



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

MAESTRÍA EN CIENCIAS DE LA PRODUCCIÓN
Y DE LA SALUD ANIMAL

DETERMINACIÓN DE LA PREVALENCIA DE
HELICOBACTER SPP. EN PERROS DE LA CD. DE MÉXICO,
ESTUDIO HISTOPATOLÓGICO E INMUNOHISTOQUÍMICO

T E S I S

PARA OBTENER EL GRADO DE:
MAESTRO EN CIENCIAS

P R E S E N T A:

MVZ. ERIKA DEL CARMEN VON BORSTEL GARCÍA

TUTOR: DR. GUSTAVO ADOLFO GARCÍA SÁNCHEZ
COMITÉ TUTORAL: DR. PINDARO MARTÍNEZ OSUNA
DR. ENRIQUE ABURTO FERNÁNDEZ



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

DEDICATORIAS

A Dios por permitirme concluir un ciclo más en mi carrera y darme las fuerzas para salir adelante y mostrarme el camino para poder lograrlo.

A mi familia, mis padres Héctor Von Borstel† y Consuelo García Alcocer por darme su amor, consejos y todo su apoyo, yo sé que desde donde estas me sigues apoyando papi.

A mi segunda mamá, mi tía Carmen García Alcocer que siempre ha estado conmigo apoyando cada proyecto y cada decisión que he tomado en mi vida, gracias por todo.

A Daniel Thomas Drinkwater por todo su amor, apoyo incondicional y paciencia desde que nos conocimos, te amo.

A mis perritos Yaky y Chanel† por ser la fuente de inspiración en esta aventura del mundo de la medicina veterinaria, gracias por ayudarme a encontrar el sentido a mi vida.

Y a todos aquellos perros que participaron en este trabajo, gracias de todo corazón.

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Nacional Autónoma de México por todo el apoyo que se me ha brindado desde el día que ingrese, a todos los maestros que sembraron en mí sus conocimientos.

A mi asesor Gustavo Adolfo García Sánchez por ser fuente de inspiración, por ser mi guía, por su paciencia, gracias por ser un maravilloso maestro y gran ser humano.

Al Consejo de Ciencia y Tecnología CONACYT.

A Fundación Clínica Médica Sur, Dr. Pindaro Martínez Osuna, Dr. Misael Uribe, Dr. Luis Guevara y Dr. Javier Lizardi Cervera por permitirme estar en Médica sur y ampliar mi visión de la medicina, y haberme hecho sentir como en casa, mil gracias.

A todo el Departamento de Anatomía Patológica de Médica Sur, especialmente Dr. Raúl Pichardo Bahena y Q.F.B. Blanca Barredo por todo el apoyo brindado durante la investigación y por brindarme su amistad.

Al Departamento de Patología de la UNAM-FMVZ, Dr. Enrique Martín Aburto Fernández por siempre estar ahí con una gran sonrisa.

A todo el personal que trabaja en el Hospital Veterinario de Especialidades y en Médica sur, gracias por todo.

ÍNDICE

RESUMEN	III
ABSTRACT	IV
INTRODUCCIÓN	1
REVISIÓN DE LITERATURA	3
Microbiología y taxonomía de <i>Helicobacter pylori</i>	3
Historia de <i>Helicobacter</i> spp. gástrico	3
Gastritis crónica en perros	6
Factores de riesgo	7
Enfermedades asociadas	8
Epidemiología y transmisión	8
Prevalencia en perros y gatos	10
Potencial zoonótico	10
Patogenicidad	11
Histopatología gástrica	16
Métodos de diagnóstico	16
Pruebas invasivas	16
Prueba de ureasa rápida	17
Citología	17
Histología	18
Inmunohistoquímica	18
Microscopía electrónica	19
Cultivo	19
Reacción en cadena de la polimerasa (RCP)	21
Identificación y tipificación molecular de aislamiento de <i>Helicobacter</i>	21
Inserción de un plásmido	22
Polimorfismo de longitud de restricción (RLFP)	22
Electroforesis en campo pulsado (PFGE)	24
Reacción en cadena de la polimerasa-Transcriptasa reversa (RT-RCP)	25
Pruebas no invasivas	26
Pruebas serológicas	26
Prueba de aliento de urea en aire espirado C13 o C14	27

