



UNIVERSIDAD CENTRAL DE VENEZUELA
FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS
POSTGRADO DE MEDICINA VETERINARIA
MENCIÓN MICROBIOLOGIA VETERINARIA



**SEROPREVALENCIA DE *Helicobacter pylori* Y SU
ASOCIACIÓN CON SIGNOLOGÍAS GASTROINTESTINALES
EN CANINOS ATENDIDOS EN EL HOSPITAL VETERINARIO
“Dr. DANIEL CABELLO MARIANI”, FCV-UCV.**

Maracay, 27 de Enero 2012.



UNIVERSIDAD CENTRAL DE VENEZUELA
FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS
POSTGRADO DE MEDICINA VETERINARIA
MENCIÓN MICROBIOLOGIA VETERINARIA



**SEROPREVALENCIA DE *Helicobacter pylori* Y SU
ASOCIACIÓN CON SIGNOLOGÍAS GASTROINTESTINALES
EN CANINOS ATENDIDOS EN EL HOSPITAL VETERINARIO
“Dr. DANIEL CABELLO MARIANI”,FCV-UCV.**

E.G. Cohinta Betzabeth Perdomo Feliu

Maracay 27 de Enero 2012.



UNIVERSIDAD CENTRAL DE VENEZUELA
FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS
COMISIÓN DE ESTUDIOS DE POSTGRADO



VEREDICTO

Quienes suscriben, miembros del jurado designado por el Consejo de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Central de Venezuela, para examinar el **Trabajo de Grado** presentado por: **M.V. COHINTA PERDOMO**, Cédula de identidad N° V- 13.518.813, bajo el título "**SEROPREVALENCIA DE *Helicobacter pylori* Y SU ASOCIACIÓN CON SIGNOLOGÍAS GASTROINTESTINALES EN CANINOS ATENDIDOS EN EL HOSPITAL VETERINARIO "Dr. DANIEL CABELLO MARIANI", FCV-UCV**", a fin de cumplir con el requisito legal para optar al grado académico de **MAGÍSTER SCIENTIARUM EN MEDICINA VETERINARIA, MENCIÓN MICROBIOLOGÍA**, dejan constancia de lo siguiente:

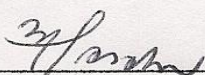
1.- Leído como fue dicho trabajo por cada uno de los miembros del jurado, se fijó el día veintitrés (23) de marzo de 2012 a las 10:00 a.m., para que la autora lo defendiera en forma pública, lo que ésta hizo en el Salón de Usos Múltiples de Postgrado, mediante un resumen oral de su contenido, luego de lo cual respondió satisfactoriamente a las preguntas que le fueron formuladas por el jurado, todo ello conforme con lo dispuesto en el Reglamento de Estudios de Postgrado.

2.- Finalizada la defensa del trabajo, el jurado decidió **APROBARLO**, por considerar, sin hacerse solidario con la ideas expuestas por la autora, que se ajusta a lo dispuesto y exigido en el Reglamento de Estudios de Postgrado.

Para dar este veredicto, el jurado estimó que el trabajo examinado constituye un estudio pionero de la seroprevalencia en Venezuela del *Helicobacter pylori* en caninos, así mismo contribuye a desarrollar futuras líneas de investigación en el área de pequeños animales con éste agente microbiano.

3.- El jurado por unanimidad decidió otorgar la calificación de **EXCELENTE** al presente trabajo por considerarlo de excepcional calidad ya que reúne todas las condiciones acordes con la rigurosidad de la investigación científica.

En fe de lo cual se levanta la presente **ACTA**, a los veintitrés (23) días del mes de marzo del año 2012, conforme a lo dispuesto en el Reglamento de Estudios de Postgrado, actuó como Coordinadora del jurado la Profª. Olga Tkachuk, MV, MSc.


M.V., Esp. Miriana Parakzik
C.I. No. V-9.968.579
FCV-UCV


M.V. Carlos Miguel Saldivia
C.I. No. V-3.315.999
FCV-UCV



M.V. MSc. Olga Tkachuk
C.I. No. V- 3.280.354
FCV-UCV
Tutora



UNIVERSIDAD CENTRAL DE VENEZUELA
FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS
POSTGRADO DE MEDICINA VETERINARIA
MENCIÓN MICROBIOLOGIA VETERINARIA



**SEROPREVALENCIA DE *Helicobacter pylori* Y SU
ASOCIACIÓN CON SIGNOLOGÍAS GASTROINTESTINALES
EN CANINOS ATENDIDOS EN EL HOSPITAL VETERINARIO
“Dr. DANIEL CABELLO MARIANI”,FCV-UCV.**

EG. Cohinta Betzabeth Perdomo Feliu
Tutor
MV. Msc. Olga Tkachuk de Saad.

Asesores
M.V Esp. Eduardo Zabala
MV. Msc. María de Lourdes Guerra
MV. Msc. Zoraida Nava

**TRABAJO PRESENTADO COMO REQUISITO PARA OPTAR AL TÍTULO
DE MAGÍSTER SCIENTIARUM EN MEDICINA VETERINARIA MENCIÓN
MICROBIOLOGIA**

Maracay 27 de Enero 2012.

DEDICATORIA

A Dios padre omnipotente, poder divino, gracias por la vida, sin ti nada!

A Olga y Nicolás mis adorados padres, todo lo que soy es gracias a ustedes, los amo con todo mí ser.

A mis pequeños hijos Dalmiro N. y Maruhanta, mi respiro de frescura, mi felicidad.

A mi Consorte Dalmiro M., siempre mi amor.

A mis Hermanos Katiuska y Alvaro, mis mejores amigos.

A mi Hermana Silvia, que donde quiera que este pueda sentir mi amor y la paz que tanto anhelaba.

A mis queridos sobrinos, Amalia, Nicol, Nazareth, Oriana, Silvia, Alexander, esperando ser su inspiración.

A mi tutora Olga, las cosas no pasan por casualidad.

A todos los amo.!!!

AGRADECIMIENTO

A dios, por todo y más.

A mi familia por su apoyo incondicional, en especial a mi madre a mi padre y a mi esposo.

A mi compadre Andrés Martínez, por su colaboración siempre.

A la Prof. (a) Olga Tkachuk de Saad por ser mi maestra.

A la Prof. (a) Elizabeth Marcano mi asesora metodológica incondicional.

A mis asesores Prof. (a) Zoraida Nava y en especial a los Profesores María de Lourdes Guerra y Eduardo Zabala por sus conocimientos y por ser parte de este gran equipo.

A mi colega y profesor Edgar Mejías por su ayuda en la ilustración fotográfica de esta investigación.

Al postgrado en Medicina Veterinaria y a la Prof.(a) Adriana Méndez por su aporte en el estudio.

A Yamilet, Gabriel, Luisangel, Juan, Elsa, Doriet, María Elena, María Xavier, mis compañeros del Hospital Veterinario.

A mis colegas investigadores, por su aporte en la documentación de esta investigación.

A todos.

Gracias!!!!!!!!!!

RESUMEN

Helicobacter pylori es un bacilo gram negativo, espirilado, móvil y con la capacidad única de poder persistir dentro del ambiente extremadamente ácido del estómago, y capaz de producir enfermedades gástricas en el ser humano. En caninos permanece incierta la relación entre la presencia de las especies de *Helicobacter spp* y la ocurrencia de enfermedades gastrointestinales. En nuestro país existe una limitada información acerca de la seroprevalencia del *H. pylori* en caninos y su relación con signologías gastrointestinales presentadas frecuentemente por caninos que acuden a los centros hospitalarios veterinarios. Por lo cual, se propuso como objetivo principal de esta investigación determinar la seroprevalencia de *Helicobacter pylori* y su asociación con signologías gastrointestinales en caninos atendidos en el Hospital Veterinario “Dr. Daniel Cabello Mariani” de la FCV-UCV. Se estudiaron un total de 96 muestras serológicas tomadas de caninos mayores de 1 año y se detectó a través de la prueba cualitativa de inmunoensayo cromatográfico Acu-chek® la presencia de anticuerpos específicos anti-*Helicobacter pylori* en 72 sueros. Con este resultado se determinó la seroprevalencia para *H. pylori* de 75 %. Por último, no se encontró estadísticamente asociaciones significativas entre la seroprevalencia de *H. pylori* y las signologías gastrointestinales de vomito, diarrea, hematemesis y melena, aplicando las pruebas Phi y Fisher.

Palabras claves: Seroprevalencia, *Helicobacter pylori*, canino, Prueba inmunocromatografica

ABSTRACT

Helicobacter pylori is a gram negative, spirillum, mobile bacteria and with the unique ability to persist in extremely acid environment of the stomach, being able to produce gastric diseases in humans. In dogs remains uncertain relationship between the presence of species *Helicobacter spp* and the occurrence of gastrointestinal diseases. In our country there is a limited information about the seroprevalence of *H. pylori* in dogs and its relationship to gastrointestinal signology presented frequently in dogs attended at veterinary hospitals. Therefore the main objective of this investigation was to determined the seroprevalence of *Helicobacter pylori* and its association with gastrointestinal signology in dogs treated at the veterinary hospital "Dr. Daniel Cabello Mariani" of FCV-UCV. We studied a total of 96 canine serum samples taken from dogs over 1 year old. It was detected through a qualitative immunoassay test of immunocromatography Acu-chek ®, the presence of specific antibodies anti-*H. pylori* in 72 sera. With this result we determined the seroprevalence of *H. pylori* of 75%. Finally, we found no statistically significant associations between the seroprevalence of *H. pylori* and gastrointestinal signology of vomiting, diarrhea, hematemesis and melena by using Phi and Fisher tests.

Key words: Seroprevalence, *Helicobacter pylori*, can, immunochromatographic test

INDICE DE CONTENIDO

	Pág
I. INTRODUCCIÓN	1
1. Objetivos	4
1.1 Objetivo General	3
1.2. Objetivos Específicos	4
II. REVISION BIBLIOGRAFICA	5
1. Antecedentes de la Investigación	5
2. Bases teóricas	8
2.1. Historia de <i>Helicobacter pylori</i>	8
2.2. <i>Helicobacter pylori</i>	10
2.3. Transmisión	11
2.4. Hábitat	11
2.5. Factores de Virulencia y Patogenicidad	12
2.6. Respuesta Inmune	17
2.7. Helicobacteriosis en Canino	20
2.7.1. Gastritis aguda y crónica	20
2.7.2. Gastritis linfocítica	21
2.7.3. Erosiones gástricas o úlceras	21
2.8. Diagnostico en caninos	21
2.8.1. Pruebas no invasivas	22
2.8.2. Pruebas invasivas	24
2.9. Tratamiento	26
2.10. Variables, indicadores y métodos	27
III. MATERIALES Y METODOS	28
1. Diseño y Tipo de Investigación	28
2. Área de estudio	28
3. Población	28
4. Muestra en estudio	29
5. Criterio de inclusión	29
6. Procedimientos	30
6.1. Detección de anticuerpos anti- <i>Helicobacter pylori</i>	30
6.2. Determinación de la Seroprevalencia de <i>Helicobacter pylori</i>	35
6.3. Establecimiento de las asociaciones de los seroreactores positivos con las signologías gastrointestinales	35
IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	37
1. Detección de anticuerpos anti- <i>Helicobacter pylori</i>	37
2. Determinación de la seroprevalencia de <i>Helicobacter pylori</i>	39

3. Establecimiento de las asociaciones de los seroreactores positivos con las signologías	40
V. CONCLUSIONES	46
VI. RECOMENDACIONES	47
VII. REFERENCIAS	48
APENDICE	57

INDICE DE CUADROS

	Pág.
Cuadro 1. Codificación de las variables consideradas en el estudio sobre seroprevalencia de <i>H. pylori</i> en caninos y su asociación con signologías gastrointestinales en pacientes atendidos en el hospital veterinario “Dr. Daniel Cabello Mariani”, FCV-UCV	36
Cuadro 2. Resumen de resultados obtenidos a las prueba de asociación prueba exacta de Phi y Fisher	43

INDICE DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1. Factores de virulencia y patogenicidad	16
Figura 2. Esquematización de la respuesta inmune por <i>Helicobacter pylori</i> .	19
Figura 3. Pasos a seguir en el procesamiento de la muestras	31
Figura 4. Dispositivo inmunocromatografico con reacción positiva para anticuerpos anti- <i>H.pylori</i>	33
Figura 5. Dispositivo inmunocromatografico con reacción negativa para anti anticuerpo anti- <i>H. pylori</i>	34

INDICE DE GRAFICOS

	Pág.
Gráfico 1. Resultados de las muestras serologicas para la deteccion de Anticuerpos anti- <i>H. pylori</i> (Ac`s Hp) a traves de la prueba inmunocromatografica	37
Grafico 2. Seroprevalencia del <i>H. pylori</i>	39
Grafico 3. Resumen de las frecuencias presentada por los seroreactores positivos y negativos obtenidas en relacion a cada signologia gastrointestinal	41
Grafico 4. Distribución de los seroreactores positivos en relación a cada una de las signologias gastrointestinales estudiadas	42
Grafico 5. Distribucion de seroreactores positivos en dos grandes grupos, los que presentaron las signologias y aquellos que no la presentaron	43

I. INTRODUCCIÓN

En la actualidad *Helicobacter pylori* es uno de las especies bacterianas más estudiadas y que representa mayor importancia en términos de impacto mundial por producir enfermedades gástricas en el ser humano. En perros permanece incierta la relación entre la presencia del microorganismo tipo *Helicobacter* y la ocurrencia de enfermedades gástricas, debido a que los estudios aun son contradictorios. Algunas investigaciones sugieren que la infección por *H. pylori* podría ser causal de patologías gástricas como hemorragia gástrica y gastritis mientras que en otros estudios no han encontrado relación alguna con estas patologías. Es importante destacar que en los estudios realizados hasta el presente no se han presentado relaciones estadísticas significativas con respecto a la presencia de sintomatología clínica.

