba de ureasa (A), se observa que los 9 machos utilizados en este estudio, presentan la bacteria en las biopsias de la zona fúndica, y que de las 20 hembras sometidas a esta prueba, 16 resultaron ser positivas (80%). De los resultados obtenidos en la zona del antro pilórico, 8 machos y 14 hembras resultaron positivos a la presencia de la bacteria (Tabla 3).

En el examen histológico (B), el total de machos y hembras presentan la bacteria en la zona fúndica y en la zona antro pilórica se detectó *Helicobacter* en 8 machos y 15 hembras (Tabla 3).

Tabla 3. Frecuencia de presentación, según sexo, de *Helicobacter sp.* obtenida según 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.

Sexo	Región del estómago					
	Fúndica			Antro-Pilórico		
	n	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.

5.2.4. Frecuencia de *Helicobacter sp.* gástrico según edad. Se puede apreciar que existe una alta presencia de *Helicobacter* en los distintos rangos de edad de los animales, encontrando frecuencias de hasta 100% tanto en perros menores a 1 año como en perros de 8-12 años (Tabla 4).

Tabla 4. Frecuencia de presentación, según edad, de *Helicobacter sp.* 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.

Edad (años)	Región del estómago					
	Fúndica			Antro-Pilórico		
	n	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.

5.3. TIEMPO DE REACCIÓN DE LAS MUESTRAS POSITIVAS A LA PRUEBA DE 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 5).

Tabla 5. Tiempo de reacción de las muestras positivas en la prueba de ureasa, según zona del estómago en 29 perros de la ciudad de Valdivia.

Región del estómago	Muestras positivas								
	n	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

5.4. GRADO DE INFECCIÓN DE *Helicobacter sp.* SEGÚN ESCALA ANÁLOGA VISUAL EN LA PRUEBA DE HISTOLOGÍA.

En la tabla 6 se observa que en la zona fúndica de un total de 28 muestras procesadas, ninguna se encontraba sin bacterias, y el 57,1% se clasificó en grado marcado.

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

Tabla 6. Grado de infección de *Helicobacter sp.*, según escala análoga visual, en la región fúndica y antro pilórico del estómago en 29 perros de la ciudad de Valdivia.

Región del estómago	n	Grado de Infección							
		Ausencia	%	Leve	%	Moderado	%	Marcado	%
Fúndica	28 ¹	0	-	4	14,3	8	28,6	16	57,1
Antro Pilórico	25 ²	2	8,0	6	24,0	6	24,0	11	44,0

¹ Pérdida de 1 muestra en el proceso de deshidratación.

² Pérdida de 4 muestras en el proceso de deshidratación.

5.5. DISTRIBUCIÓN DE *Helicobacter sp.*

Por ambos métodos de diagnóstico las bacterias *Helicobacter sp.* gástricos se detectaron en las 2 regiones del estómago. Durante la observación directa de las bacterias en la prueba de histología, 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 (Figura 3).