Detección de antígenos de <i>Helicobacter</i> en muestras fecales	27
Terapia de erradicación de <i>Helicobacter</i>	28
JUSTIFICACIÓN	29
HIPÓTESIS	29
OBJETIVOS	29
MATERIAL Y MÉTODOS	30
ANÁLISIS ESTADÍSTICO	32
RESULTADOS	33
DISCUSIÓN	35
CONCLUSIONES	39
LISTADO DE CUADROS	41
LISTADO DE FIGURAS	48
LITERATURA CITADA	54

LISTADO DE CUADROS

1. Edad y peso de perros de casa y calle.	39
2. Género de perros de casa y calle.	39
3. Resultados de la prueba de la ureasa a partir de biopsias gástricas.	39
4. Tiempo de reacción de las muestras positivas a la prueba de la ureasa.	39
5. Resultados histopatológicos de cronicidad (inflamación crónica) en la escala de Sydney/Houston, a partir de biopsias gástricas de perros de casa y calle.	40
6. Resultados histopatológicos de actividad (infiltración neutrofílica) en la escala de Sydney/Houston, a partir de biopsias gástricas de perros de casa y calle.	40
7. Resultados histopatológicos de la densidad de <i>Helicobacter</i> spp. en la escala de Sydney/Houston, a partir de biopsias gástricas de perros de casa y calle.	41
8. Resultados histopatológicos de atrofia de mucosa en la escala de Sydney, a partir de biopsias gástricas de perros de casa y calle.	41
9. Resultados histopatológicos de metaplasia intestinal en la escala de Sydney/Houston, a partir de biopsias gástricas de perros de casa y calle.	42
10. Resultados histopatológicos de hiperplasia foveolar en la escala de Sydney/Houston, a partir de biopsias gástricas de perros de casa y calle.	42
11. Resultados histopatológicos de correlación de cronicidad con densidad de <i>Helicobacter</i> spp. a partir de biopsias de mucosa gástrica de perros.	43
12. Resultados histopatológicos de correlación de actividad con densidad de <i>Helicobacter</i> spp. a partir de biopsias de mucosa gástrica de perros.	43
13. Resultados histopatológicos de correlación de atrofia de mucosa con densidad de <i>Helicobacter</i> spp. a partir de biopsias de mucosa gástrica de perros.	44
14. Resultados histopatológicos de correlación de metaplasia intestinal con densidad de <i>Helicobacter</i> spp. a partir de biopsias de mucosa gástrica de perros.	44
15. Resultados histopatológicos de correlación de hiperplasia folicular con densidad de <i>Helicobacter</i> spp. a partir de biopsias de mucosa gástrica.	46
16. Resultados de inmunohistoquímica con el anticuerpo <i>H. pylori</i> policlonal de conejo.	46

LISTADO DE FIGURAS

1. <i>Helicobacter</i> spp. Microscopía electrónica de barrido.	46
2. Perros de casa de distintas razas y perros de calle mestizos.	46
3. Escalas visuales de los parámetros implicados en la clasificación y gradación de la gastritis Sistema Sydney renovado, 1994.	47
3a. Escalas visuales de los infiltrados inflamatorios, grados 0 - 1- 2 - 3 del Sistema de Sydney renovado, 1994.	47
3b. Escalas visuales de grados de atrofia, mucosa antral y de cuerpo 0 -1 - 2 - 3 (normal/atrofia leve, moderada, severa) del Sistema Sydney renovado, 1994.	47
4. Mucosa gástrica de perro de casa #2 con <i>Helicobacter</i> spp moderado. Tinción de Warthin-Starry, 400X.	48
5. Mucosa gástrica de perro de calle #24 con <i>Helicobacter</i> spp. moderado en la superficie de la mucosa gástrica. Tinción de Giemsa, 400X.	48
6. Mucosa gástrica de perro de calle #45 con <i>Helicobacter</i> spp. abundante Tinción de Hematoxilina/eosina, 400X.	49
7. Grupo de organismos de <i>Helicobacter</i> spp. abundante en la superficie de la mucosa gástrica de perro de calle #32. Tinción de inmunohistoquímica (Anticuerpo anti- <i>H. pylori</i> policlonal de conejo), 400 X.	49
8. Hiperplasia foveolar intensa en antro de la mucosa gástrica de perro de calle #24. Tinción de Hematoxilina/eosina, 400X.	50
9. Mucosa gástrica de perro de calle #29 con actividad intensa en cuerpo. Tinción de Hematoxilina/eosina, 400X.	50
10. Mucosa gástrica de perro de calle #20 con gastritis linfoide ligera. Tinción de Hematoxilina/eosina, 400X.	51
11. Mucosa gástrica de perro calle #33 con atrofia de mucosa moderada en cuerpo. Tinción de Hematoxilina/eosina, 400X.	51

DETERMINACIÓN DE LA PREVALENCIA DE *HELICOBACTER SPP.* EN PERROS DE LA CD. DE MÉXICO, ESTUDIO HISTOPATOLÓGICO E INMUNOHISTOQUÍMICO.