En relación al género *Helicobacter* este posee más de 15 especies aisladas de la mucosa gástrica de diferentes mamíferos y solo tres de ellas se consideran de importancia presentes en el estomago de los perros *H. heilmannii*, *H. felis*, *H. salomonis*. Entre los factores de virulencia del género *Helicobacter* tenemos: su movilidad, capacidad de adhesión, metabolismo microaerofílico, capacidad hidrófoba y actividad de la ureasa. Todos estos factores producen cambios a nivel de la mucosa gástrica, así como una respuesta inmune local y sistémica del animal afectado. Los pacientes infectados responden a anticuerpos anti-*Helicobacter* primordialmente a inmunoglobulinas de la clase IgA e IgG. La IgA es liberada por la respuesta inmune local, la cual se liga a los antígenos de superficie del *Helicobacter spp*, pudiendo desencadenar una serie de patologías en el tracto gastrointestinal.

En relación a la seroprevalencia del genero *Helicobacter* esta varía entre el 86 a 100% en perros sanos y del 62 al 82 % en perros con signos del tracto digestivo superior (Jalava *et al.*, 1998; Happonen *et al.*, 1998; Serdar *et al.*, 2002). Para *H. pylori* específicamente se ha reportado una prevalencia del 78 al 79% (Souza *et al.*, 2004).

En la actualidad, existe un gran número de pacientes caninos que asisten consecutivamente a la consulta de pequeños animales por presentar signos como: vomito, diarrea, anorexia y caquexia, entre otros y a los cuales no se les ha diagnosticado la causa real de estos problemas, considerando que pudiera estar involucrado como agente causal de la enfermedad, el *H. pylori*.

Los trastornos gástricos de origen bacteriano son causados por diferentes especies bacterianas y en algunos casos, el síndrome diarreico que producen puede acompañarse de vomito, anorexia e hipertermia. Aunque el síndrome pudiera enmarcar diferentes enterobacterias, estas presentan características comunes desde un punto de vista epidemiológico y patogénico. Esto se debe a que suelen formar parte de la flora normal del tracto gastrointestinal de los perros y en algunos casos las bacterias son eliminadas por el hospedero sin que este padezca algún trastorno aparente.

En la mayoría de los casos las infecciones bacterianas son de difícil diagnóstico, dado que las interpretaciones de los coprocultivos bacteriológicos son muy delicadas. Entre los agentes bacterianos involucrados mayormente en cuadros gástricos de caninos, encontramos los géneros: *Salmonella*, *Escherichia*, *Shigella*, *Enterobacter*, *Citrobacter*, *Helicobacter* y *Campylobacter*, pudiendo algunas de estas bacterias producir zoonosis.

Además de las signologías gastrointestinales clásica como: vomito y diarrea, el *Helicobacter*, puede causar gastritis y hemorragias como consecuencia a la respuesta inflamatoria que produce este microorganismo sobre la mucosa gástrica. Esta situación condiciona al paciente a sufrir repetidamente alteraciones gastrointestinales cuando no se le realiza un diagnóstico preciso del agente etiológico involucrado.

En nuestro país no contamos con investigaciones documentadas que aporten información sobre la seroprevalencia del *H. pylori* en caninos y su posible relación con signologías gástricas presentadas frecuentemente en los pacientes caninos que acuden a los centros hospitalarios veterinarios. La información obtenida en este trabajo de seroprevalencia puede ser de gran ayuda para los clínicos veterinarios al incluir en sus diagnósticos diferenciales la patología causada por este género bacteriano.

En este sentido, la presente investigación tiene como propósito los siguientes objetivos:

1. Objetivos

1.1. Objetivo General

Determinar la seroprevalencia de *Helicobacter pylori* y su asociación con signologías gastrointestinales en caninos atendidos en el Hospital Veterinario “Dr. Daniel Cabello Mariani” de la FCV-UCV.

1.2. Objetivos Específicos

1. Detectar la presencia de anticuerpos anti-*Helicobacter pylori* en las muestras serológicas de caninos, mediante la técnica de inmunoensayo cromatográfico.
2. Determinar la seroprevalencia de *Helicobacter pylori*, de acuerdo a seropositividad de las muestras.
3. Establecer las asociaciones de los seroreactores positivos con las signologías gatrointestinales.

II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

1. Antecedentes de la investigación

Los seres humanos no son los únicos hospederos de *H. pylori*, esta bacteria ha sido aislada del tracto gastrointestinal de varios animales como: caninos, felinos, hurones, monos, porcinos y ovinos; encontrándose involucrada en los casos de úlceras gástricas en esas especies animales (Queiroz *et al.*, 1990).

Hand *et al.* (1994), aislaron esta bacteria a partir del estómago de gatos domésticos, originando con esto una gran polémica por el grave problema de salud pública que representa, debido a la posibilidad de que este microorganismo sea un patógeno zoonótico, con una vía de transmisión que ocurra desde los gatos hacia los seres humanos.

Otras especies del género *Helicobacter*, como *H. canis* y *H. pullorum* aislados de caninos y gallinas respectivamente, ya fueron cultivadas a partir de muestras de heces diarreicas de humanos. Este hallazgo demuestra que los seres humanos pueden infectarse debido al contacto con esos animales o por la ingestión de agua o alimentos contaminados a través de las vías oral-oral u oral-fecal (Fox, 1995).

En estudios realizados por Bode *et al.* (1998), encontraron que los animales de compañía no son factores de riesgo para la infección de niños por este microorganismo. Mientras que Lindo (1999), demostró que los factores ambientales y zoonóticos como es la convivencia con caninos y felinos, están involucrados en la propagación de la infección por *H. pylori*.

Hwang *et al.* (2002), realizaron un estudio en Corea, para evaluar la prevalencia y caracterización clínica de la infección por *Helicobacter spp.* en 42 perros y 21 gatos, para lo cual sometieron las biopsias gástricas recolectadas al test de ureasa, y encontraron una prevalencia del 78,4% en perros y del 64% en gatos.

Jara (2003), realizó una investigación para determinar la presencia de bacterias tipo *Helicobacter*, en caninos de la ciudad de Valdivia a través de exámenes histológico del estómago, intestino, hígado y vesícula biliar. Ella utilizó 34 perros, 15 machos y 19 hembras, con un rango de edad de 3 meses a 15 años y un peso entre 4 y 30 Kilos. Los resultados de este estudio indicaron la presencia de las bacterias tipo *Helicobacter spp.* en todos los perros estudiados, con un 100% de representación en las muestras provenientes del intestino grueso (ciego, colon y recto), 94,1% en estómago, 73,5% en duodeno, 70,6% en yeyuno y 88,2% en ileo. Los resultados menores lo obtuvo en las muestras de hígado (64,7%) y vesícula biliar (58,8%).

Rodríguez *et al.* (2003), plantearon en la ciudad de Madrid otro estudio para determinar la prevalencia de *Helicobacter spp.* en 70 perros mediante la prueba de ureasa, obteniendo una prevalencia del 64,3%, no encontrando diferencias estadísticamente significativas entre animales con o sin enfermedad digestiva.

Souza *et al.* (2004), investigaron la prevalencia de *Helicobacter spp.* en 109 caninos proveniente del bioterio de la Universidad Estadual de Sao Paulo, para determinar la presencia de *Helicobacter spp.* utilizaron como pruebas diagnósticas la coloración histológica de Giemsa, la prueba de ureasa y el test inmunocromatográfico para la seroprevalencia específica de *H. pylori*.

Como resultado encontraron la presencia del microorganismo en 99% de las muestras sometidas tanto a la técnica histopatológica como a la prueba de ureasa y para la seroprevalencia de *H. pylori* obtuvieron el 78,8%.

Ogawa *et al.* (2005), investigaron la seroprevalencia de anticuerpos contra *H. pylori* en 100 perros utilizando un estuche comercial basado en la técnica inmunocromatográfica, reportando en la ciudad de Shizuoka- Japón un 79% de muestras positivas. Clasificando además, la prevalencia en perros jóvenes menores de 6 meses , entre 6 meses y 1 año y más de 1 año, para los que reportan un 20, 75 y 85 % para cada grupo, respectivamente.

Polanco *et al.* (2006), realizaron un estudio para registrar las patologías existentes en el estómago y determinar la presencia de bacterias del género *Helicobacter* en lesiones gástricas asociadas a esta bacteria. Utilizaron 43 perros de la Sección de Caninos del Bioterio de FCV-UCV. En este estudio se registraron mediante las técnicas diagnósticas la presencia de un 16,3% de nódulos por *S. lupi*, 13,9% de lesiones inflamatorias y úlceras gastroduodenales y un 100% de positividad a la prueba de ureasa. Por análisis histopatológicos, encontraron un 58,14% de gastritis aguda superficial, 20,93% de gastritis crónica superficial y 6,98% de gastritis crónica atrófica. Así mismo evidenciaron bacterias espirales en la mucosa gástrica y en las muestras serológicas evaluadas por la técnica de ELISA, detectaron anticuerpos contra *H. pylori* en solo un 4,7% en los caninos muestreados del Bioterio.

Thibaut *et al.* (2007), realizaron un estudio para determinar la frecuencia de presentación de *Helicobacter spp.* en caninos de Valdivia, Chile, a través de biopsias gástricas de las zonas fúndica y pilórica obtenidas por endoscopía y que fueron analizadas mediante las pruebas de ureasa e

histología. Como resultado a este estudio, encontraron que la bacteria *Helicobacter spp.* fue detectada en todos los perros. La prueba de ureasa dio resultados positivos a *Helicobacter* en 86,2% de las muestras de la zona fúndica y en 75,9% del antro pilórico.

Hernández *et al.* (2007), muestrearon a 118 caninos, de los cuales 98 tenían síntomas relacionados con el tracto digestivo y 20 fueron asintomáticos. Ellos obtuvieron un total de 410 biopsias gástricas, las cuales fueron sometidas a análisis histopatológico en busca de gastritis y *Helicobacter spp.* En esta investigación los resultados no mostraron, una relación estadísticamente significativa con respecto a la presentación de algún síntoma digestivo y la presencia de *Helicobacter spp.*

2. Bases Teóricas

2.1. Historia del *Helicobacter pylori*

En 1875, científicos alemanes descubrieron bacterias espirales en el epitelio del estómago humano, aunque al no lograr su cultivo el hallazgo quedó como interrogante para la ciencia (Blaser, 2005).

El investigador italiano Giulio Bizzozero, describió en 1893 la presencia de bacterias espirales en el ambiente ácido del estómago de perros y gatos. Unos años más tarde, en Cracovia en 1899, el profesor Walery Jaworski investigó lavados gástricos obtenidos de humanos y además de bacterias alargadas observó otras con forma de espiral, a las cuales llamó *Vibrio rugula*, y a partir de su descubrimiento lanzó por primera vez la asociación de microorganismos con enfermedades gástricas. En el siglo XX, algunos anatomopatólogos continuaron informando la presencia de organismos en

espiral en la mucosa gástrica humana, y en 1940 se reportó en 40 % de muestras de las biopsias analizadas (Marshall, 1983).

En 1983, el patólogo australiano Robin Warren junto a Barry Marshall, gastroenterólogo, comunican en la revista Lancet, por primera vez, el aislamiento de un bacilo curvo en biopsias de estómago de pacientes con gastritis y úlcera péptica al que denominaron como “*Campylobacter like organisms*” (organismos similares a *Campylobacter*), por su comportamiento a la tinción de Gram, sus requerimientos microaerófilicos, y por sus características diferenciales con ese género microbiano (Marshall, 1983).

En 1985, Marshall se infecta personalmente con el germen desarrollando un cuadro típico de gastritis y lo aísla de su propia mucosa estomacal llamándolo *Campylobacter pyloric*. Análisis ultraestructurales y de la secuencia genética del ácido ribonucleico ribosomal 16S (ARNs) mostraron posteriormente las evidencias suficientes para colocarlo en el nuevo género *Helicobacter*, perteneciente a la familia *Campylobacteriaceae*. En la actualidad, esa familia incluye, entre otros a dos géneros de importancia clínica, el *Campylobacter* y el *Helicobacter* que comprende dos subgrupos: el gástrico y el enterohepático. Dentro del primer subgrupo se encuentra el *H. pylori* y se conocen dentro del género *Helicobacter*, al menos 19 especies aisladas de la mucosa gástrica e intestinal de otros mamíferos (Marshall, 2002).

Warren y Marshall en 1983, revolucionaron los conocimientos médicos del aparato digestivo humano, demostrando que la úlcera péptica y la gastritis se incorporaban a la lista de enfermedades infecciosas, lo que destruía la hipótesis de acusar al ácido gástrico, al estrés, a las comidas irritantes y a los estilos de vida como los únicos responsables de estas

patologías. Es por ello que se abrió la posibilidad de aplicar un tratamiento efectivo, capaz de lograr la recuperación y curación de dolencias de gran incidencia para la población mundial (Blaser, 2005).

2.2. *Helicobacter pylori*

H. pylori es un bacilo espiralado, gram negativo y microaerofílico, con una longitud de 2,5 a 4,0 μm y de 0,5 a 1,0 μm de ancho. Son microorganismos móviles que constan normalmente con 4 a 6 flagelos polares recubiertos por una vaina e insertado en el cuerpo de la bacteria mediante un disco de 90 nm (Yoshiyama y Nakazawa, 2000).

H. pylori, bioquímicamente resulta positivo las pruebas bioquímicas de catalasa, oxidasa, ureasa, fosfatasa alcalina, ADNasa, leucina, gamma-glutamyl aminopeptidasa y arginina arilamidasa, y negativas la hidrólisis del hipurato, la hidrólisis de indoxilacetato y la reducción de nitratos (Goodwin y Worsley, 1993).

Las especies del género *Helicobacter* identificados en el estómago de los perros son el *H. felis*, el *H. heilmanni* (antiguamente conocido como *Gastrosphilum hominis*), el *H. bizzozeronii*, *H. salomonis* el *H. bitis* y el *Flexispira rapini*, todos ureasa y catalasa positivo, similares en longitud y grosor. Por otra parte, es importante conocer que *H. pylori* no se encuentra infectando naturalmente al perro (Javala *et al.*, 1998; Happonen *et al.*, 1998).

Aunque se asocia comúnmente la presencia de las especies bacterianas del género *Helicobacter* con el estómago, algunas especies como el *H. canis* pueden colonizar también el intestino y el hígado (Simpson y Burrows, 1997).