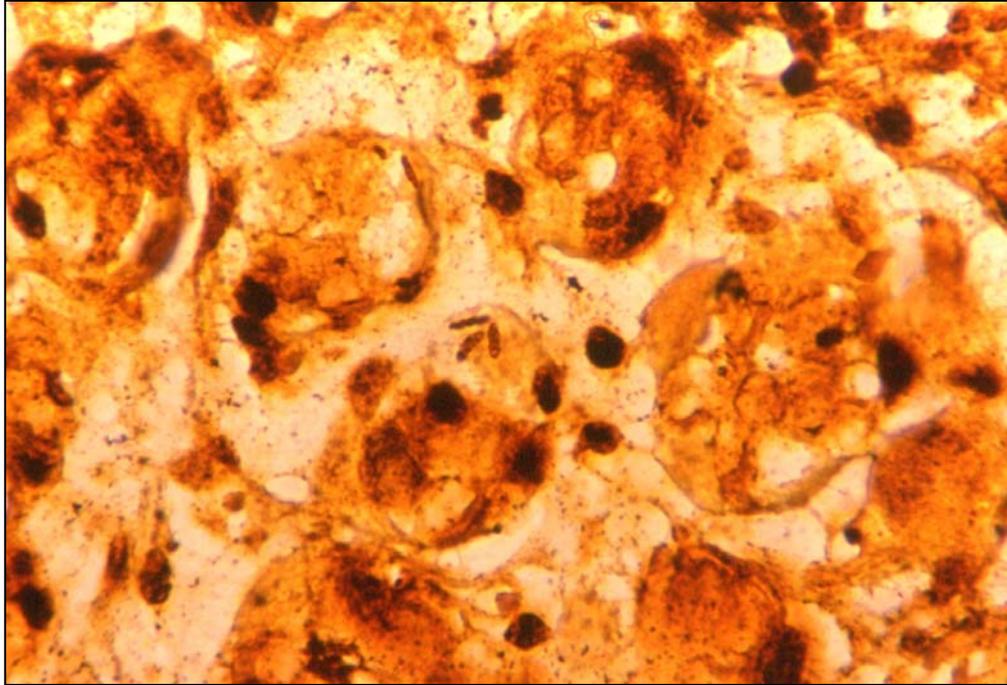


Figura 3. Demostración de *Helicobacter sp.* en glándulas gástricas de la región fúndica del estómago de un canino. Tinción de Warthin-Starry. (x 100).

6. DISCUSIÓN.

6.1. APARIENCIA MACROSCÓPICA DEL ESTÓMAGO.

La endoscopia es un excelente procedimiento para obtener biopsias de diversas zonas del estómago y utilizarlas para los distintos métodos de diagnóstico de *Helicobacter sp.* Hall (2000), señala que la endoscopia gástrica permite realizar una inspección visual de la apariencia del estómago, evaluar el color y la consistencia de la superficie mucosa. A su vez Simpson (2000), sugiere que para que esta inspección sea realizada adecuadamente, es importante que mientras se avanza con el endoscopio se haga un examen minucioso de las alteraciones macroscópicas, de modo que no sean interpretadas erróneamente las lesiones iatrogénicas provocadas por el instrumento.

Happonen y col. (1998), trabajaron en 25 perros clínicamente sanos y 21 con signología gastrointestinal, cuyas edades fluctuaban entre 1,5 a 8 años de edad, sin encontrar evidencia de lesiones macroscópicas a pesar de que obtuvieron prevalencias de *Helicobacter sp.* de 100% y 95%, respectivamente, lo que coincide con los resultados obtenidos en esta investigación, ya que en la mayoría de los animales, aún presentando frecuencias altas de la bacteria, no tuvieron alteraciones macroscópicas (Gráfico 1 y 2).

La infección con *Helicobacter* gástrico 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 de pliegues, atrofia de pliegues, etc., son de limitado valor y de baja correlación con los hallazgos histológicos (Malfertheiner, 1994). Esto se podría explicar porque las alteraciones que produce la infección con *Helicobacter* son microscópicas, por lo tanto, no se indica el examen visual de la mucosa gástrica como diagnóstico de la bacteria (Simpson, 2000).

6.2. FRECUENCIA DE *Helicobacter sp.*

En este estudio con la prueba de ureasa se obtuvieron 86,2% de las muestras de la zona fúndica y 75,9% de las muestras del antro pilórico positivas a la presencia de la bacteria (Gráfico 2), esto coincide en parte con lo reportado por Happonen y col. (1996), quienes al utilizar 10 perros y obtener muestras de 3 zonas 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.

La frecuencia de *Helicobacter* 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 antro pilóricas. 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 (Tams, 1990; Simpson, 2000). Al respecto Happonen y col. (1998), señalan que es difícil obtener muestras del antro 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 el 100% de las muestras obtenidas de la zona fúndica y en el 92% del antro pilórico (Gráfico 2). Estos resultados concuerdan con los obtenidos por Eaton y col. (1996), quienes detectaron en el examen histológico y test de ureasa la bacteria en el 100% de los grupos A (31 perros de laboratorio) y B (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. (1999), con 25 perros infectados naturalmente obtuvieron un 92% positivos a *Helicobacter*, y Happonen (1999), en 25 perros clínicamente sanos y 21 perros con signología de gastritis, encontró *Helicobacter* en el 100% y 95%, respectivamente.