RESUMEN

El objetivo de este estudio fue determinar la prevalencia, densidad de colonización, distribución y hallazgos histológicos de *Helicobacter spp.* en perros. *Helicobacter pylori* es causa de gastritis y ulceración; además de favorecer el desarrollo de neoplasias gástricas en humanos. Aunque *H. pylori* solo se ha encontrado en gatos, y se ha reproducido la infección experimental en Beagles. Se piensa que el riesgo zoonótico es mínimo; sin embargo, son muy pocos los estudios que demuestran esto, desconociendo la prevalencia en diferentes países, el modo de transmisión y la patogenia de las especies de *Helicobacter* presentes en los animales. La hipótesis fue que en la mucosa gástrica de perros de casa hay *Helicobacter spp.* y su presencia se ve incrementada en perros callejeros. Se realizó un estudio prospectivo, randomizado y simple ciego sobre 46 perros de la Cd. de México, de los cuales 14 fueron perros de casa muestreados por endoscopia y 32 perros callejeros fueron muestreados por cirugía experimental. Se tomaron 6 muestras de cada región gástrica (antro, cuerpo y fondo) para realizar la prueba de ureasa rápida y el examen histopatológico con la tinción de H/E, Giemsa, Warthin-Starry, y después la inmunohistoquímica con un anticuerpo policlonal de conejo. Los resultados para la prueba de la ureasa fue positiva en el 35.7% de los casos de perros de casa y 84.4% positivos en perro de calle. En el 84.78% (n=39) de las muestras se encontró *Helicobacter* por medio de histopatología, 7 perros de casa y 32 perros de calle. La inflamación de crónica fue en su mayoría leve (41 perros), mientras que el grado de actividad (infiltración neutrofílica) se presentó solamente en 13 perros de calle. Se observó atrofia en 86.95% de los 46 perros, predominando atrofia leve en el 50% de los casos. La inmunohistoquímica fue positiva en el 82.60%. Se concluye que en México existe un alta prevalencia de *Helicobacter spp.* en perros, sobre todo en perro de la calle donde las condiciones de agua y alimento están contaminadas con esta bacteria.

Palabras clave: *Helicobacter spp.*, prevalencia, perros, histopatología, inmunohistoquímica, Ciudad de México.

DETERMINATION OF THE PREVALENCE OF *HELICOBACTER SPP* IN DOGS OF MEXICO CITY, HISTOPATHOLOGIC AND IMMUNOHISTOCHEMISTRY STUDIES.

ABSTRACT.

The aim of this study was to evaluate *Helicobacter* spp. the prevalence, density and histologic findings in dogs of Mexico City. *H. pylori* can cause of acute and chronic gastritis, gastric ulceration and contribute to development of gastric neoplasias in humans. *H. pylori* has been found in cats, and it has been reported in Beagles under experimental conditions. The zoonotic risk is lower, nevertheless there are a few studies that show this, is not to know the prevalence in different countries, the transmission route, the pathology of the *Helicobacter* species in animals, and these are finding in humans, domestic and wild animals. Our hypothesize that *Helicobacter* spp. is present in the gastric mucosa of domesticated dogs are and it's increase in feral dogs. Is this blinded, randomized, prospective study, gastric sample with 46 dogs of Mexico city were obtained, 16 dogs samples site was by endoscopy and 30 was by experimental surgery. From each dog, six samples were taken from each auntrum, courpus and fundus. Samples were analyzed with urease testing and histological examination included staining with haematoxylin and eosin (H/E), Giemsa and Warthin-Starry, and the immunohistochemistry with anti-*H.pylori* antibody polyclonal rabbit. The immunohistochemical analysis was done with polyclonal rabbit anti-H.pylori antibody. Urease test was positive in 35.7% of domesticated dogs and 84.4% of feral dogs. *Helicobacter* spp. was found in 84.78% of all samples and in 7 domesticated and 32 feral dogs. The severity of chronic was light (42 dogs), meanwhile the activity degree only find in 14 street dogs. Atrophy degree was in 86.95% of 46 dogs, predominate light atrophy in 50% of samples. The immunohistochemistry was positive in 82.60% in all samples. In conclusions, there is a high prevalence of *Helicobacter* spp. in dogs of Mexico City, in particular high among in feral dogs, that water and food of which are particulary contaminated with this bacteria.