2.3. Transmisión

El modo de transmisión del *Helicobacter* aun no ha sido bien estudiado en Medicina Veterinaria (Happonen *et al.*, 1998). Las vías de transmisión postuladas hasta el momento son la oral – fecal y la oral – oral. También se ha descrito la transmisión en el periodo de lactancia en hembras paridas que infectan a los cachorros en una edad temprana, lo que hace que también se pueda presentar transmisiones de la bacteria entre ellos mismos (Happonen *et al.*, 1998; Happonen *et al.*, 2000).

2.4. Habitat

H. pylori es una bacteria que posee una capacidad única, la de poder persistir dentro del ambiente extremadamente ácido del estómago, una barrera efectiva para impedir la colonización gástrica por la mayoría de las especies bacterianas. Este microorganismo se encuentra primordialmente libre en el moco gástrico, localizándose también en la superficie de las células epiteliales o en el intersticio celular. Predomina la localización antral y suele alcanzar una densidad de 10^6 unidades formadoras de colonias por gramo de tejido (Cover, 1997).

En este sentido, *H. pylori* vive en la capa de moco que recubre al epitelio gástrico, un nicho ecológico con un pH ácido, un recambio celular elevado y un movimiento peristáltico continuo a demás de contar con una baja tensión de oxígeno (Canton *et al.*, 1995).

Este microorganismo puede atravesar las uniones intercelulares, probablemente por la expresión de moléculas que se ligan a proteínas

séricas y de la matriz extracelular del hospedador y se considera rara la invasión celular (Marshall, 2002).

2.5. Factores de Virulencia y Patogenicidad

Se han identificado diversos factores implicados en la patogenicidad y virulencia del *H. pylori* así como en su prolongada persistencia, entre los que se destacan la motilidad, las actividades ureasa y catalasa, la adhesión al moco y epitelio gástrico y las toxinas VacA y CagA (Elizalde y Panes, 1998).

La motilidad, es un factor fundamental para la colonización de la mucosa gástrica, conseguida gracias a la morfología espiral y a la presencia de flagelos polares (Elizalde y Panes, 1998).

La Ureasa se localiza en el citosol de la bacteria y en su superficie, aunque esta última localización puede tratarse de un mecanismo no específico para la exportación de la enzima; posee un peso molecular de 600kDa y esta codificada por siete genes denominados *ureB* a *ureG* (Mobley, 1996). Los dos primeros *ureA* y *ureB* codifican las subunidades de 26.5 kDa y 60.3 kDa, respectivamente. Luego *ureC*, *ureD*, *ureE*, *ureF* y *ureG* son considerados genes accesorios, localizados en el cromosoma (Labigne *et al.*, 1991).

El jugo gástrico normal posee un $\text{pH} < 4$, el cual le confiere un carácter bactericida y por tanto capaz de eliminar a muchas de las bacterias que llegan al estómago con la ingesta de agua y alimentos, por ello epidemiológicamente se hace referencia al estómago como la “barrera ácida” (Rivas y Hernandez, 2000).

La clave para la adaptación al pH gástrico reside en la producción de ureasa . Esta enzima (urea amidohidrolasa) cataliza la hidrólisis de urea para proporcionar amonio y carbamato, el cual se descompone para producir otra molécula de amonio y ácido carbónico, con lo cual neutraliza el microambiente de las glándulas gástricas colonizadas. El efecto neto de esas reacciones es un aumento del pH. También explica el hecho de la asociación de la bacteria con los espacios intercelulares del epitelio gástrico, por los cuales se excreta urea (Hu y Mobley, 1990).

Además posee una elevada capacidad inmunógena, y podría actuar como quimiotáctico para los leucocitos, y activar los monocitos y los neutrófilos, promoviendo la formación y liberación de radicales libres de oxígeno que contribuirían a amplificar y perpetuar la respuesta inflamatoria local (Elizalde y Panes, 1998).

La catalasa confiere capacidad de protección ante la acción de radicales libres de oxígeno, específicamente peróxido de hidrógeno, generado por los neutrófilos en la mucosa gástrica (Elizalde y Panes, 1998).

La colonización de la mucosa lleva como paso previo la capacidad de la bacteria para adherirse al epitelio gástrico (Hessey *et al.*, 1990). Esta adherencia ocurre mediante la interacción entre las adhesinas bacterianas y los receptores del hospedero que están representados por algunas proteínas de la matriz extracelular. De manera que las lesiones inducidas por la adherencia son de tipo adhesión-efacelación y ultraestructuralmente son similares a las producidas por *E. coli* enteropatogénica (EPEC). Estas lesiones se caracterizan por la pérdida de las microvellosidades del epitelio gástrico en el sitio de adhesión, lo que conduce a la formación de una

estructura similar a un pedestal de unos 5 nm de diámetro, con uniones estrechas entre la bacteria y la superficie celular (Finlay y Falkow, 1989).

La adhesión se ve favorecida por varias moléculas, incluyendo lípidos, gangliocidos y carbohidratos sulfatados, entre las que sobresalen las proteínas BabA y SabA. La adhesina BabA se liga a los antígenos Lewis-b presentes en la mucina gástrica MUC5AC y en las células gástricas epiteliales (Covacci, *et al.*, 1999). La adhesina SabA se liga a los antígenos de Lewis-x expresados durante la inflamación crónica. La unión de las bacterias al epitelio conlleva a la aparición de modificaciones en el citoesqueleto de las células epiteliales, e induce la secreción de IL-8, que desempeña un papel importante en la respuesta inflamatoria asociada a la colonización por *H. pylori* (Elizalde, 2004).

El lipopolisacarido (LPS) que posee un antígeno “O” los carbohidratos de Lewis “x” o Lewis “y” o ambos, es otro factor de virulencia. Los antígenos de Lewis son glicoconjugados con diferente número de residuos de fructosa, los cuales pueden ser de 4 tipos Le^a, Le^b, Le^x, Le^y. Los antígenos de Lewis participan en la patogénesis ayudando al microorganismo a evadir la respuesta inmune durante la colonización del estómago, favoreciendo la permanencia de la bacteria en el nicho gástrico, y por otra parte induciendo una respuesta autoinmune contra los antígenos de Lewis que expresa *H. pylori* y que son compartidos por las células eucariotas contribuyendo a un daño directo o indirecto (Bliss *et al.*, 1998)

La proteína VacA, o citotoxina vacuolizante, está codificada por el gen *vacA*, presente en todas las cepas de *H. pylori*, existiendo variantes alélicas que afectan a la región *s* (codifica el péptido señal) y a la región *m* (central) de la proteína. Esta toxina induce la vacuolización citoplasmática de las

células epiteliales, pudiendo también causar apoptosis de las mismas, así como la alteración en las uniones intercelulares y en la activación de los linfocitos T (Quintero y Salido, 1998; Elizalde, 2004). Adicionalmente esta citotoxina induce una respuesta inmunológica al estimular la liberación de citotocinas por los mastocitos (de Bernard *et al.*, 2005).

La proteína CagA es codificada por el gen *cagA* (gen asociado a citotoxicidad), incluido en un segmento de unas 40 Kb conocido como región *cag*, una isla de patogenicidad constituida por más de 30 genes que proporcionan mayor agresividad a las cepas que lo poseen, causando mayor infiltrado inflamatorio en la mucosa gástrica y mayor riesgo de desarrollar enfermedades digestivas (Marshall, 2002).

Esta isla de patogenicidad mantiene un contenido de guanina y citosina distinto al propio de *H. pylori*. Codifica un sistema de secreción tipo IV que deriva de una estructura flagelar antigua, usada ahora para constituir un túbulo a través del cual la proteína *cagA* se transfiere a la célula epitelial del hospedador, para que una vez en su interior altere su citoesqueleto y con esto refuerce la adherencia y supervivencia de *H. pylori*. Esta isla también contiene genes que induce la producción de IL-8 por parte de las células epiteliales, esta interleuquina atrae neutrófilos que migran desde los capilares y emergen entre las células epiteliales, pudiendo participar en la producción de la úlcera péptica a través de la liberación de diversas sustancias (Marshall, 2002).

Entre otros factores que también se han implicado en la virulencia estarían los genes *iceA*, *oipA*, *dupA* y la proteína NAP, una proteína activadora de neutrófilos de 150KD, que promueve la adhesión de polimorfonucleares en las células epiteliales (Covacci *et al.*, 1999).

En la Figura 1 se esquematizan los factores de virulencia y patogenicidad que caracterizan a *H. pylori*.



Figura 1. Factores de virulencia y patogenicidad

(Fuente: Foshesatto *et al.*, 2006)

2.6. Respuesta inmune.

Según el modo de transmisión de *H. pylori*, oral-oral u oral- fecal, una vez que este se localiza en la cavidad oral, la bacteria desciende a lo largo del tubo digestivo hasta llegar al estómago, adhiriéndose a la capa mucosa. La adherencia sucede por la interacción entre los flagelos, las adhesinas bacterianas (proteínas), y los receptores del huésped representados por algunas proteínas de la matriz extracelular (Núñez *et al.*, 2006).

En el año 1996 Butcher y Picker (citado por Núñez *et al.*, 2006), mencionaron que existen también ciertos factores que influyen en el proceso de adhesión como la presencia del IFN- γ que podría mediar la inducción y la expresión de proteínas que pertenecen al complejo de histocompatibilidad tipo II (MHC-II) en células epiteliales, aumentando la adherencia de *H. pylori* al epitelio gástrico e induciendo apoptosis.

Es entre el moco y la célula parietal donde *H. pylori* coloniza y se multiplica e inmediatamente se lleva a cabo el mecanismo de respuesta inmune innata, siendo a este nivel, donde ocurre la formación del infiltrado inflamatorio característico de la patogenia de esta bacteria.

La reacción inflamatoria implica la activación de mediadores plasmáticos proinflamatorios y citocinas quimiotácticas como IL-8, IL-1, TNF- α , que en conjunto producen un aumento de la permeabilidad vascular y una mayor atracción de células inmunitarias hacia la mucosa gástrica que trabajan activamente para eliminar la bacteria, tales como: neutrófilos, eosinófilos, basófilos, linfocitos (células T y B), linfocitos tipo “natural killer” (NK) y células del linaje de monocitos y macrófagos, constituyéndose de esta manera el infiltrado inflamatorio.

Un aspecto importante en la patogenia de *H. pylori* es la capacidad que tiene de producir factores quimiotácticos como por ejemplo la Proteína Activadora de Neutrófilos (NAP, por sus siglas en idioma inglés), entre otros, que son capaces de atraer mayor cantidad de células inmunitarias hacia el lugar de la infección, agravando y manteniendo el cuadro inflamatorio, el cual, junto con otros factores como la producción de toxinas por parte de *H. pylori*, la generación de radicales libres del oxígeno por parte de los fagocitos en actividad, entre otros, causan daños y lesiones permanentes a nivel de la mucosa gastrointestinal (Núñez *et al.*, 2006)

A medida que la bacteria va colonizando y produciendo el infiltrado inflamatorio, se lleva a cabo el proceso de inmunidad adaptativa, en el cual se produce la presentación antigénica de *H. pylori* por parte a las células presentadoras de antígeno (APC) a los linfocitos TCD4+. Los macrófagos, junto con las células dendríticas, células “Natural Killer” (NK) y mastocitos son participantes cruciales en este proceso, ya que la liberación de citocinas reguladoras por parte de ellas en la mucosa gástrica en el momento de la presentación antigénica, es capaz de inducir la respuesta de linfocitos T nativos (Th) a una vía de predominio celular (Th1) o de predominio humoral (Th2).

La diferenciación de los linfocitos Th en Th1 o Th2 encamina el proceso inflamatorio hacia su resolución o a su continuidad, entendiendo que la vía de diferenciación Th1 se asocia con inflamación y posterior desarrollo de gastritis crónica y otras patologías y la vía Th2 antiinflamatoria será la resolutive, en donde se producen títulos de anticuerpos de tipo IgM, IgG, IgA e IgE cursando con la eliminación de la bacteria (Núñez *et al.*, 2006).

En la Figura 2 se presenta en forma resumida de la respuesta inmunológica para la infección gástrica por *H. pylori*.

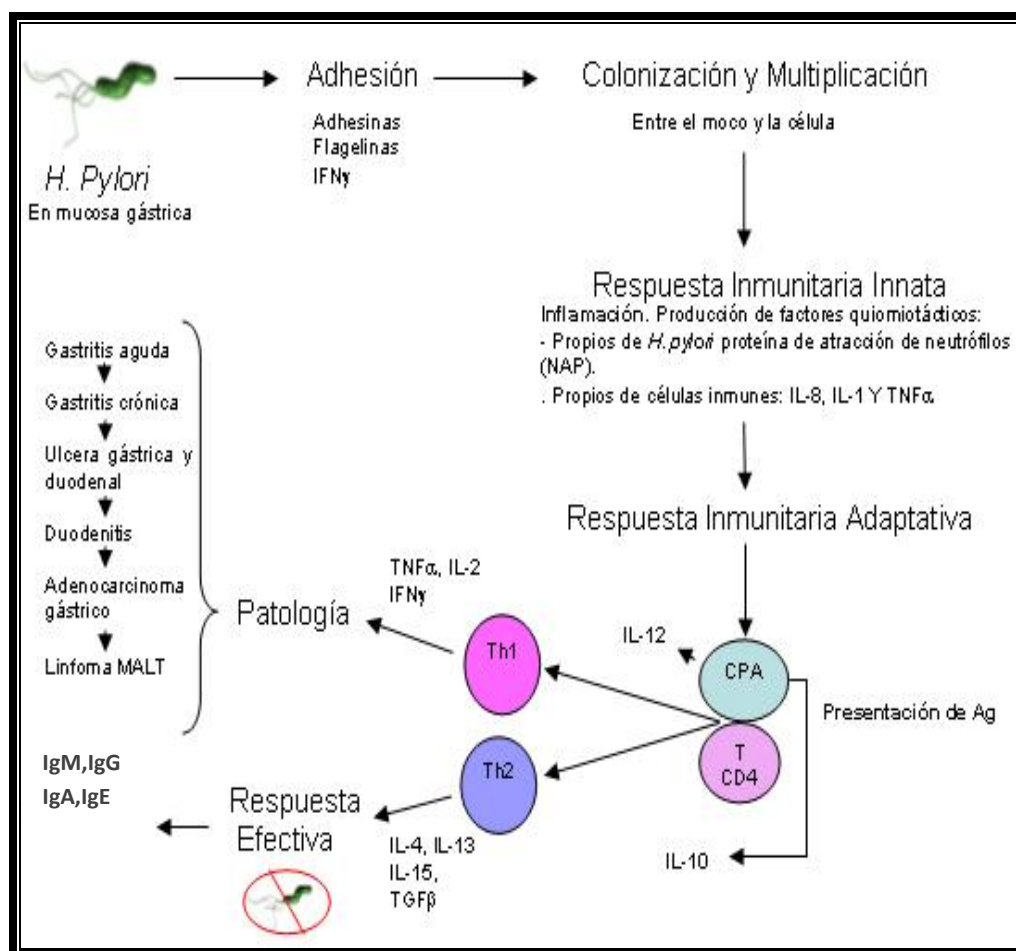


Figura 2. Esquematización de la respuesta inmune por *Helicobacter pylori*.