En relación a las altas frecuencias detectadas de *Helicobacter*, Weber y col. (1958) e Eaton y col. (1996), señalan que éstas se presentan en animales que viven en grupos, como sucedió en un estudio realizado por Henry y col. (1987), 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 (Happonen, 1999). La presencia de *Helicobacter* detectada en perros menores al año de edad (Anexo 3), puede deberse a que la infección de esta bacteria es adquirida durante el periodo de lactancia, siendo la madre el reservorio en la transmisión y además que los cachorros pueden infectar a otros durante su etapa de vida temprana (Hänninen y col., 1998).

En este estudio, la bacteria fue encontrada tanto en animales jóvenes como viejos de ambos sexos (Tablas 3 y 4), lo que coincide con Happonen (1999), quien señala que las tasas de prevalencia fueron similares en perros de todas las edades (46 perros con edades entre 1-13 años) y sexos, además no detectó asociación entre la edad y la densidad de colonización. Otro estudio, en el cual utilizaron 21 perros clínicamente sanos y 56 con signología gastrointestinal, con edades entre 2 meses y 18 años, no mostró diferencia significativa en la prevalencia obtenida entre perros jóvenes y viejos (Happonen y col., 1998).

6.2.1. Comparación de los métodos de diagnóstico. La prueba de ureasa obtuvo una frecuencia menor (86,2 y 75,9%) de positividad en comparación al método histológico (100 y 92%) en las biopsias de la zona fúndica y antro pilórico (Gráfico 2).

En la zona fúndica 24 muestras resultaron positivas para ambos métodos y en 4 muestras que para la prueba de 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. 3 muestras que resultaron negativas para ureasa,

en el examen histológico fueron positivas 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. (1996), quienes detectaron la bacteria en un 95% en la zona fúndica y 62% en el antro pilórico mediante la prueba de ureasa, mientras mediante histología los resultados fueron 100% y 74%, respectivamente.

La obtención de falsos negativos en la prueba de ureasa, sería debido al pequeño número de *Helicobacter* presentes en la muestra (Happonen y col., 1996), o debido a la discontinua distribución de la bacteria en el estómago (Mc Nulty y col., 1989), o por una pérdida espontánea de la actividad enzimática de la ureasa, fenómeno visto en distintas especies de *Helicobacter* (Jalava y col., 1998). El manual de HE-PY TEST® indica como limitaciones el tamaño de las muestras y la distribución de las bacterias en el estómago (Bios Chile Ingeniería Genética). A pesar de estas limitaciones la prueba de ureasa puede considerarse bastante segura para la detección de *Helicobacter* (Happonen y col., 1996).

Resultados falsos positivos, aunque raros, pueden ocurrir debido a otras bacterias gástricas productoras de ureasa como: *Proteus* y *Klebsiella* (Goldie y col., 1989; Pajares, 2001).

6.3. TIEMPO DE REACCIÓN DE LA PRUEBA DE UREASA.

De las 29 muestras obtenidas, resultaron positivas a la prueba de ureasa 25 de la región fúndica y 22 del antro pilórico, reaccionando la mayoría a las 3 y las 24 horas (89,4%) (Tabla 5), lo que es semejante con lo observado en el estudio de Lee y col. (1992), quienes utilizando 5 perros inoculados experimentalmente, observaron que las muestras de las zonas (cardial, fúndica, cuerpo, antro pilórico y canal pilórico), reaccionaron la mayoría a las 6 y las 24 horas (76%). Sin embargo, los tiempos de reacción en la prueba de ureasa difieren con lo obtenido por Happonen (1999), 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 (1994), 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 (Anexo 3), no indicaron una relación inversa entre ambas variables, sin embargo, para Hazell y col. (1987) y Happonen (1999), el tiempo entre que se incubaba la muestra dentro de la prueba de ureasa y se registra 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.

6.4. GRADO DE INFECCIÓN DE *Helicobacter sp.*

Para determinar el grado de infección con *Helicobacter sp.* se utilizó una escala análoga visual para las muestras de biopsia gástrica, lo que hace posible la comparación entre distintos estudios (Happonen y col., 1998).

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 (Tabla 6). Eaton y col. (1996), en 3 grupos de perros (A: 31 perros de laboratorio, B: 8 perros de un albergue y C: 15 perros con afección gastrointestinal), detectaron que la mayoría de los animales presentaba grado de infección moderado a marcado, sin presentar diferencias significativas entre los grupos. A su vez Happonen y col. (1998), en 25 perros sanos y 21 perros con gastritis, obtuvieron principalmente una clasificación en grado moderado a marcado en ambos grupos.