Keywords: *Helicobacter* spp., prevalence, dogs, histopathologic, immunohistochemistry, Mexico City.

INTRODUCCIÓN

La presencia de una bacteria en el estómago con forma de espiral fue descrita originalmente por Rappini en 1881. Desde entonces estos microorganismos (inicialmente llamados espirales o espiroquetas, luego organismos tipo *Campylobacter* y ahora organismos tipo *Helicobacter*) han estado relacionados con exámenes gástricos juntos con lesiones histológicas.¹

Los organismos tipo *Helicobacter* es un grupo Gram negativo, en forma de espiral, equipados con flagelos y que se subdividen en especies gástricas y no gástricas.² *Helicobacter* spp. gástrico son ureasa positivo y se han descrito en varias especies incluyendo perros y gatos en los cuales se han encontrado los serotipo de *H. felis*,³ *H. bizzozeroni*, *H. salomonis* y *H. heilmannii*,^{4,5,6} *H. mustalae* en hurones,⁷ *H. pullorum* en pollos,⁸ *H. equorum* en caballos,⁹ *H. canadensis* en aves,¹⁰ en roedores *H. murindarum*,^{5,2} *H. heilmannii* en cerdos,¹¹ *H. acynomyx* en guepardos^{12,13} y varias especies de monos desde 1939 por Doenges.^{14,15,16} *Helicobacter* spp. no gástricas son intestinal y hepático, y se han descrito *H. cinaedi*, *H. fenneliae*, *F. rappini* en aislamientos de heces en perros y gatos,¹⁷ *H. colifelis* se ha descrito en gatitos con diarrea severa y *H. canis* se ha encontrado en perros con o sin diarrea, así como en hígado de perros con hepatitis necrotizante multifocal.¹⁸ La patogenicidad de las especies no gástricas de *Helicobacter* spp. en perros y gatos al igual que las especies gástricas no se ha esclarecido hasta el momento.^{19,2}

En 1983, Warren y Marshall describieron *H. pylori* como causa de gastritis tipo B en humanos, desde entonces se renovó el interés por estos microorganismos. *H. pylori* es la especie que con mayor frecuencia se ha identificado en humanos y se ha relacionado con úlcera gástrica, úlcera duodenal y neoplasias gástricas, principalmente adenocarcinoma.^{20,21}

Otra de las especies que también se han detectado en humanos es *H. heilmannii* antes conocida como *Gastrospirillum hominis*, el cual ha sido fuertemente asociado a linfoma MALT (tejido linfoide asociado a mucosa maligna). Desde el primer informe en 1987, más de 500 casos de infecciones gástricas en humanos con *H. heilmannii* han aparecido en la literatura. La prevalencia de esta infección es baja -0.5% en países en desarrollo y de 1.2 a 6.2% en el este de Europa y países asiáticos.²

El cultivo de *H. heilmannii* no puede llevar a un diagnóstico definitivo, el cual generalmente se hace con base en morfología distinta del espiral comparada con *H. pylori* por medio de una sección de tejido teñida con una tinción de plata, pero el largo de la espiral es muy variable en comparación con otros organismos de espiral gástrica como *H. felis*, *H. salomonis* y *H. bizzozeroni* siendo indistinguible de *H. heilmannii* con microscopia de rutina.^{22,23} Además *H. pylori* crece como espiral larga en caldo de cultivo y agar sangre adoptando una morfología idéntica a *H. heilmannii*.²⁴ El uso de técnicas genéticas como PCR,^{25,26,27} secuenciación del análisis de clones y productos no clonados por PCR, hibridación de fluorescencia *in situ* (FISH),²⁸ son pruebas específicas que se requieren para una identificación definitiva.