(Fuente: Núñez *et al.*, 2006.)

Es importante mencionar que lo que determina que la respuesta inmune tome alguna de las dos vías no son solamente los patrones de citocinas, sino también factores intrínsecos de la bacteria y del huésped como tal (Núñez *et al.*, 2006).

2.7. Helicobacteriosis en Caninos

Los organismos *Helicobacter spp.* son observados con frecuencia en el estómago de gatos y de perros mientras que la relación entre estos microorganismos y las patologías gástricas aún no han sido claramente comprendidas, difiriendo de la enfermedad gástrica humana donde el *Helicobacter pylori* es de gran importancia (Gómez *et al.*, 2006).

Aún falta por dilucidar parte de la patogenia, para lo cual los científicos deberán adoptar a varias especies animales como modelos para estudiar la interacción del portador, respuesta inmune y el proceso de enfermedad que genera esta bacteria (Esteves *et al.*, 2000).

Entre las patologías en canino citadas por Rhea (1999) y Tams (2005) causadas por el género *Helicobacter* se encuentran: Gastritis aguda y crónica, Gastritis linfocítica y Erosiones gástricas o úlceras.

2.7.1. Gastritis aguda y crónica

Diversas especies de *Helicobacter* comúnmente son halladas en el estomago de los perros y gatos, y si bien se desconoce el impacto clínico de la infección de estas especies, las evidencias indican que el proceso infeccioso es causante de gastritis (Tams, 2005). La cual está caracterizada por una inflamación y posterior lesión de la mucosa, como respuesta a las agresiones sobre la misma (Rhea, 1999).

A pesar de la elevada incidencia de la infección, la mayor parte de los perros y gatos infectados con *Helicobacter* no tienen síntomas de gastritis.

Sin embargo, algunos animales infectados son sintomáticos, una situación similar a la observada en pacientes humanos (Tams, 2005).

2.7.2. Gastritis linfocítica

Otros estudios de infección experimental en perros y gatos confirmaron que *Helicobacter* spp. puede inducir gastritis linfocítica en estas especies (Tams, 2005).

2.7.3. Erosiones gástricas o úlceras

En las erosiones gástricas, ocurre una pérdida de la superficie de la mucosa que no alcanza la lámina muscular de la misma. Mientras que las úlceras gástricas penetran más profundamente hasta alcanzar la capa muscular de la mucosa (Rhea, 2005).

2.8. Diagnóstico en Caninos

Hasta la fecha no está disponible una prueba de referencia aceptada universalmente como la “prueba de oro”, para el diagnóstico de la infección por especies del género *Helicobacter*. Por lo tanto, la elección de las pruebas diagnósticas depende de la situación clínica específica (Piccolomini *et al.*, 1999), por lo cual se necesitan métodos de diagnóstico con alta especificidad y sensibilidad para dilucidar la asociación entre infecciones por diversas especies de *Helicobacter* y las diferentes enfermedades en las poblaciones (Fox, 2002).

Los métodos diagnósticos de *Helicobacter* spp. pueden ser invasivos y no invasivos (Happonen *et al.*, 1998). Los métodos invasivos como los

cultivos, histopatología, improntas, pruebas de ureasa en biopsias, microscopia electrónica, PCR y citología por cepillo, requieren de biopsias gástricas, la cual se toma por endoscopia y bajo anestesia (Strauss-Ayali y Simpson, 1999; Stoffel *et al.*, 2000). Mientras que los métodos no invasivos como la serología, pruebas de ureasa en aliento, detección de ADN bacteriano y antígeno en material fecal, no requieren de biopsias gástricas ni anestesia, pero sus costos son elevados (Happonen *et al.*, 1998; Strauss-Ayali y Simpson, 1999).

2.8.1. Pruebas no invasivas

Pruebas Serológicas

Estas pruebas miden los anticuerpos circulantes IgA e IgG, son precisas, relativamente rápidas, sencillas de realizar y poco costosas. Se han utilizado diferentes métodos como aglutinación bacteriana, fijación del complemento, aglutinación en látex, hemoaglutinación pasiva, ELISA y el inmunoblot. (Strauss-Ayali y Simpson, 1999; Seidel *et al.*, 1999). Con los métodos serológicos no se puede determinar la especie de *Helicobacter* spp presente, (Scanziani *et al.*, 2001) debido a la homología antigénica del género (PL, Jacobson *et al.*, 1999).

Existen paquetes comerciales de ELISA para el uso en humanos, pero no para animales (Happonen *et al.*, 1998); la aplicación de estos paquetes en perros demostraron una especificidad similar a los usados en humanos; sin embargo, la sensibilidad fue menor. La combinación del uso de las pruebas de ELISA e inmunoblot identifican 25.7% más de perros infectados, que con el solo uso de la técnica de ELISA (PL, Jacobson *et al.*, 1999).

Desarrollar una técnica que detecte los anticuerpos monoclonales específicos de cada especie de *Helicobacter* podría ser importante ayuda diagnóstica para la diferenciación entre éstos (Scanziani *et al.*, 2001).

Test de enzimoimmunoabsorción (ELISA)

Esta prueba es la más empleada por que no es compleja, se puede automatizar y permite obtener resultados cuantitativos, definiéndose la positividad o negatividad por el punto de corte que marca la casa comercial. La especificidad y la sensibilidad de la prueba ELISA varían en función de factores como el punto de corte usado, los antígenos del preparado, las diferentes diluciones del suero empleadas y el método de referencia considerado para identificar a los infectados y no infectados (Gisbert, 2000).

Desde el punto de vista diagnóstico, niveles altos de anticuerpos específicos deberán ser interpretados como un indicador de gastritis asintomática, de hecho títulos elevados de IgM y IgA indican infección inicial o activa por *H. pylori*, mientras que niveles elevados de IgG pueden indicar infección activa superada. La detección de anticuerpos IgG anti - *H. pylori* tardan de 6 a 12 meses en descender un 50% y esto se considera como un signo de erradicación, sin embargo pueden seguir siendo positivos a títulos bajos meses o años (De la Cruz del Valle y Casamayor, 2008).

El grado de seropositividad por ELISA no tiene relación con la densidad de colonización bacteriana, grado de inflamación gástrica o presencia de folículos linfoides (PL, Jacobson *et al.*, 1999).

Técnica inmunocromatográfica

La inmunocromatografía se basa en la migración de una muestra a través de una membrana de nitrocelulosa. Esta técnica se fundamenta en la interacción de la muestra con los antígenos inmovilizados de *H. pylori* y el colorante conjugado.

En el caso de una muestra con reactividad positiva se forma el complejo coloreado-antígeno-anticuerpo, la cual se revela con la formación de una banda de color fucsia en la región de prueba y, en el caso de no aparecer la banda de color en esta región es indicativo de una muestra con reactividad negativa.

Esta prueba fue diseñada para la determinación cualitativa de anticuerpos *H. pylori* en sangre completa, suero o plasma.

2.8.2. Pruebas invasivas

Citología por cepillo

Este método consiste en esparcir la mucosa gástrica sobre un porta objeto, al cual se le realiza la tinción de Romanovsky cuando se requiere un resultado rápido (Happonen *et al.*, 1998); pero normalmente se emplea la tinción May-Grunwald-Giemsa, Gram o Diff Quick (Strauss-Ayali y Simpson. 1999).

Histopatología

Es un método diagnóstico efectivo, ya que permite la visualización de la bacteria y la morfología del tejido gástrico. Se emplean tinciones como: Steiner modificado (MS), Warthin Starry (WS) y Hematoxilina y eosina (HE) (Esteves *et al.*, 2000). También se emplean las coloraciones de Giemsa, Genta, amarillo alciano y azul de toluidina entre otras. (Happonen *et al.*, 1998).

Prueba de ureasa en biopsias

Es una prueba fácil, rápida y poco costosa, al colocar la biopsia en una solución amortiguadora de urea con rojo fenol, que sirve como indicador de pH; si la urea está presente, la enzima consume la urea y el pH cambia, lo que genera un cambio de color de la solución. Esta prueba puede ser positiva en pocas horas. (Happonen *et al.*, 1998; Simpson *et al.*, 2000)

Cultivo Microbiano

El cultivo microbiano nos permite conocer las características bioquímicas y morfológicas de la bacteria para su diagnóstico. No todos los *Helicobacter spp.* son cultivables (Chiocchetti y Gualtieri, 1999). El cultivo de estas bacterias es difícil; para ello es indispensable el uso de un adecuado medio de transporte y un procesamiento rápido de la muestra (Happonen *et al.*, 1998).

La sensibilidad de esta técnica es baja (15,4% a 51%), comparada con otros métodos diagnósticos (Strauss-Ayali y Simpson, 1999).

Técnicas molecular PCR

Esta técnica demuestra la presencia del ADN del *Helicobacter spp.* en biopsias gástricas, aun cuando el número de la carga bacteriana es bajo para ser detectados por otros métodos. La secuencia genómica 16S rARN es muy similar entre *H. felis*, *H. bizzozeronii*, *H. salomonis* y *H. heilmannii*. Por lo tanto, este método no es muy adecuado para diferenciar entre especies (De Groote *et al.*, 2001).

Microscopia Electrónica

Esta técnica además de detectar la bacteria permite diferenciar entre las especies de *Helicobacter* basándose en su morfología, específicamente en su tamaño, número y localización de espirales, presencia de flagelos polares y de fibrillas periplasmáticas (Happonen *et al.*, 1998). Es altamente efectiva debido a que se basa en las características ultraestructurales convirtiéndola en una técnica compleja y costosa lo que restringe su uso a investigaciones (Strauss-Ayali y Simpson, 1999).

2.9. Tratamiento

El tratamiento para la infección por *H. pylori* consiste en la combinación de antibióticos como amoxicilina, tetraciclina, metronidazol o claritromicina con ranitidina-bismuto, subsalicilato de bismuto o un inhibidor de la bomba de protones. Uno de los protocolos más utilizados en humanos y que ha sido evaluado en perros, es la combinación de amoxicilina, metronidazol y

subcinato de bismuto, este ultimo ayuda al alivio de los síntomas asociados, a contrarrestar la inflamación y a demás de aumentar la eficacia de los antibióticos en la superficie de la mucosa gástrica (Horn, 2000).

Una vez realizada la revisión documental referida a *H. pylori*, se determinaron las variables, indicadores y métodos con los cuales se alcanzaran los objetivos planteados en la investigación.

2.10. Variables, indicadores y metodos

Variables	Dimensiones	Indicadores	Método
<i>Helicobacter pylori</i> en caninos	Seroprevalencia	Presencia de Anticuerpos anti- <i>H. pylori</i>	Técnica inmunoensayo cromatográfico
	Asociación con variables gastrointestinales	Vomito Diarrea Hematemesis Melena	Análisis estadístico

III. MATERIALES Y MÉTODOS

1. Diseño y Tipo de Investigación

Se realizó una investigación con diseño de campo, no experimental y de tipo descriptivo (Arias, 2006), logrando reunir las características clínicas de la población estudiada, sin alterar las condiciones existentes, para determinar la seroprevalencia de la infección por *H. pylori*.

2. Área de estudio

El área de estudio está representada por el Hospital Veterinario Dr. Daniel Cabello Mariani, ubicado en la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Central de Venezuela, campus Maracay, el cual funge como hospital docente y en el cual se prestan servicios de Consulta, Hospitalización, Laboratorio e Imagenología.

El área específica para realizar el muestreo fue el servicio de consulta, al que asisten pacientes caninos provenientes de diferentes zonas del país.

3. Población

La población de referencia estuvo conformada por caninos tomados al azar de diferentes razas y edades, quienes asistieron a consulta por diferentes motivos, durante el periodo Febrero- Septiembre 2010.

4. Muestra en estudio.

El tamaño de la muestra se estimó considerando como desconocida la prevalencia poblacional, por la falta de datos a nivel nacional sobre la seroprevalencia del *H. pylori*. Para garantizar que la muestra sea representativa y confiable se utilizó una prevalencia base de 50% epidemiológicamente aceptable, de este modo se supera la dificultad que se deriva de la falta de datos a nivel nacional sobre tal proporción (OPS, 2002).

Para estimar el tamaño de muestra necesario se aplicó la siguiente fórmula:

$$n = \frac{Z^2 \cdot p (1 - q)}{\epsilon^2}$$

Donde:

n= tamaño de la muestra

Z= 1,96 para el 95% de confianza

p= frecuencia esperada del factor a estudiar (0,5)

q= 1 – p

ϵ^2 = error admitido (0, 01)

Entonces tenemos:

$$n = \frac{1,96^2 \cdot 0,5 (0,5)}{0,01} = 96 \text{ animales muestreados}$$

5. Criterio de inclusión

La muestra consistió de pacientes caninos mayores de 1 año que acudieron al servicio de consulta del Hospital Veterinario Dr. Daniel Cabello Mariani durante el período Febrero- Septiembre 2010.

6. Procedimientos

Previo consentimiento informado por el propietario (Apéndice 1), se recogieron los datos necesarios del paciente canino, en una encuesta (Apéndice 2), de la cual se tomo la información concerniente a las variables indicativas de sinología gastrointestinal como: vomito, diarrea, hematemesis y melena que fueron evaluadas de manera cualitativa.