6.5. DISTRIBUCIÓN DE *Helicobacter* GÁSTRICO.

Las bacterias se encontraron principalmente en la zona fúndica, sin presentar diferencias significativas respecto de la zona antro pilórico (Gráfico 2), lo que sería explicado por Happonen (1999), al señalar que los *Helicobacter* 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. (1998), 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* se localizan en la superficie de la mucosa y en las fosas gástricas, así como en las glándulas gástricas y células parietales, lo que coincide con lo señalado por diferentes autores (Henry y col., 1987; Hermanns y col., 1995; Happonen y col., 1996; Yamasaki y col., 1998).

6.6. CONCLUSIONES.

- La apariencia endoscópica del estómago en la mayoría de los perros no presentaba alteraciones evidentes.
- Las bacterias *Helicobacter sp.* son habitantes comunes en el estómago de los perros de Valdivia, obteniendo frecuencia de presentación de 100% en la población muestreada.
- En la zona fúndica, la frecuencia de presentación de *Helicobacter sp.* mediante la prueba de ureasa fue menor a lo obtenido en el examen histológico.

- Helicobacter sp.* fue encontrada en perros de todas las edades y en ambos sexos.
- La mayor parte de las muestras de la zona fúndica y antro pilórico del estómago se clasificaron en grado de infección moderado a marcado.
- Las bacterias fueron localizadas en la superficie de la mucosa, fosas gástricas, glándulas gástricas y células parietales.

7. BIBLIOGRAFIA.

- ANDREWS, E., H. FERNÁNDEZ. 1997. Género *Helicobacter*: una entidad taxonómica en expansión, de características zoonóticas. *Rev. Chil. Cs. Med. Biol.* 7:17-24.
- ATHERTON, J. C., R. C. SPILLER. 1994. The urea breath test for *Helicobacter pylori*. *Gut.* 35:723-725.
- CATTOLI, G., R. VAN VUGT, R. G. ZANONI, V. SANGUINETTI, R. CHIOCCHETTI, M. GUALTIERI, C. VANDENBROUCKE-GRAULS, W. GAASTRA, J.G. KUSTERS. 1999. Occurrence and characterization of gastric *Helicobacter spp.* in naturally infected dogs. *Vet. Microbiol.* 70:239-250.
- CLAYTON, C. L., H. KLEANTHOS, D. D. MORGAN. 1993. Rapid fingerprinting of *Helicobacter pylori* by polimerasa analysis. *J. Clin. Microbiol.* 31:1420-1425.
- DIXON, M. F., R. M. GENTA, J. F. YARDLEY. 1996. Classification and grading of gastritis. The updated Sydney system. *Am. J. Surg. Pathol.* 20: 1161-1181. Citado por Happonen, I., J. Linden, S. Saari, M. Karjalainen, M.-L. Hänninen, K. Jalava, E. Westermarck. 1998. Detection and effects of *helicobacter* in healthy dogs and dogs with signs of gastritis. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 213:1767-1774.
- 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: animal and public health implications. *J. Clin. Microbiol.* 34:3165-3170.
- ETTINGER, S. 2000. Textbook of veterinary internal medicine. 5th ed., W.B. Saunders, Philadelphia. USA.
- FIGUEROA, G., R. ACUÑA, M. TRONCOSO, D. P. PORTELL, M. S. TOLEDO, J. VALENZUELA. 1997. *Helicobacter pylori* infection in Chile. *Clinical Infectious Diseases.* 25:983-989.
- FOX, J. G., S. PERKINS, L. YAN, Z. SHEN, L. ATTARDO, J. PAPPO. 1996. Local immune response in *Helicobacter pylori*-infected cats and identification of *H. pylori* in saliva, gastric fluid and faeces. *Immunology.* 88:400-406.
- FOX, J. G., A. LEE. 1997. The role of *Helicobacter species* in newly recognized gastrointestinal tract diseases of animals. *Lab. Anim. Sci.* 47:222-255.