Estos hallazgos han causado que se retomara el interés del estudio de *Helicobacter* spp. en perros y gatos.²⁹ Sin embargo la presencia de organismos tipo *Helicobacter* en el estómago de los perros ha sido conocida desde 1893 por Bizzozero, pero existe muy poca información en la relación a la infección con *Helicobacter* spp. gástrica en perros, en contraste con humanos donde *H. pylori* predomina; mientras que en el estómago de los perros se han descrito múltiples especies de *Helicobacter*.³⁰

H. pylori se ha aislado en gatos, pero no en perros.³¹ La prevalencia que se ha informado para la detección de *Helicobacter* spp. gástrica va de 61 a 100% en estómago de perros saludables así como con signos de enfermedad gastrointestinal, la actual prevalencia de *Helicobacter* spp. gástrica en perros de compañía es desconocida, ya que la mayor parte de los estudios se ha realizado con animales de laboratorio y existen muy pocas investigaciones con perros de compañía.^{32,33} Factores que puedan afectar la evaluación histológica, los especímenes gástricos y la detección de *Helicobacter*, como el uso de antimicrobianos, drogas antiinflamatorias, no han sido considerados de forma temprana por algunos investigadores. Cambios histológicos, como inflamación de los folículos linfoides y cambios degenerativos de las células parietales se han asumido como indicador de patogenicidad de *Helicobacter* spp. Además la clasificación de gastritis ha sido muy variada entre estudios, haciendo muy difícil la comparación de resultados.^{1,29} A la fecha se ha puesto poca atención al término de patogenicidad de otras especies que no sean *H. pylori* y la consecuencia de infección por *Helicobacter* en animales sanos y enfermos está lejos de ser clara. Existe el peligro de que la información generada en humanos infectados con *H. pylori* pueda ser directamente aplicada a pacientes veterinarios sin considerar las diferencias de *Helicobacter* spp. y la respuesta de huésped no humano.²³

REVISIÓN DE LITERATURA

Microbiología y taxonomía de *Helicobacter pylori*

Los médicos australianos Barry J. Marshall y J. Rodin Warren han sido galardonados con el premio Nobel de Medicina y Fisiología 2005 por descubrir la bacteria *Helicobacter pylori* y el papel que desempeña dicha bacteria en el desarrollo de la inflamación del estómago y de la úlcera péptica.

Estos estudios se remontan al año 1982, cuando se realiza el cultivo con éxito a partir de tejido obtenido en pacientes con gastritis. Estos autores observaron que unas bacterias helicoidales colonizaban la parte inferior del estómago (el antro pilórico) en el 50% de los pacientes y que la inflamación estaba siempre asociada a la presencia de *Helicobacter pylori*. Con base en este resultado, propusieron que *H. pylori* estaba implicada en la patogenia de esta enfermedad.²¹

Esto ha revolucionado rápidamente la gastroenterología en medicina humana, hoy *H. pylori* es la mayor infección diseminada en humanos, tiene una distribución mundial y se estima que aproximadamente la mitad de la población humana esta infectada con este patógeno.³⁴

H. pylori es conocida como el agente causal más importante de gastritis, úlcera gástrica y duodenal, y recientemente se ha clasificado como primer clase de carcinógenos en humanos por IARC (Internacional Agency for Research on Cancer).

Historia de *Helicobacter* spp. gástrico

Antes del aislamiento de *H. pylori* de la mucosa gástrica, hombres y animales habían sido reservorio gástrico de “Spirillum” ó “organismos tipo espiroqueta”. La primera observación fue en 1881 en perros por Rappini en 1881. Se continuaron más estudios de organismos gástricos espirales de gatos y perros alrededor de 1900. Estos estudios morfológicos son todavía asombrosos y sofisticados tomando en cuenta las limitaciones de la tecnología. Fueron observadas tres bacterias de morfología distinta en la mucosa gástrica de los perros: organismos espirales fueron morfológicamente diferentes en gatos y perros de unos a otros. La motilidad de la bacteria fue atribuida al flagelo visto. Se aplicaron la técnicas de tinción disponibles, estos organismos fueron definidos como Gram-negativos, estos fueron encontrados exclusivamente en el estómago, con una mayor afinidad de colonización en el fondo. Estos hallazgos fueron muy comunes en perros adultos y gatos, pero ausentes en cachorros y gatitos.^{104,5}