6.1. Detección de anticuerpos anti-*Helicobacter pylori*.

Una vez recopilada la información en la encuesta, se procedió a extraer la muestra sanguínea de los pacientes caninos, para ello se hizo una cateterización en la vena safena o la vena yugular, considerando esta última en el caso de los caninos de razas muy pequeñas (Ruiz *et al.*, 1995).

De cada animal muestreado, se extrajo con jeringa estéril un volumen de sangre aproximado de 3 mL en tubo Vacutainers® sin anticoagulante, dejándose luego coagular a temperatura ambiente por un tiempo no mayor de 30 min. Una vez hecha la coagulación, se procedió con una varilla limpia a desprender el coagulo de las paredes del tubo y a centrifugarlo a 2.500 rpm por 20 min. Finalmente obtenido el suero sanguíneo este fue transferido a un tubo Eppendorf debidamente identificado para almacenarlo en frio a -20°C, hasta su posterior análisis (Ruiz *et al.*, 1995).

Para la determinación cualitativa de anticuerpos *H. pylori* se aplico la prueba rápida *H- pylori* de Acu-chek® de uso humano, basada en una técnica de inmunoensayo cromatográfica tipo sándwich y que cuenta con una sensibilidad relativa de 93%, una especificidad relativa de 89,2% y una exactitud de 90,7%. El protocolo de trabajo empleado para el procesamiento

de las muestras fue el sugerido por el fabricante y se describe a continuación:

Inicialmente, el dispositivo contenido en el estuche comercial se dejo equilibrar a temperatura ambiente y se ubico en una superficie limpia y plana para poder ser utilizado, posteriormente se agrego en el agujero de la tarjeta 100 μ l de la muestra serológica (Figura 3).

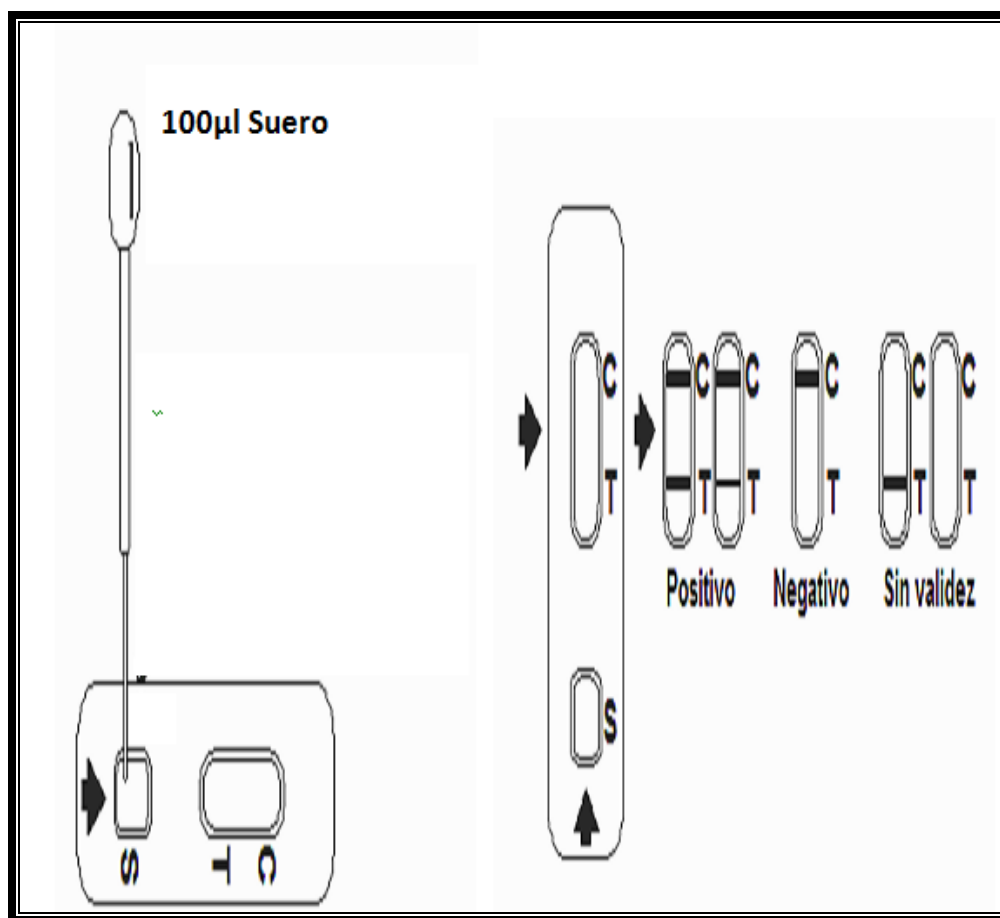


Figura 3. Pasos a seguir en el procesamiento de la muestras.

Fuente: Protocolo de estuche comercial Acu- chek®

Una vez agregada la muestra se dejó transcurrir 10 min para realizar la lectura de los resultados, que se interpretaron:

Positivo: Cuando aparecen dos bandas de color. Una en la región de prueba (T) y otra en la región de control (C). (Figura 4)

Negativo: Cuando solo aparece una banda de color en la región de control (C). (Figura 5)

Es importante señalar que la intensidad del color de la banda en la región de prueba (T) puede variar dependiendo de la concentración de anticuerpos anti *H. pylori* presentes en la muestra. Por lo tanto, cualquier sombra en dicha región debe ser considerada positiva. La banda en la región de control (C) se puede observar más intensa dado que la concentración es superior a la concentración de la muestra. Este control (C) apareció en todas las tarjetas procesadas indicando que la muestra ha sido absorbida en la tarjeta, la cual ocurre por capilaridad y que la reactividad del anticuerpo en la membrana todavía es alta.

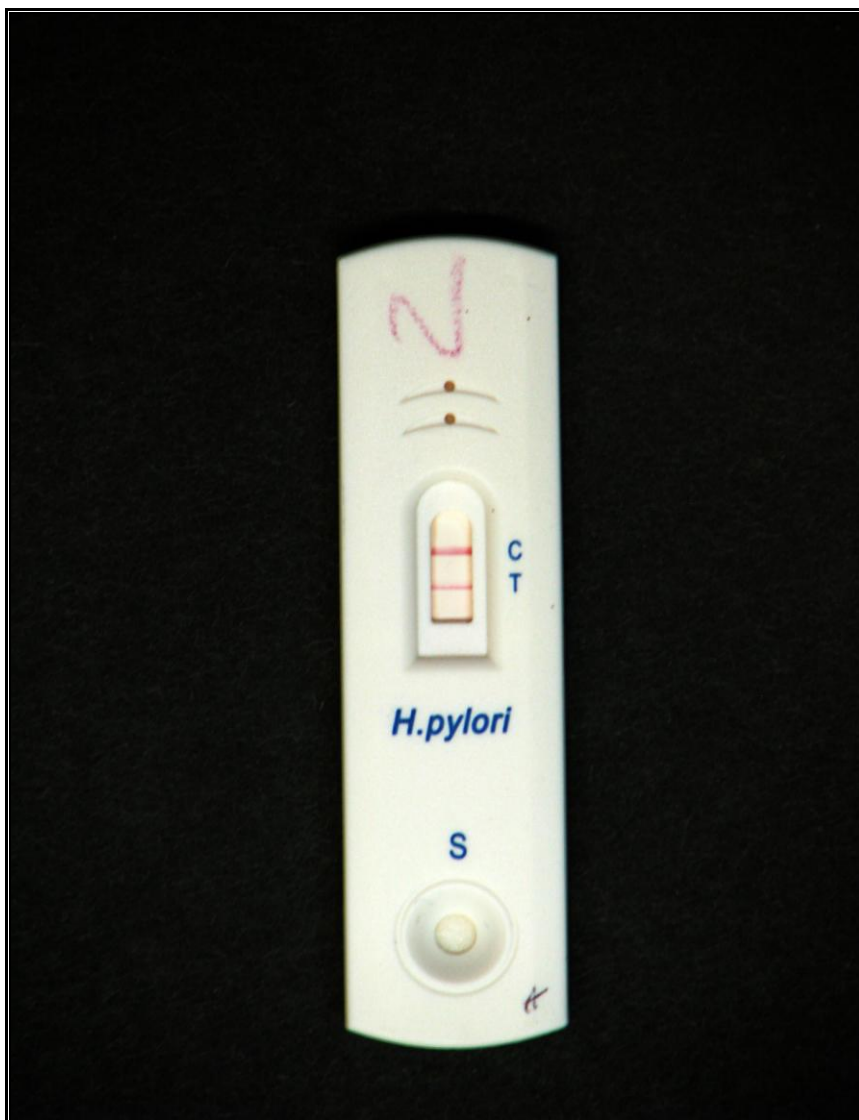


Figura 4. Dispositivo inmunocromatográfico con reacción positiva para anticuerpos anti-*Helicobacter pylori*. Se puede observar en el dispositivo inmunocromatográfico la formación de dos líneas de color fucsia, una en el área de control (C), y otra en el área de Prueba (T), indicando un resultado positivo para un suero que contiene anticuerpos anti-*H. pylori*.

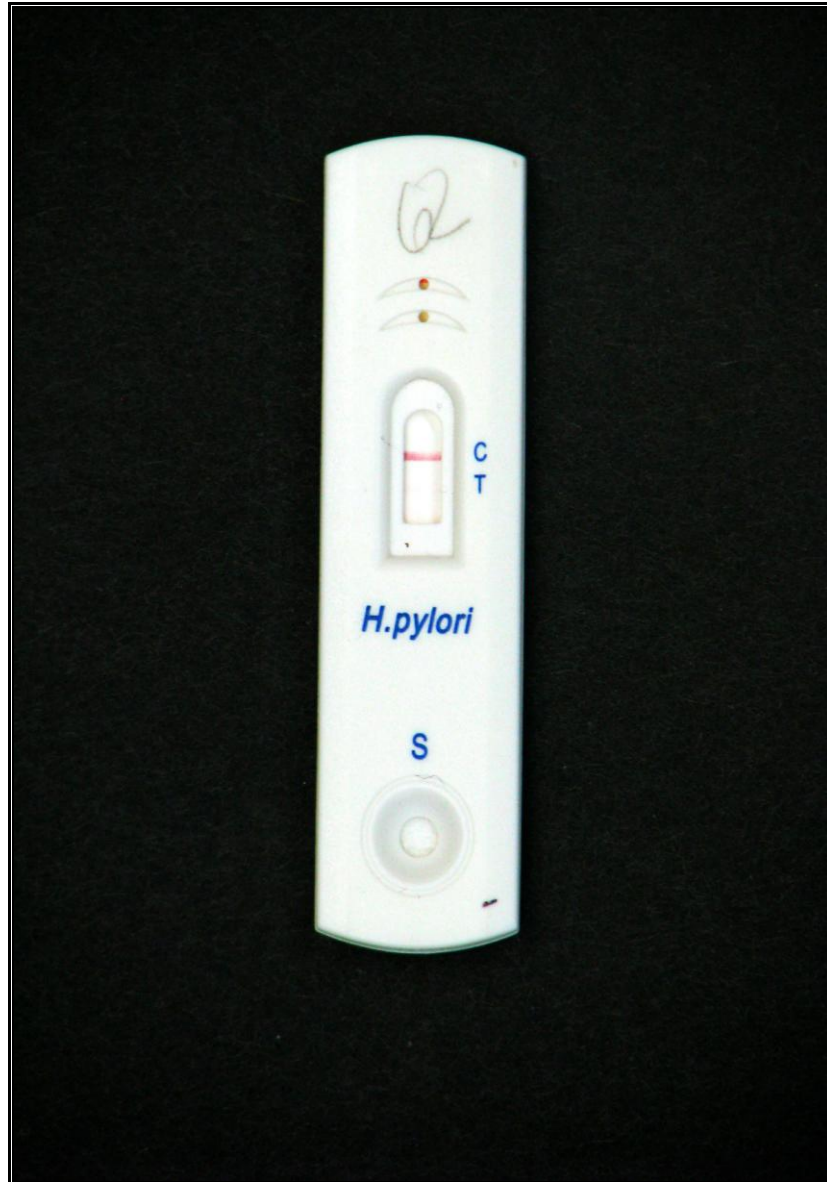


Figura 5. Dispositivo inmunocromatográfico con reacción negativa para anticuerpos anti-*Helicobacter pylori*. Se puede observar en el dispositivo inmunocromatográfico la formación de solo una línea de color fucsia, una en el área de control (C), indicando un resultado negativo para un suero que no contiene anticuerpos anti-*H. pylori*.

6.2. Determinación de la Seroprevalencia de *Helicobacter pylori*.

Una vez concluido el procesamiento de las muestras, se realizó una base de datos digitalizada en donde se registraron los resultados obtenidos por la técnica de inmunoensayo de Acu-chek® y la información recopilada en la encuesta.

De acuerdo al número de animales positivos se determinó la prevalencia de la bacteria. Entendiéndose como prevalencia, la proporción de casos de una cierta enfermedad en una población delimitada, en un tiempo determinado, según se muestra en la siguiente fórmula (OPS, 2002).

$$\text{Seroprevalencia} = \frac{\text{Total de casos de una enfermedad en un tiempo dado} \times 100}{\text{Población muestreada}}$$

6.3. Establecimiento de las asociaciones de los seroreactores positivos con las signologías gastrointestinales.

Una vez recolectada la información necesaria, se procedió a realizar el análisis estadístico, en la cual se elaboraron tablas de contingencias o cuadros de doble entrada donde se distribuyen las frecuencias de la presentación de *H. pylori*, en función de las signologías gastrointestinales.

Se realizó la codificación de las variables para llevar a cabo el análisis estadístico y cuyos valores tomados se muestran en el Cuadro 1. En el mismo para medir el grado de asociación, se empleó el Coeficiente Phi de contingencia aplicable para cuando las tablas de contingencia son entre variables cualitativas, y para los casos en donde alguna casilla presente menos de 5 observaciones. Esta prueba mide la fuerza de asociación y toma

valores entre 0 y 1, mientras más cercano este el valor de 0, menor es la fuerza de asociación entre las variables y por el contrario, la mayor fuerza de asociación para phi lo determinan valores cercanos a 1.