- GEYER, C., F. COLBATZKY, J. LECHNER, W. HERMANN. 1993. Occurrence of spiral-shaped bacteria in gastric biopsies of dogs and cats. *Vet. Rec.* 133:18-19.
- GITNICK, G. 1997. Diagnosis and management of peptic ulcer disease. Professional Communications Inc. Fulfillment Center. 2nd ed., Caddo, OK. USA. Citado por Valdés, A. 2000. *Helicobacter sp.* ¿nuevo patógeno en caninos y felinos? *Monografías Med. Vet.* 20:117-123.
- GOLDIE, J., S. J. O. VELDHUYZEN, S. JALALI, J. HOLLINGSWORTH, R. H. RIDDELL, H. RICHARDSON, R. C. HUNT. 1989. Optimization of a medium for the rapid urease test for detection of *Campylobacter pylori* in gastric antral biopsies. *J. Clin. Microbiol.* 27:2080-2082.
- GUALTIERI, M., M. G. MONZEGLIO, E. SCANZIANI. 1999. Gastric neoplasia. *Vet. Clin. North Am. Small Anim. Pract.* 29:415-440. Citado por Happonen, I. 1999. Canine and feline gastric *Helicobacters*: diagnosis and significance in chronic gastritis. Thesis, M. V., University of Helsinki, Faculty of Veterinary Medicine, Helsinki, Finland.
- GUILFORD, W. G., D. R. STROMBECK. 1996. Chronic gastric diseases. In: GUILFORD, W.G., S. A. CENTER, D. R. STROMBECK, D. A. WILLIAMS, D. J. MEYER (eds.). *Strombeck's small animal gastroenterology*. 3rd ed. W.B. Saunders, Philadelphia. USA. Citado por Happonen, I. 1999. Canine and feline gastric *Helicobacters*: diagnosis and significance in chronic gastritis. Thesis, M.V., University of Helsinki, Finland, Faculty of Veterinary Medicine, Helsinki, Finland.
- HALL, J. A. 2000. Clinically evaluating gastric diseases in dogs and cats. *Vet. Med.* 95:450-465.
- 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.
- HÄNNINEN, M.-L., I. HAPPONEN, K. JALAVA. 1998. Transmission of canine gastric *Helicobacter salomonis* infection from dam to offspring and between puppies. *Vet. Microbiol.* 62:47-58.
- HAPPONEN, I., S. SAARI, L. CASTREN, O. TYNI, M.-L. HÄNNINEN, E. WESTERMARCK. 1996. Comparison of diagnostic methods for detecting gastric helicobacters-like organisms in dogs and cats. *J. Comp. Path.* 115:117-127.
- HAPPONEN, I., J. LINDEN, S. SAARI, M. KARJALAINEN, M.-L. HÄNNINEN, K. JALAVA, E. WESTERMARCK. 1998. Detection and effects of *helicobacter* in healthy dogs and dogs with signs of gastritis. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 213:1767-1774.

- HAPPONEN, I. 1999. Canine and feline gastric *Helicobacters*: diagnosis and significance in chronic gastritis. Thesis, M.V., University of Helsinki, Faculty of Veterinary Medicine, Helsinki, Finland.
- HAPPONEN, I., J. LINDEN, E. WESTERMARCK. 2000. Effect of triple therapy on eradication of canine gastric *Helicobacters* and gastric disease. *J. Small Anim. Pract.* 41:1-6.
- 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. Citado por Lee, A., S. Krakowka, J. G. Fox, G. Otto. 1992. Role of *Helicobacter felis* in chronic canine gastritis. *Vet. Pathol.* 29:487-494.
- HEGARTY, J., M. DOWD, K. BAKER. 1999. Occurrence of *Helicobacter pylori* in surface water in the United States. *Appl. Environ. Microbiol.* 87:697-701.
- HEILMANN, K., F. BORCHARD. 1991. Gastritis due to spiral shaped bacteria other than *Helicobacter pylori*: clinical, histological, and ultrastructural findings. *Gut.* 32:137-140.
- 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.
- HODGSON, M., H. PANTOJA, J. LATORRE, P. VIAL, A. HENRIQUEZ, J. WENGER, A. PENA, M. SIRI, E. GUIRALDES. 1995. *Helicobacter pylori* associated gastroduodenal disease in symptomatic chilean children: diagnostic value of serological assay. *J. Pediatric Gastroenterol Nutr.* 21:263-268. Citado por Valdés, A. 2000. *Helicobacter sp.* ¿nuevo patógeno en caninos y felinos? *Monografías Med. Vet.* 20:117-123.
- JALAVA, K., M. KAARTINEN, M. UTRIAINNEN. 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., L. STEPHEN, P. VANDAMME, I. HAPPONEN, A. SUKURA, M.-L. HÄNNINEN. 1998. Isolation and identification of *Helicobacter spp.* from canine and feline gastric mucosa. *Appl. Environ. Microbiol.* 64:3998-4006.
- 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, A., S. KRAKOWKA, J. G. FOX, G. OTTO. 1992. Role of *Helicobacter felis* in chronic canine gastritis. *Vet. Pathol.* 29:487-494.