La nomenclatura de esta bacteria estuvo inconcisa. Estos organismos primero se llamaron *Spirillum rappini*, en honor al primer científico que los describe. Nombres como *Spirillum stomachi*, *Spirochaete regaudi*, *Spirella canis*, *Spirella regaudi* fueron utilizadas para representar las espirales gástricas caninas y felinas. De manera notable, la primera infección descrita en humanos con espirales gástricas grandes ocurrió en 1939, este estudio no fue una gran noticia por muchos años.³⁵ Después del desarrollo de técnicas de microscopía electrónica, tres grupos de bacterias diferentes fueron descritos a detalle dentro de la mucosa gástrica canina.^{104,174} Los organismos que se encontraron en los felinos eran más pequeños y curvados que los organismos caninos.^{104,174,174,5.}

El interés por estos microorganismos asociado con la mucosa gástrica de animales se incrementó después del descubrimiento de *H. pylori* en humanos, hay una carencia de modelos animales para *H. pylori* y el posible potencial zoonótico no se ha demostrado.^{89,6} Desde que tres tipos de bacterias morfológicamente distintas fueron detectadas *in vivo* dentro de la mucosa gástrica canina, hubo intentos de cultivar esta bacteria *in vivo*.^{6,89}

Su clasificación permaneció oscura, en 1987 estos organismos se sugirió que podían ser tipo espiral, mostrando hallazgos de *Spirillum* y *Spirocheta*.⁶ El primer aislamiento exitoso de bacteria helicoidal microaerofílico grande con fibrillas alrededor del cuerpo celular descrito de perros y gatos fue en Australia en 1988.^{52,159,36} Estas variedades ultraestructuralmente se parecen a las que llamamos “organismos tipo 2”, y el éxito de este cultivo facilitó más estudios taxonómicos detallados. Estos aislamientos fueron posteriormente resueltos como miembros del género *Helicobacter* y designados *H. felis*.³⁶ Los esfuerzos para hacer un segundo aislamiento de un organismo morfológicamente similar con escasas fibrillas periplasmáticas de superficie no tuvo éxito.⁵

Estos numerosos organismos fueron comparados con bacterias parecidas a *H. felis* en perros y gatos. Finalmente una tercera bacteria altamente distinta entre el complejo fusiforme del cuerpo celular fue detectado morfológicamente como tipo 1.⁵ Organismos con esta morfología fueron aislados originalmente de abortos de ovinos en 1985³⁷ y más recientemente fueron cultivados *in vitro* de la mucosa gástrica de caninos.¹²

Taxonomía del género *Helicobacter* spp.

La taxonomía del género *Helicobacter* ha evolucionado rápidamente desde que se han descritos nuevos *Helicobacter* spp. desde 1989. *H. pylori* (antes *Campylobacter*

pyloridis, después corregido a *C. pylori*), de tipo especie de género, y *H. mustelae* (antes *C. pylori subesp. mustelae*, después elevada al estado de especie como *C. mustelae*. Estas fueron las primeras dos taxa asignadas para *Helicobacter*.³⁸ Desde 1991 al menos una especie ha sido descrita cada año y hasta hoy se han descrito 18 especies validadas asignadas a este género.

Un phylum diferente entre la clase *Proteobacteria* de eubacteria fue propuesto por Vandamme y col³⁹ : ARNr superfamilia VI. Esta superfamilia integra al género *Campylobacter*, *Helicobacter*, *Aerobacter* y *Woinella*, y *Helicobacter* y *Woinella* forman el grupo III ARNr dentro de la superfamilia VI. Bacterias citadas antes como “*Flexispira*” se ha encontrado que tienen una relación muy cercana con el género *Helicobacter*. Hecho silimar con dos antiguas especies entéricas de *Campylobacter* (*C. fennelliae* y *C. cinaedi*) las cuales fueron reclasificadas como *H. hennelliae* y *H. cinaedi* y fue revisado la descripción del género asignado.

Una característica típica de todo el género *Helicobacter* son los estrictos requerimientos nutricionales de las especies individuales para garantizar habilidades de aislamiento y cultivo de estos organismos.⁴⁰ Además toda la superfamilia VI muestra excepcional inercia en común con las reacciones bioquímicas, de esta manera reduce el número de pruebas que pueden ser utilizadas para su clasificación.^{41,42} Además algunas especies descritas se han basado en un limitado número de pruebas por lo tanto la variación intraespecies no puede ser evaluada adecuadamente.^{43,44,45} Además, varios nombres que comúnmente se ha utilizado no han sido validados adecuadamente y esto ocasiona confusión al estado taxonómico de la bacteria. Estos problemas se han incrementado junto con la disponibilidad de uno o algunos aislamientos para estudio, así como la inhabilidad para aislar organismos. Como consecuencia hay varios problemas que no se han resuelto en la taxonomía de *Helicobacter* spp.