Cuadro 1. Codificación de las variables consideradas en el estudio sobre seroprevalencia de *H. pylori* en caninos y su asociación con signologías gastrointestinales en pacientes atendidos en el Hospital Veterinario “Dr. Daniel Cabello Mariani”, FCV-UCV. Aragua

Variables	Valores
Anitiecuerpo anti- <i>Helicobacter pylori</i> (Ac` Hp)	Positivo = 1 ; Negativo =2
Diarrea	Si = 1 ; No = 2
Vomito	Si = 1 ; No = 2
Melena	Si = 1 ; No = 2
Hematemesis	Si = 1 ; No = 2

El análisis estadístico de significación para evaluar la fuerza de asociación a un nivel de confianza de 95% (α 0,05), se realizó a través de la Prueba de Hipótesis Exacta de Fisher con base en que en la gran mayoría de los casos las frecuencias esperadas fueran menores de 5.

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

1. Detección de anticuerpos anti-*Helicobacter pylori* en caninos.

En el Hospital Veterinario “Dr. Daniel Cabello Mariani” de la FCV- UCV campus Maracay, se muestrearon 96 caninos mayores de 1 año de diversas razas y edades provenientes de diferentes zonas del país durante el periodo comprendido entre Febrero – Septiembre 2010, con la finalidad de determinar la seroprevalencia de *H. pylori* en caninos y su asociación con signologías gastrointestinales.

Las muestras serológicas fueron analizadas mediante la técnica de inmunoensayo cromatográfica Acu-chek® y se detecto que en un total de 96 muestras serologicas, 72 fueron positivas para anticuerpos anti- *H. pylori* (Ac`s Hp) y 24 fueron negativas, según se observa en el Grafico 1.

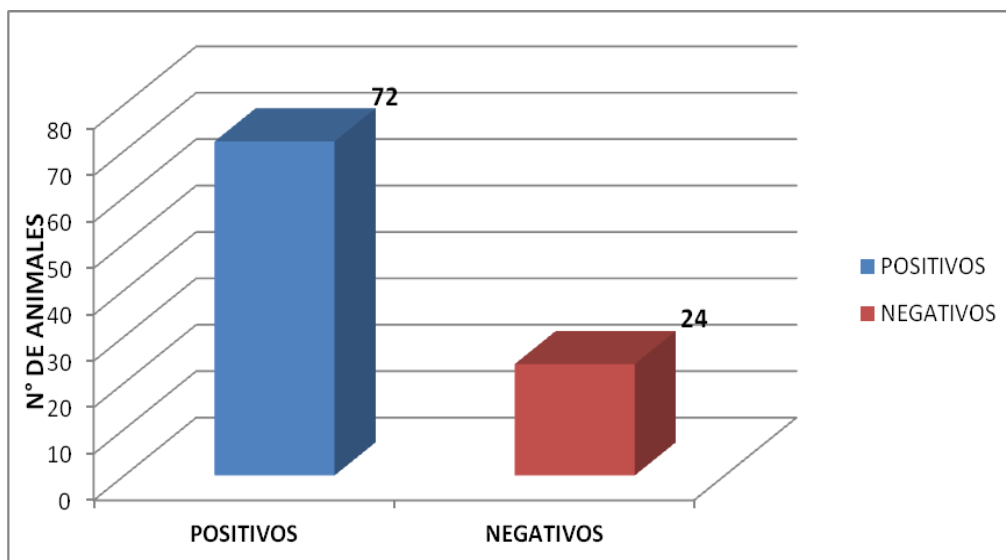


Gráfico 1. Resultados de las muestras serologicas para la deteccion de Anticuerpos anti- *H. pylori* (Ac`s Hp) a traves de la prueba inmunocromatografica.

Estos resultados fueron similares a los encontrados por Souza *et al.* (2004), en un estudio realizado en el Bioterio Central de la Universidad Estadual de Sao Paulo- Brazil, en donde un total de 109 caninos muestreados, 86 fueron positivos frente anticuerpos anti *H. pylori* , mediante la aplicación de la misma prueba serológica de inmunocromatografía usada en nuestro estudio.

Por otra parte, en la investigación realizada por Polanco *et al.* (2006) con perros del Bioterio de la FCV-UCV para la búsqueda de *Helicobacter spp.* por serologia, reportaron que solo 2 muestras fueron positivas de un total de 81 sueros analizados para la detección de anticuerpos. Ellos utilizaron dos pruebas diagnosticas, una fue para revelar anticuerpos totales y otra para anticuerpos específicos de IgA, IgM y IgG.

La técnica de inmunoensayo cromatografico Acu-chek® empleada en esta investigación es considerada como un metodo no invasivo y sencillo por producir la menor molestia tanto al paciente como a su propietario. Es un metodo rapido de un solo paso que detecta anticuerpos específicos anti- *H. pilory* y nos indica que el animal estuvo en un momento dado expuesto a esta especie bacteriana, no siendo de utilidad para el seguimiento de la infección en pacientes, debido a que los titulos de anticuerpos declinan aproximadamente hasta los 12 meses e incluso varios años despues del tratamiento (Suton,1998).

El diagnóstico definitivo del *Helicobacter spp.* en los animales, seria en base a la detección de la bacteria en la mucosa gastrica mediante analisis histologicos, mientras que la diferenciacion entre especies como *H. heilmanni*, *H. felis* y *H. pylori* se pudiera realizar a traves de microscopia electrónica y cultivo bacteriologico. La desventaja de estas tecnicas

diagnosticas es que son clasificadas como pruebas invasivas debido a que requiere de la sedacion obligatoria del animal por un clinico veterinario experto para la toma de la biopsia por endoscopia. (Happonenn *et al.*, 1996; PL, Jacobson *et al.*, 1999).

2. Determinación de la seroprevalencia de *Helicobacter pylori*.

Con el total de 72 muestras serológicas positivas a anticuerpos anti- *H. pylori*, se procedió al cálculo de la seroprevalencia, mediante la siguiente fórmula:

$$\text{Seroprevalencia} = \frac{72}{96} \times 100 = 75\%$$

De manera que la seroprevalencia en caninos para anticuerpos anti- *H. pylori* determinada por esta investigación fue de 75%, como se puede observar en el Grafico 2.

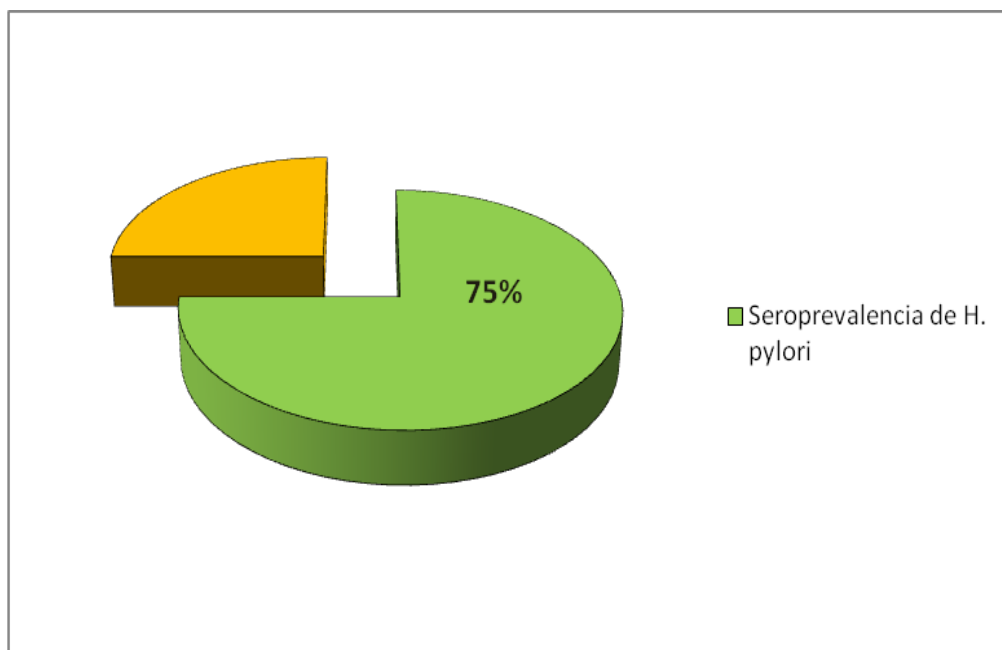


Grafico 2. Seroprevalencia del *H. pylori*. (n=96)

Cabe destacar, que este estudio brinda uno de los primeros reportes de seroprevalencia de *H. pylori* en Venezuela, contribuyendo este, con futuras líneas de investigación que involucren a este agente bacteriano y que hasta ahora ha carecido de información documentada.

Aun se desconocen claramente muchos tópicos de patogenia relacionado a esta especie bacteriana para lo cual se debería seguir adoptando al canino como modelo de investigación.

La seroprevalencia hallada en esta investigación de 75% resultó alta, la cual coincide con la seroprevalencia determinada en investigaciones realizadas por Souza *et al.* (2004), en el estado de Sao Paulo, y el realizado por Ogawa *et al.* (2005), quienes obtuvieron una seroprevalencia del 78,8% y 79% respectivamente y en la cual implementaron como técnica diagnósticas para *H. pylori* la prueba de inmunoensayo inmunocromatográfica.

Además concuerda en cierta forma, con la prevalencia de 64,3% encontrada para *Helicobacter spp.* por Rodríguez *et al.* (2003), en la ciudad de Madrid, a través del análisis de la prueba de ureasa y con la investigada por Hwang *et al.* (2004), en Corea que obtuvieron una prevalencia de 78,4%. En ambas investigaciones aplicaron métodos de diagnóstico invasivos como son el análisis histopatológicos y la prueba de ureasa.

3. Establecimiento de las asociaciones de los seroreactores positivos con las signologías gastrointestinales.

Para establecer las asociaciones de los seroreactores, con las signologías gastrointestinales, se realizaron tablas de contingencia para cada

una de las variables, y cuyos valores se representan de forma resumida en el Grafico 3, con el fin de conocer la distribución de las frecuencias obtenidas para cada una de las signologías gastrointestinales presente dentro de los seroreactores positivos y negativos.

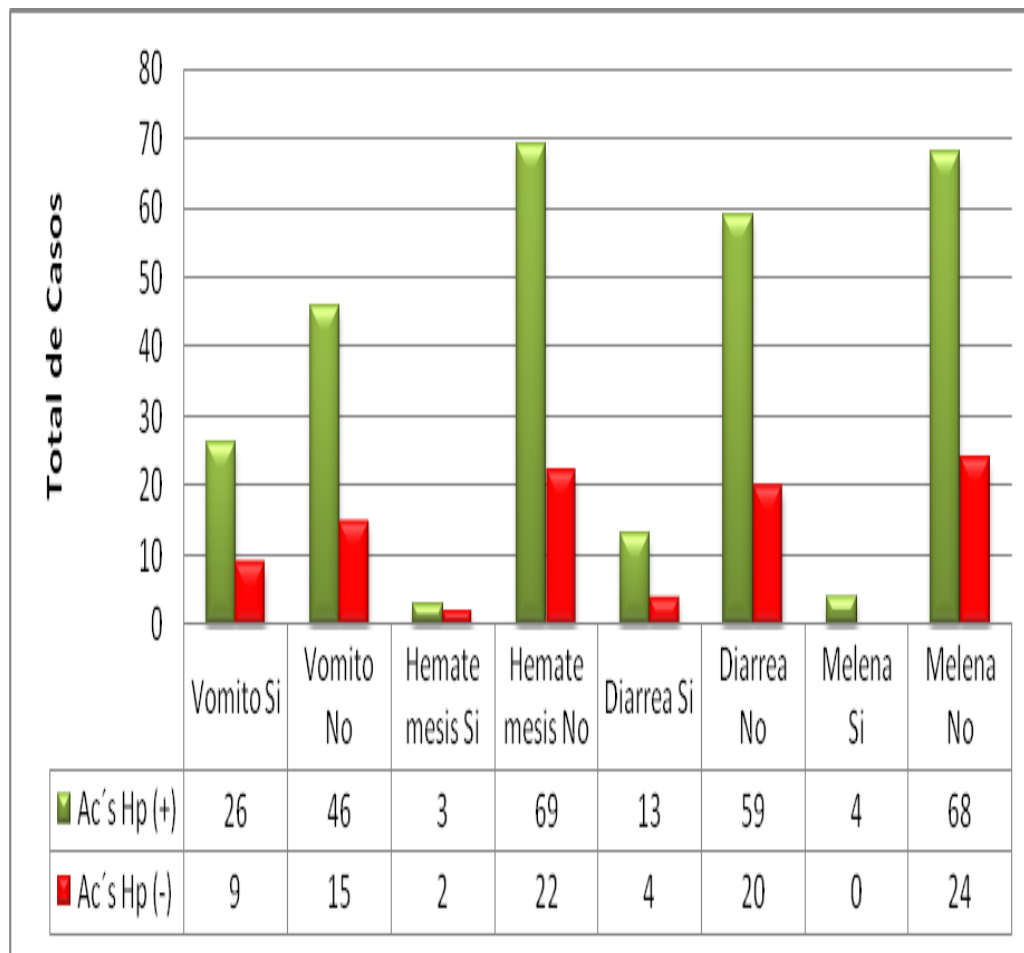


Grafico 3. Resumen de las frecuencias presentada por los seroreactores positivos y negativos obtenidas en relacion a cada una de las signologias gastrointestinales de vomito, hematemesis, diarrea y melena.

Al realizar el análisis de estos datos, se encontró que de las 72 muestras seropositivas, el 36,1% (26) presentaron vomito, 18,1% (13) diarrea, 5,6% (4) melena y en tan solo el 4,2% (3) se presentó la variable hematemesis.

En el Grafico 4 se representa la distribución de los seroreactores positivos en relación a cada una de las signologías gastrointestinales estudiadas.