- LEE, A., J. FOX, S. HAZELL. 1993. Pathogenicity of *Helicobacter pylori*: a perspective. *Infect. Immun.* 61:1601-1610.
- LEE, A. 1994. *Helicobacter pylori*: the organism. In: Axon, A. T. R. (editor). *Helicobacter pylori* its role in gastrointestinal disease. Science Press, Leeds. UK.
- LEIB, M., W. MONROE. 1997. Practical small animal internal medicine. W.B. Saunders, Philadelphia. USA.
- LOCKARD, V., R. KEITH. 1970. Ultrastructure of a spiraled microorganism in the gastric mucosa of dogs. *Am. J. Vet. Res.* 31:1453-1462.
- LOUTIT, J. 1995. Using molecular techniques to diagnose infectious diseases. *Infect. Med.* 12:454-469.
- Mc GOWAN, C., T. COVER, M. BLASER. 1996. *Helicobacter pylori* and gastric acid: biological and therapeutic implications. *Gastroenterology.* 110:926-938.
- Mc NULTY, 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.
- MALFERTHEINER, P. 1994. Diagnosis of *Helicobacter pylori* infection. In: Axon, A. T. R. (editor). *Helicobacter pylori* its role in gastrointestinal disease. Science Press, Leeds. UK.
- MONATH, T., C. LEE, T. ERMAK, G. MYERS, R. WELTZIN, P. GIANNASCA, W. THOMAS, G. SOMAN, H. BHAGAT, S. ACKERMAN, H. KLEANTHOUS. 1998. The search for vaccines against *Helicobacter pylori*. *Infect. Med.* 15:534-546.
- NEIGER, R., C. DIETERICH, A. BURNENS, A. WALDVOGEL, I. CORTHESEY-THEULAZ, F. HALTER, B. LAUTERBURG, A. SCHMASSMANN. 1998. Detection and prevalence of *Helicobacter* infection in pets cats. *J. Clin. Microbiol.* 36:634-637.
- NEIGER, R., K. SIMPSON. 2000. *Helicobacter* infection in dogs and cats: facts and fiction. *J. Vet. Intern. Med.* 14:125-133.
- 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.
- PAJARES, J. M. 2001. Diagnóstico de *Helicobacter pylori*: técnicas diagnósticas y recomendaciones para su utilización en la práctica. *Revis. Gastroenterol.* 3:69-84.

- PEÑA, A. S., H. Ph. ENDTZ, G. J. A. OFFERHAUS. 1989. Value of serology (ELISA and immunoblotting) for the diagnosis of *Campylobacter* infection. *Digestion*. 44:131-141. Citado por Malfertheiner, P. 1994. Diagnosis of *Helicobacter pylori* infection. In: Axon, A. T. R. (editor). *Helicobacter pylori* its role in gastrointestinal disease. Science Press, Leeds. UK.
- 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.
- SIMPSON, J. W. 2000. Sistema gastrointestinal y páncreas exocrino. En: Davidson, M., R. Else, J. Lumsden. (editores). Manual de patología clínica en pequeños animales. Ediciones S., Barcelona. España.
- SIMPSON, K., C. BURROWS. 1999. Gastric *Helicobacter species* infection in dogs and cats. *In Practice*. 21:427-435.
- SIMPSON, K., R. NEIGER, R. DE NOVO, R. SHERDING. 2000. The relationship of *Helicobacter spp.* infection to gastric disease in dogs and cats. *J. Vet. Intern. Med.* 14:223-227.
- SMOOT, D. 1996. Microbiology and epidemiology of *H. pylori* infection. *Drug Benefit Trends*. 8:10-15.
- SUTTON, F. 1998. Diagnosis of *Helicobacter pylori* infection. *Infect. Med.* 15:331-336.
- TAMS, T. R. 1990. Small animal endoscopy. C.V. Mosby Company, Philadelphia. USA.
- THRUSFIELD, M. 1990. Epidemiología veterinaria. Editorial Acribia, Zaragoza. España.
- TYTGAT, C. N. J. 1996. Current indications for *Helicobacter pylori* eradication therapy. *Scand. J. Gastroenterol.* 31:70-73. Citado por Neiger, R., K. Simpson. 2000. *Helicobacter* infection in dogs and cats: facts and fiction. *J. Vet. Intern. Med.* 14:125-133.
- VALDÉS, A. 2000. *Helicobacter sp.* ¿nuevo patógeno en caninos y felinos? *Monografías Med. Vet.* 20:117-123.
- WARREN, J. R., B. J. MARSHALL. 1983. Unidentified curved bacilli of gastric epithelium in active chronic gastritis. *Lancet*. 1:1273-1275. Citado por Simpson, K., R. Neiger, R. Denovo, R. Sherding. 2000. The relationship of *Helicobacter spp.* infection to gastric disease in dogs and cats. *J. Vet. Intern. Med.* 14:223-227.
- WEBB, P., T. KNIGHT, J. ELDER. 1996. 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.