La importancia de análisis fenotípico no debe ser subestimado en la taxonomía moderna. El orden para describir a las nuevas especies, un claro fenotipo diferencial para que exista una taxa apropiada al nivel taxonómico debe ser presentado.⁴⁶ Además, la determinación de la variación intraespecies es un importante propuestas como diagnóstico de rutina y por lo tanto, las especies descritas deben ser llevadas mediante un número representativo no relacionado con aislamiento.^{40,41}

La hibridación ADN-ADN ha estado efectuándose para validar el distinto estado taxonómico de *Helicobacter* spp., incluyendo *H. cinaedi*, *H. fennelliae*,⁴⁷ *H. nemestrinae*,⁴³ *H. canis*,⁴⁸ *H. pullorum*⁴⁹ y *H. pametensis*.⁵⁰ Varias especies de

Helicobacter se han descrito sin algún resultado de ADN, siendo la principal justificación para estado-especies las cuáles se han basado en la comparación numérica de secuencia similar de datos ADNr 16S. Esto incluye a *H. felis*,⁵¹ *H. muridarum*,⁵² *H. acinonychis*,⁴⁴ *H. hepaticus*,⁵³ *H. bilis*,⁵⁴ *H. cholecystus*,⁴⁵ *H. trogontum*¹¹ y *H. rodentium*.⁵⁵ Extraordinariamente en todas las especies (excepto *H. felis* y *H. muridarum*) la similitud de análisis secuencial ADNr 16S o en algunas especies se ha estimado un excedente del 97%. La recomendaciones que se indican para el uso de ADNr 16S análisis secuencial en taxonomía bacteriana,⁵⁶ experimentos de hibridación de ADN-ADN deberían estarse efectuando en todos los casos mencionados para confirmar la posición taxonómica.

Gastritis crónica en perros

Generalmente se considera que el signo clínico principal de la gastritis es el vómito, aunque un gran número de pacientes tiene anorexia. Si se presenta vómito lo primero que hay que hacer es diferenciarlo de una regurgitación con base en la historia y el examen clínico. La náusea prodrómica comúnmente se presenta con vómito. Algunos perros que están a punto de vomitar caminan, gimen o muestran algún tipo de ansiedad o incomodidad. En regurgitación el animal puede estar sentado y repentinamente mostrar signos de náusea con presencia de cierto alimento. El intento de vómito improductivo con esfuerzo abdominal se presenta después de una náusea prodrómica y se caracteriza por fuertes contracciones abdominales. El material que arroja el animal nos ayuda a distinguir que es lo que esta ocurriendo. El material conocido como “no digerido” puede ser producto de vómito como de regurgitación. El moco puede provenir de las glándulas salivales como del estómago y ocurre con sangre roja, mientras que la sangre semi-digerida con aspectos de granos de café sólo se ve en el vómito. Esto no nos asegura que la hemorragia se haya originado en el estómago. La presencia de bilis procede del estómago o de los intestinos y su color es verde, amarillo o marrón oscuro. La característica del material lanzado por la boca varía y lo mismo ocurre en el momento del episodio con relación al consumo de alimento.

La gastritis crónica es una inflamación de larga duración en la mucosa del estómago. Hay muchas causa posibles, establecer la causa precisa puede llegar a ser muy difícil. La exposición repetitiva a agentes físicos o químicos puede causar una gastritis crónica.⁵⁷

A menudo el culpable es un cuerpo extraño en el estómago, pero las gastritis crónicas pueden también formar parte otros procesos patológicos en la mascota como enfermedades renales, neoplásicas, etc.

El vómito es el signo predominante en una gastritis crónica. Otros son pérdida de peso, poco apetito, tensión abdominal y sangrado procedente de la pared gástrica.