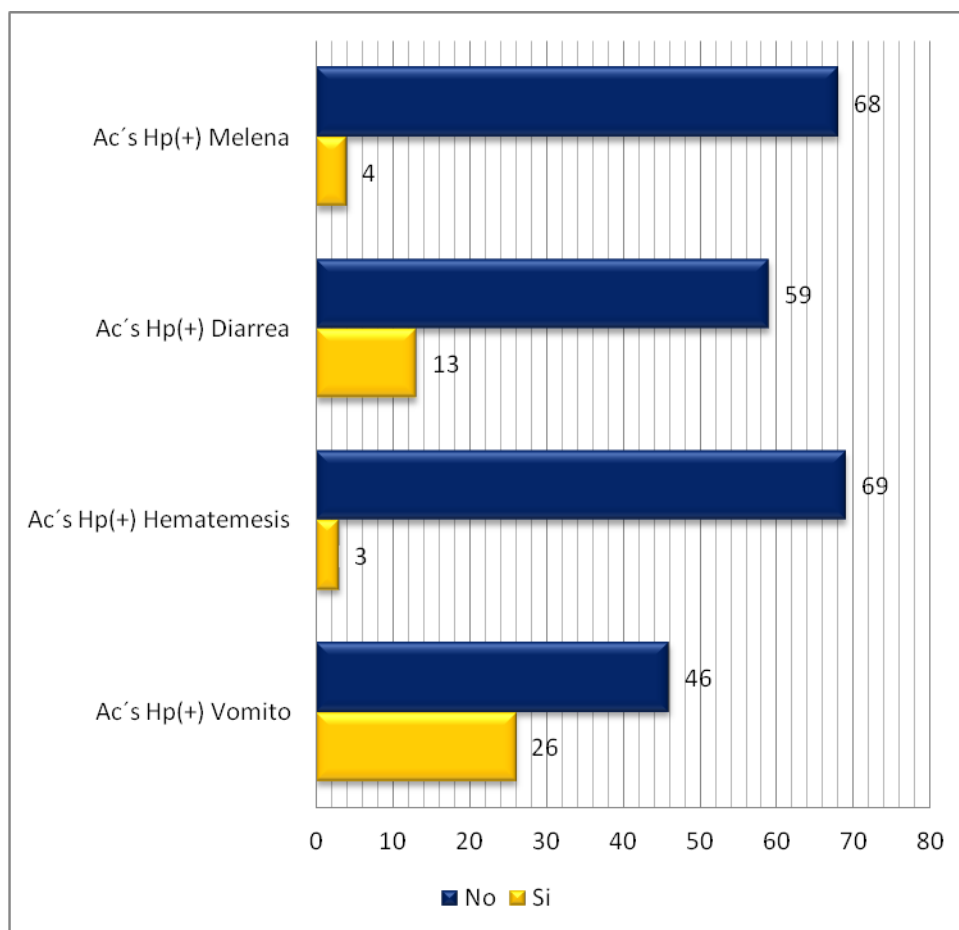


Grafico 4. Distribución de los seroreactores positivos en relación a cada una de las signologías gastrointestinales estudiadas.

En el Grafico 5 se puede observar dentro de los seroreactores positivos ($n= 72$) para cada variable, la formación de dos grandes grupos aquellos caninos que presentaron y los que no presentaron las signologías gastrointestinales estudiadas. Se observa claramente que en todas las variables, las cifras más altas están representadas por los seroreactores

positivos que no presentaron las signologías estudiadas: vomito (46), diarrea (59), melena (68) y hematemesis (69).

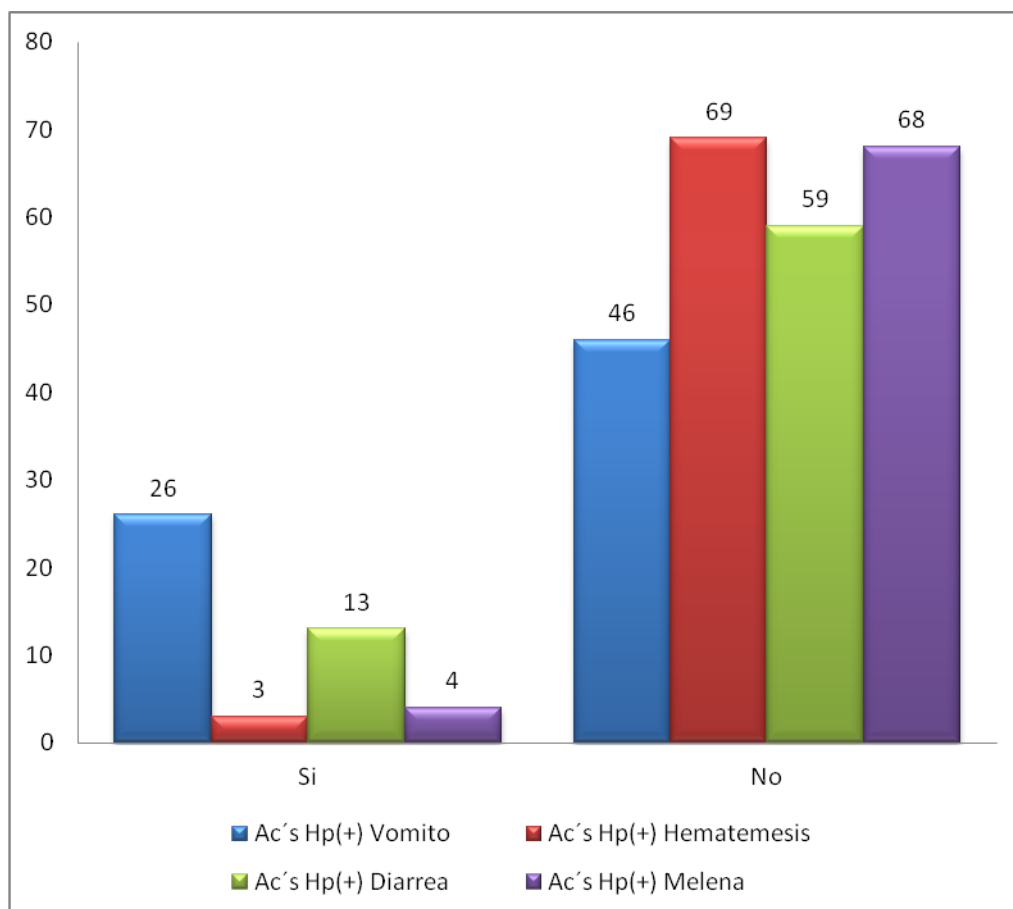


Grafico 5. Distribucion de seroreactores positivos en dos grandes grupos, los que presentaron las signologías y aquellos que no la presentaron.

Posteriormente se realizó la prueba exacta de Phi y de Fisher para determinar las posibles asociaciones entre las variables. Se encontró que la fuerza de asociación entre la seroprevalencia de *H. pylori* y las signologías vomito (-0,0125) y hematemesis (-0,0812) resultaron perfectamente negativas. Igualmente se determinó que no hubo relaciones estadísticamente significativas ($p > 0,05$) entre la presentación de vomito ($p=1$), hematemesis ($p=0,5961$) y la seroprevalencia de *H. pylori*.

Para las variables diarrea y melena se encontró una fuerza de asociación muy baja de 0,0158 y 0,1204 respectivamente, no encontrándose relaciones estadísticamente significativas ($p>0,05$) entre estas variables y la seroprevalencia de *H. pylori*. En el Cuadro 2 se expresan estos resultados

Cuadro 2. Resumen de resultados obtenidos a las pruebas de asociación exacta de Phi y Fisher.

Variables	Coeficiente Phi	Prob.
Vomito	-0,0125	1
Hematemesis	-0,0812	0,5961
Diarrea	0,0158	0,2418
Melena	0,1204	0,5691

Los resultados obtenidos en esta investigación, concuerdan con los de Rodríguez *et al.* (2003), en donde no encontraron estadísticamente diferencias significativas entre animales con o sin enfermedades digestivas y la prevalencia de *Helicobacter spp.*

Así mismo, también coinciden con las investigaciones realizadas por Hernández *et al.* (2007), quienes no encontraron relaciones estadísticamente significativas con respecto a la presentación de algún síntoma digestivo, presencia de gastritis y el *Helicobacter spp.*

Es comun que se presenten en caninos diferentes cuadros clinicos: asintomáticos positivos a *H. pylori*, sintomáticos positivos, asintomáticos negativos a *H. pylori*, y los que son sintomáticos pero negativos. A todas estas se pudiera inferir, que los animales que resultan asintomaticos pero positivos a *H. pylori* fueron tratados alguna vez con medicamentos como antibióticos y protectores gástricos.

Estos casos colocan al médico veterinario en el dilema de tratar o no a los animales positivos determinados por la técnica serológica y que no presenten signos clínicos, o bien a los negativos a *H. pylori* con signos clínicos y además atribuirle o no a la bacteria la totalidad de los signos en los pacientes positivos usando solo este tipo de prueba diagnóstica.

Por otra parte, hay que considerar el potencial zoonótico que esta bacteria pudiera tener hacia los humanos, de ahí la importancia que el médico veterinario deba orientar al propietario en el adecuado manejo de sus mascotas y el conocimiento de las enfermedades que pueda padecer como es la helicobacteriosis canina aun cuando no tenga signologías gastrointestinales.

V. CONCLUSIONES

1. Se detectaron en un total de 96 muestras sanguíneas procesadas, 72 sueros positivos para anticuerpos específicos anti- *H. pylori* y 24 sueros negativos, aplicando la técnica inmunocromatográfica de Acuchek[®] como un método de diagnóstico no invasivo, rápido, sencillo y cualitativo.
2. Se determinó una seroprevalencia para *H. pylori* de 75 % en caninos mayores de 1 año muestreados en el Hospital Veterinario “Dr. Daniel Cabello Mariani”, de la Facultad de Ciencias Veterinarias -UCV.
3. Se estableció que no existen asociaciones estadísticamente significativas entre la seroprevalencia de *H. pylori* y las variables analizadas de signologías gastrointestinales: vomito, diarrea, hematemesis y melena.

VI. RECOMENDACIONES

1. Establecer en futuras investigaciones criterios de inclusión con: edad, sexo, raza, estatus socioeconómico, entre otras, que puedan aportar mayor información sobre la seroprevalencia de *H. pylori* en caninos. Además de incluir en las encuestas realizadas características que puedan dilucidar si el paciente alguna vez recibió tratamiento que pudiesen haber resuelto el cuadro clínico que ocasiona el *Helicobacter spp.*
2. Realizar estudios para la estandarización y validación de una técnica serológica específica para ser usada en caninos.
3. Implementar otras pruebas diagnósticas de tipo invasiva como: la prueba de ureasa, histopatología, citología por cepillo y PCR que son altamente precisas para detectar la infección a nivel gástrico por *Helicobacter spp.*, he incluir otras pruebas de laboratorio como por ejemplo sangre oculta en heces que puedan complementar futuras investigaciones.
4. Por último sería realizarles pruebas bacteriológicas diferenciales a los caninos que asistan a consulta por presentar signologías gastrointestinales, en muestras biológicas tomadas *in situ* y de este modo conocer si la causa de estos signos, son generadas por *Helicobacter spp* o por otros agentes etiológicos.

VII. REFERENCIAS

Arias, F.G. (2006). El proyecto de Investigación: Introducción a la metodología científica (5ª Ed.).(Ed. Episteme), pp.21-131 . Caracas.

Blaser, M.J. (2005). An endangered species in the stomach. *Scientific American*. 292 (2): 38–45.

Bode, G., Rothenbacher ,D. y Brenner , A. (1998). Pets are not risk factor for *Helicobacter pylori* infection in young children. Germany. 17, 909-912.

Bliss, C., Golenblock, D., Kates, S., Lemevsky J. (1998). *Helicobacter pylori* lipopolysaccharide binds to CD14 and stimulates release of interleukin-8, epithelial neutrophil-activating peptide 78, and monocyte chemotacti protein 1 by human monocytes. *Infect Immun*. 66: 5357-5363.

Canton, R., Boixeda, D., de Rafael L. y Baquero, F. (1995). Factores de virulencia y mecanismos de patogenicidad de *Helicobacter pylori*. *Gastroenterol Hepatol*. 18, (2): 15-22.

Chiocchetti, R. y Gualtieri, M. (1999). Occurrence and characterization of gastric *Helicobacter spp.* in naturally infected dogs. *Vet Microbiol*. 70, 239-250.

Covacci, A.,Telford, J., Giudice, G. del., Parsonnet, J. y Rappuoli R. (1999). *Helicobacter pylori* virulence and gastric geography. *Science*. 284, (5418): 1328-1333.

Cover, T.L. (1997). Genetic diversity in *Helicobacter pylori*. *Helicobacter*. 2 , (2): 108-109.

De Bernard, M., Cappon, A., Pancotto, L., Ruggiero, P., Rivera, J., Del Giudice, G., Montecucco, M. (2005). The *Helicobacter pylori* VacA cytotoxin activates RBL-2H3 cells by inducing cytosolic calcium oscillations. *Cell Microbiol.* 7 (2): 191-198.

De Groote D., Haesebrouck F., Van Doorn L., Vandamme P. y Ducatelle R.(2001). Evaluation of a group-specific 16s ribosomal DNA-based PCR for detection of *Helicobacter bizzozeronii*, *Helicobacter felis*, and *Helicobacter salomonis* in fresh and paraffin-embedded gastric biopsy specimens. *J Clin Microbiol.* 39, 1197-1199.

De la Cruz del Valle, A. y Casamayor, Z. (2008). *Helicobacter pylori*. Prevalencia y asociación con enfermedades. Consultado 20 de Abril de 2010 en: digestivas.[http://www.portalesmedicos.com/publicaciones/articles/959/1/ Helicobacter-pylori.Prevalencia-y-asociacion-con-enfermedades-digestivas.html](http://www.portalesmedicos.com/publicaciones/articles/959/1/Helicobacter-pylori.Prevalencia-y-asociacion-con-enfermedades-digestivas.html).

Elizalde, J. y Panés, J. (1998). Nuevos conceptos sobre los mecanismos patogénicos de la infección por *Helicobacter pylori*. *Gastroenterol Hepatol.* 21, (1): 2-7.

Elizalde, J.I. (2004). *Helicobacter pylori* y enfermedades relacionadas. Patogenia de la infección por *Helicobacter pylori*. *GH continuada*; 3 (6): 256-261.

Esteves, M., Schrenzel, M., Marini, R., Taylor, N., Xu, S. y Hagen, S. (2000). *Helicobacter pylori* gastritis in cats with long- term natural infection as a model of human disease. Am J Pathol. 156, 709-721.

Finlay, B. y Falkow S. (1989). Common themes in microbial pathogenicity. Microbiol . Rev. 53: 210-30.