- WEBER, A., O. HASA, J. SAUTTER. 1958. Some observations concerning the presence of spirilla in the fundic glands of dogs and cats. *Am. J. Vet. Res.* 19:677-680.
- WESTBLOM, T. U. 1993. The comparative value of different diagnostic tests for *H. pylori*. In: *H. pylori - Biology and clinical practice*. Goodwin, C. S., B. W. Worsley (ed.). Citado por Malfertheiner, P. 1994. Diagnosis of *Helicobacter pylori* infection. In: Axon, A. T. R. (editor). *Helicobacter pylori* its role in gastrointestinal disease. Science Press, Leeds. UK.
- YAMASAKI, K., H. SUEMATSU, T. TAKAHASHI. 1998. Comparison of gastric lesions in dogs and cats with and without gastric spiral organisms. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 212:529-533.

8. ANEXOS.

Anexo 1. Planilla de identificación del animal.

Nº de animal: _____

Fecha del examen: _____

PROPIETARIO:

1. Nombre del propietario:
2. Lugar de procedencia:

IDENTIFICACIÓN DEL ANIMAL:

3. Nombre de la mascota:
4. Raza: _____ Mestizo: _____
5. Sexo: Macho _____ Hembra _____
6. Edad:
7. Peso:
8. Identificación o filiación:

ANAMNESIS DEL ANIMAL: (si es posible)

Anexo 3. Identificación de cada animal, con sus resultados obtenidos en la prueba de ureasa (tiempo de reacción de las muestras positivas) y en el examen histológico (grado de infección) para las regiones fúndica y antro pilórica.

N° Animal	Sexo	Edad (años)	Región gástrica	Prueba de Ureasa	Histología
				Tiempo de reacción	Grados de infección
1	H	6,0	FU AN	3 horas -	moderado marcado
2	H	4,0	FU AN	- 3 horas	medio medio
3	H	1,0	FU AN	24 horas 3 horas	marcado marcado
4	H	0,8	FU AN	3 horas -	moderado normal
5	H	2,5	FU AN	1 hora 5 horas	marcado moderado
6	M	11,0	FU AN	3 horas 1 hora	marcado moderado
7	H	7,0	FU AN	3 horas 1 hora	marcado marcado
8	H	7,0	FU AN	3 horas -	marcado *
9	H	5,0	FU AN	4 horas 24 horas	moderado marcado
10	H	2,0	FU AN	3 horas 24 horas	marcado marcado
11	H	1,5	FU AN	- 5 horas	marcado *
12	H	2,5	FU AN	- 3 horas	marcado medio

H: Hembra; M: Macho; FU: Fúndica; AN: Antro pilórico; -: negativo; * : muestra perdida

Anexo 3 (Continuación). Identificación de cada animal, con sus resultados obtenidos en la prueba de ureasa (tiempo de reacción de las muestras positivas) y en el examen histológico (grado de infección) para las regiones fúndica y antro pilórica.

N° Animal	Sexo	Edad (años)	Región gástrica	Prueba de Ureasa	Histología
				Tiempo de reacción	Grados de infección
13	M	7,0	FU AN	3 horas -	medio normal
14	H	7,0	FU AN	3 horas -	medio *
15	H	5,0	FU AN	- 30 minutos	marcado medio
16	M	6,0	FU AN	24 horas 24 horas	medio marcado
17	M	11,0	FU AN	10 horas 3 horas	moderado marcado
18	H	11,0	FU AN	4 horas 12 horas	marcado marcado
19	H	0,6	FU AN	3 horas -	marcado medio
20	M	0,8	FU AN	6 horas 3 horas	marcado moderado
21	M	0,7	FU AN	6 horas 5 horas	moderado marcado
22	H	11,0	FU AN	4 horas 4 horas	* *
23	H	11,0	FU AN	24 horas 24 horas	moderado medio
24	M	7,0	FU AN	3 horas 30 minutos	marcado marcado

H: Hembra; M: Macho; FU: Fúndica; AN: Antro pilórico; -: negativo; * : muestra perdida

Anexo 3 (Continuación). Identificación de cada animal, con sus resultados obtenidos en la prueba de ureasa (tiempo de reacción de las muestras positivas) y en el examen histológico (grado de infección) para las regiones fúndica y antro pilórica.

N° Animal	Sexo	Edad (años)	Región gástrica	Prueba de Ureasa		Histología
				Tiempo de reacción		Grados de infección
25	M	8,0	FU	7 horas		marcado
			AN	7 horas		medio
26	H	1,0	FU	24 horas		moderado
			AN	6 horas		marcado
27	H	2,0	FU	4 horas		marcado
			AN	-		medio
28	M	2,0	FU	24 horas		moderado
			AN	7 horas		moderado
29	H	1,0	FU	3 horas		marcado
			AN	6 horas		moderado

H: Hembra; M: Macho; FU: Fúndica; AN: Antro pilórico; -: negativo; * : muestra perdida

Anexo 4. Características observadas en la apariencia del estómago a través del examen endoscópico en 29 perros de la ciudad de Valdivia.

Características	Sin alteración		Con Alteración	
	n	%	n	%
Enrojecimiento de la mucosa	24	82,8	5	17,2
Cantidad de mucus	23	79,3	6	20,7
Edema	27	86,9	2	6,9
Erosiones	29	100	-	-
Ulceras	29	100	-	-

Anexo 5. Frecuencia obtenida según la prueba de ureasa para *Helicobacter sp.* en 29 perros de la ciudad de Valdivia, según región del estómago.

Región del estómago	Prueba de ureasa		
	n	Positivo	%
Fúndica	29	25	86,2
Antro-Pilórico	29	22	75,9

Anexo 6. Frecuencia obtenida según histología para *Helicobacter sp.* en 29 perros de la ciudad de Valdivia, según región del estómago.

Región del estómago	Histología		
	n	Positivo	%
Fúndica	28 ¹	28	100
Antro-Pilórico	25 ²	23	92,0

¹ Pérdida de 1 muestra en el proceso de deshidratación.

² Pérdida de 4 muestras en el proceso de deshidratación.

9. AGRADECIMIENTOS.

Quiero agradacer a mi profesor patrocinador Julio Thibaut, por su apoyo, su gran asesoramiento y su inmensa disponibilidad.

También quiero agradecer a mi profesor copatrocinador Enrique Paredes, por su gran asesoría y buenos consejos en la ejecución de este trabajo.

Agradezco al Dr. Santiago Ernst por la asesoría prestada en el análisis estadístico.

Agradezco de manera especial el asesoramiento especializado del Dr. Heriberto Fernández del Instituto de Microbiología Clínica de la Facultad de Medicina de la UACH.

Agradezco al Dr. Marcelo Mieres por su buena voluntad para leer el escrito y aconsejar modificaciones y a la Dra. Carolina Gallardo por su cooperación durante la realización práctica.

Gracias a todos y cada uno de mis compañeros de carrera (Carolina P., Antonia P., Alejandra M., Claudia S., Isabel M., Yasna S., Raúl R., Rodrigo E., Nicolás D., Felipe B., Andrés V., Carlos K., Rodolfo G.) que me colaboraron en la realización práctica de la tesis.

Muchas gracias a Don José y Don Fernando, por colaborar en el cumplimiento del ayuno de los perros.

Y por supuesto, quiero dar las gracias a Rosario por su buena disposición, ayuda y mucha paciencia.