Fochesatto, N., Guayán, V. y Moran, E. (2004). *Helicobacter pylori* y enfermedad gastroduodenal bases para el diagnóstico y tratamiento. Revista de Posgrado de la VIa Cátedra de Medicina. 138:Pág. 11-17. . Consultado 15 de Septiembre de 2009 en: <http://med.unne.edu.ar/revista/revista138/helypylori.htm>

Fox, J. G. (1995). The expanding genus of *Helicobacter* : pathogenic and zoonotic potential. Seminar Gastrointestinal Disease. 8, 124-141.

Fox, J.G. (2002). The non-*H pylori Helicobacters*: their expanding roles in gastrointestinal and systemic diseases. Seminar Gastrointestinal Disease. 50, 273-283.

Gisbert, J.P. (2000). Revisión crítica de los métodos diagnósticos de infección por *Helicobacter pylori*. Gastroenterol Hepatol. 23, 135-143.

Gomez, L., Orozco, S. y Salas, S. (2006). Helicobacteriosis canina y felina. Veterinaria México. 37(1): 97-116.

Goodwin, C. y Worsley, B. (1993). Microbiology of *Helicobacter pylori*. Gastroenterol Clin North Am. 22 (1): 5-19.

Hand, L., Fox, J., Dewhirs, F., Fraser, G., Paster, B., Yan, L., Rozmiarek, H., Rufo, R. y Stalis, I. (1994). *Helicobacter pylori* isolated from domestic cat: public health implications. Infection and Immunity. 62, 2367-2374.

Happonen, I., Saari, S., Castren, L., Tyni, O., Hänninen, M. y Westermarck, E. (1996). Occurrence and topographical mapping of gastric helicobacter-like organisms and their association with histological changes in apparently healthy dogs and cat. Zentralbl veterinarmed A. 43(5): 305-315.

Happonen, I., Linden, J., Saari, S., Karjalainen, M. y Hänninen ML. (1998). Detection and effects of *Helicobacters* in healthy dogs and dogs with signs of gastritis. J. Am. Vet. Med. Assoc. 313, 137-140.

Happonen, I., Linden, J. y Westermarck E. (2000). Effect of triple therapy on eradication of canine gastric *Helicobacter* and gastric disease. J Small Anim Pract. 41, 1-6.

Hernandez, C., Gallon, G. y Restrepo, L. (2007). Análisis de biopsias gástricas endoscópicas en caninos: Analysis of canine endoscopic gastric biopsies. Rev Colom Cienc Pecua. 20, (3): 250-259.

Hessey SJ, Spencer J, Wyatt JI. (1990). Bacterial adhesion and disease activity in *Helicobacter*-associated chronic gastritis. Gut. 31:134-8.

Horn J. (2000). The proton-pump inhibitors: similarities and differences. Clin Ther. Mar. 22, (3): 266-80.

Hu, L. y Mobley HLT. (1990). Purification and N-terminal analysis of urease from *Helicobacter pylori*. Infect Immun. 58:992-8.

Hwang, C., Han, H. y Youn Í. A. (2002). Prevalencia y caracterización clínica de la infección gástrica por *Helicobacter* en perros y gatos en Corea. *Journal of Veterinary Science*. 3, (2): 123-133.

Jara, M. (2003). Determinación histopatológica de la presencia de bacterias curvo-espirales tipo *Helicobacter spp.* en estomago, intestinos, hígado y vesícula biliar de perros de la ciudad de Valdivia, Chile. Consultado 15 de Septiembre de 2009 en: [digestivas.http://www.portalesmedicos.com/publicaciones/articles/959/1/Helicobacter-pylori-Prevalencia-y-asociacion-con-enfermedades-digestivas.html](http://www.portalesmedicos.com/publicaciones/articles/959/1/Helicobacter-pylori-Prevalencia-y-asociacion-con-enfermedades-digestivas.html).

Javala, K., On, S., Vandamme, P., Happonen, I., Sukura, A. y Hänninen, M. (1998). Isolation and Identification of *Helicobacter spp.* from canine and feline gastric mucosa. *Applied and Environmental Microbiology*. 64, (10): 3998 - 4006.

Labigne, A., Cussac, V., Courcoux, P. (1991). Shuttle cloning and nucleotide sequences of *Helicobacter pylori* genes responsible for urease activity. *J Bacteriol*. 173:1920- 31.

Langenberg, W., Raws, E., Odubier, J. y Tytgat, G. (1990). Patient to patient transmission of *Campylobacter pylori* infection by fiberoptic gastroduodenoscopy biopsy. *J Infect*. 161, 507-11.

Lindo, Lyn-Sue. (1999). Seroepidemiology of *Helicobacter pylori* infection. 4 (12): 862 – 6.

Marshall, B. (1983). Unidentified curved bacilli on gastric epithelium in active chronic gastritis. *The Lancet*. i: 1273-1275.

Marshall, B. (2002). *Helicobacter pylori: 20 years on*. Clinical Medicine. 2, (2): 147- 152.

Mobley HLT. (1996). The role of *Helicobacter pylori* urease in the pathogenesis of gastritis and peptic ulceration. Aliment Pharmacol Ther. 10:57 64.

Nuñez, M., Scialom, V., Silva, D., Ventura, Y., Zampella, V., Marcano, M. (2006). Modelo teorico para una vacuna efectiva contra la infección por *Helicobacter pylori*. Academia Biomedica digital. Facultad de Medicina. Universidad Central de Venezuela. N° 28. Consultado 10 de Enero de 2012 en: <http://vitae.ucv.ve/?module=articulo&rv=12&n=169&m=4&e=357>

Ogawa, T., Amano, H., Tanizawa, K. Okawa, T., Oyama, Y. (2005). La prevalencia de anticuerpos contra el *Helicobacter* en perros utilizando kits de pruebas de *Helicobacter pylori*. Journal of the Japan Veterinary Medical Association. 58(2):117-120.

OPS (Organizacion Panamericana de la Salud). (2002). Modulo de principios de Epidemiologia para el control de enfermedades. Medición de las condiciones de salud y enfermedad en la población. Unidad 3. 2^a ed. Washington D. C. p.81.

Piccolomini, R., Di Bonaventura G., Neri, A., Di Girolamo, G. y Catamo, P. (1999). Usefulness of Leifson staining in diagnosis of *Helicobacter pylori* infection. J. Clin. Microbiol. 37:199-201.

PL, Jacobson RH, Valentine BH. (1999). Serological discrimination of dogs infected with gastric *Helicobacter* spp and uninfected dogs. J Clin Microbiol. 37:1280-1287.

Polanco, R., Bermúdez, V., Vivas, I., Saldivia, C., Saldivia de V. y Arevalo, L.(2006). Lesiones gástricas asociadas a la presencia de bacterias del genero *Helicobacter* en caninos. Rev. Cient. 16, (6): 585-592.

Queiróz, D., Rocha, G., Mendes, E., Lage, P., Carvalho, A. y Barbosa, A. (1990). A spiral microorganism in the stomach of pigs. Veterinary Microbiology. 24, 199-204.

Quintero, E. y Salido, E. (1998). Influencia de *Helicobacter pylori* del huésped en la patogenia de la úlcera péptica. Gastroenterol Hepatol. 21 (supl 1): 8-14.

Rhea, M. (1999). Enfermedades del Estomago. En: Clínica de pequeños animales. 3^a ed. (Ed. C.C Jenkins y R. DeNovo), pp. 334-345. España: Harcourt Brace.

Rivas T. y Hernández F. (2000). *Helicobacter pylori*: Factores de virulencia, patología y diagnóstico. Rev Biomed. 11:187-205.

Rodríguez, F., García, M., Delgado J. y Sainz A. (2003). Estudio de prevalencia de *Helicobacter spp.* en 70 perros mediante test de ureasa. Clínica de pequeños animales. 2: 101-106.

Ruiz, S., Coy, P., Pellicer, M. y Ramírez, A. (1995). Manual de prácticas de Fisiología animal Veterinaria. [Libro en línea] (3^a ed.). Murcia: Tipografía San Francisco. Consultado 25 de febrero de 2010 en: http://books.google.co.ve/books?id=KoXaJn3hly4C&pg=PA53&dq=toma+de+muestra+sanguinea++ruiz+1995&hl=es&ei=2UPITrj8BYHv0gGn6fjGBQ&sa=X&oi=book_result&ct=result&resnum=6&sqi=2&ved=0CEsQ6AEwBQ#v=onepage&q&f=false.

Scanziani E, Simpson KW, Monestiroll S, Soldati S, Strauss-Ayali D, Del Piero F. (2001). Histological and Immunohistochemical detection of different *Helicobacter* species in the gastric mucosa of cats. J Vet Diagn Invest. 13:3-12.

Seidel KE, Stolte M, Lehn N, Bauer J.(1999). Antibodies against *Helicobacter felis* in sera of cats and dogs. Zentralbl Veterinarmed. 46:181-188.

Simpson, K. y Burrows, C. (1997). Gastritis, Ulceras y Helicobacterias en Humanos, Perros y gatos. Consultado 11 de Marzo de 2010 en: http://www.vet-uy.com/articulos/artic_can/100/0065/can065.htm.

Simpson, K., Strauss-Ayali, D., Scanziani, E., Straubinger, R., McDonough P. y Straubinger A.F. (2000). *Helicobacter felis* infection is associated with lymphoid follicular hyperplasia and mild gastritis but normal gastric secretory function in cats. Infect Immun. 68,779-790.

Serdar, K., Haziroglu, R., Akan, M. y Kabakci, N. (2002). The Prevalence, colonization sites and Pathological effects of Gastric *Helicobacters* in Dogs. Turk J Vet Anim Sci 26, 645-351.

Stoffel, M., Friess, A., Burnens, A., Schmassmann, A. y Neiger R. (2000). Distinction of gastric *Helicobacter spp.* in humans and domestic pets by scanning electron microscopy. Helicobacter . 5, 232-239.

Souza M. De, Rodrigues M., Saad-Hossne, S. y Naresse L. (2004). Prevalencia de *Helicobacter* em cães oriundos do biotério central da Universidade Estadual de São Paulo- Botucatu. 19, (5): 565-570 Consultado 03 de febrero de 2009 en:: [<http://dx.doi.org/10.1590/S0102-86502004000500017>].

Sutton, F. (1998). Diagnosis of *H. pylori* Infection. *Infect Med.* 15(5): 331-336

Strauss-Ayali, D. y Simpson, K. (1999). Gastric *Helicobacter* infection in dogs. *Vet Clin North Am.* 29, 397-411.

Tams, T.R. (2005). Enfermedades del Estomago. En: Manual de gastroenterología en animales pequeños. 2ª ed. (Ed. R. C. DeNovo), pp. 163-199. Buenos Aires: Inter Médica.

Thibaut, J., Paz, V., Paredes, E. y Santiago, E. (2007). Determinación de la presencia de *Helicobacter spp.* en perros, mediante biopsia gástrica obtenida por endoscopia. *Revista Científica.* 17, (3): 217-225.

Yoshiyama, H. y Nakazawa T. (2000). Unique mechanism of *Helicobacter pylori* for colonizing the gastric mucus. *Microb Infect.* 2, 55-60

Apéndice

Tesis de Maestría

**SEROPREVALENCIA DE *Helicobacter pylori* EN CANINOS Y SU ASOCIACIÓN
CON SIGNOLOGIAS GASTROINTESTINALES EN PACIENTES ATENDIDOS EN
EL HOSPITAL VETERINARIO “Dr. DANIEL CABELLO MARIANI”, FCV-UCV
ARAGUA.**

MV. Cohinta Perdomo

ACTA DE CONSENTIMIENTO DEL PROPIETARIO

Por medio de la presente yo _____
portador (a) de la cedula de identidad N° _____ doy mi
consentimiento a la MV. Cohinta Perdomo quien realiza el estudio de investigación
titulado: **SEROPREVALENCIA DE *Helicobacter pylori* EN CANINOS Y SU
ASOCIACIÓN CON SIGNOLOGIAS GASTROINTESTINALES EN PACIENTES
ATENDIDOS EN EL HOSPITAL VETERINARIO “Dr. DANIEL CABELLO
MARIANI”,FCV-UCV ARAGUA**, para que realice la toma de muestra de sangre a mi
canino, que lleva por nombre _____, requerida para el estudio

En este mismo sentido hago constar que estoy de acuerdo con este procedimiento
diagnostico, por no representar ningún riesgo para su salud de mi mascota.

Atentamente.

Firma

Fecha:

Elaborado por MV. Cohinta Perdomo

Tesis de Maestría

**SEROPREVALENCIA DE *Helicobacter pylori* EN CANINOS Y SU ASOCIACIÓN
CON SIGNOLOGÍAS GASTROINTESTINALES EN PACIENTES ATENDIDOS EN
EL HOSPITAL VETERINARIO “Dr. DANIEL CABELLO MARIANI”, FCV-UCV
ARAGUA.**

MV. Cohinta Perdomo

ENCUESTA

Fecha: / /

Paciente: _____ **Raza:** _____

Sexo: _____ **Edad:** _____ **Dirección:** _____

_____ **Teléfono:** _____

T° corporal: _____ **FC:** _____ **FR:** _____

Mucosas oral: Pálidas _____ Congestivas _____ Cianóticas _____ Ictéricas _____

Apetito: Normal _____ Aumentado _____ Disminuido _____ Anoréxico _____

Deglución: Normal _____ Anormal _____

Presencia de vómitos: Si _____ No _____ **Presencia de Hematemesis:** Si _____ No _____

Presencia de regurgitación: Si _____ No _____ **Presencia de diarrea:** Si _____ No _____

Presencia de melena: Si _____ No _____

Ha presentado trastornos digestivos anteriormente: _____

Tratamiento previo con AINES: Si _____ No _____ **Nombre:** _____

Dosis _____ **Frecuencia:** _____

Hace cuanto tiempo fue tratado: _____

Condición corporal: 1: _____ 2: _____ 3: _____ 4: _____ 5: _____

EN RELACION AL DUEÑO

Usted ha sido Diagnosticado con *Helicobacter pylori*: Si _____ No _____

Alguien de su familia en estrecho contacto con la mascota: Si _____ No _____

Elaborado por MV. Cohinta Perdomo.