Para diagnosticar la gastritis crónica pueden utilizarse varios procedimientos. La evaluación médica y el tratamiento generalmente incluyen radiografías, pruebas de laboratorio, antibióticos y a veces cirugía con el fin de retirar el agente ofensivo, o para obtener muestras de tejido. Además, una dieta apropiada es esencial en el tratamiento de la gastritis crónica.⁵⁸

Las evaluaciones histológicas de la gastritis crónica en entidades como perros y gatos es muy pobre, aunque es considerado una causa común el vómito crónico en estas especies. La prevalencia de gastritis crónica de perros y gatos y la asociación con signos gastrointestinales altos, es desconocida.

La clasificación de gastritis en perros y gatos es aguda y crónica, basado en el tipo de células inflamatorias y de acuerdo a la distribución de las células la podemos clasificar en superficial y difusa. Se han utilizado varias clasificaciones de gastritis crónica, incluyendo etiología y clasificación histológica, que han coincidido con características clinicopatológicas. La clasificación histológica es posible si la causa primaria es identificada, como alergia alimenticia, antiinflamatorios no esteroideos (AINES) o uremia.⁵⁷ Sin embargo, en la mayoría de los casos de gastritis crónica la causa principal es desconocida. El hecho de que no exista un criterio histológico para biopsias gástricas de perros y gatos causa confusión cuando los resultados de diferentes estudios son interpretados y comparados.

En 1987, se describió una hiperplasia linfocítica y gastritis linfocítica en Beagles de laboratorio. Se ha demostrado que la infección con *H. felis* de manera natural causa gastritis linfocítica.⁵⁹

Factores de riesgo

La mitad de la población mundial está infectada con *H. pylori*. Las personas que viven en países en desarrollo o en condiciones de hacinamiento o insalubridad tienen la mayor probabilidad de contraer las bacterias, que se pasan de una persona a otra.^{90,92,94} La *H. pylori* sólo crece en los intestinos y generalmente se contrae en la infancia. Lo que es interesante es que muchas personas tienen este organismo en su tracto gastrointestinal

pero no desarrollan úlcera o gastritis.^{60,61,87} Parece ser que para que el daño tenga lugar, también tiene que estar presentes otros factores. Los factores que incrementan el riesgo de una úlcera a causa de *H. pylori* abarcan:

- a. Herencia, a través de los genes, de ciertas cepas de bacterias que son más peligrosas que otras.
- b. Ubicación geográfica.⁶⁰
- c. Respuesta inmunológica anormal en los intestinos.
- d. Edad y hábitos de estilo de vida, como tomar café, fumar, y estrés continuo y dieta alimenticia.⁶¹
- e. Estado socioeconómico.⁶²

Enfermedades asociadas

Úlcera péptica, linfoma gástrico y adenocarcinoma gástrico son las enfermedades a las que se ha asociado *Helicobacter* como factor predisponente.

La infección de *H. pylori* se ha asociado en humanos con un gran número de desordenes no gastrointestinales: rosácea,^{63,64,65} urticaria crónica,^{66,67} glaucoma,^{68,69} cardiopatía isquémica,^{70,71,72,73,74} anemia por deficiencia de hierro,⁷⁵ psoriasis,⁷⁶ púrpura trombocitopénica autoinmune,^{77,78} dermatitis atópica,^{79,80} hipertensión^{81,82} e hiperamonemia,^{83,84} entre otras.

Epidemiología y transmisión

En humanos *H. pylori* tiene una distribución mundial y es prevalente en personas saludables asintomáticas en un 15-70% dependiente de edad, raza y estado social.^{85,86}

El rango de infección es muy bajo en niños y jóvenes en varios países desarrollados. Evaluaciones epidemiológicas han demostrado una correlación entre colonización y edad, estado socioeconómico bajo y sobrepoblación, particularmente durante la niñez.⁸⁷

El acontecimiento de *H. heilmannii* es raro, su prevalencia es <1%.^{88,89}

En un análisis seroepidemiológico realizado en 1997 en el Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS), se trabajó con un banco de sueros representativo de la población de todos los estados de la República Mexicana (11,605 sueros) procedentes de personas cuya edad fluctuó entre 1 a 90 años. Los resultados mostraron que el 20% de los niños de 1 año de edad presentaban anticuerpos contra *H. pylori* y que la seropositividad aumentó hasta un 50% en los niños de 10 años de edad, lo que indicaba que la infección

por el microorganismo se adquirió a edades tempranas y alcanzó un 80% en los adultos jóvenes entre los 18 y 20 años de edad. La tasa de incremento de seropositividad fue aproximadamente del 5% anual durante los primeros 10 años de la vida.⁹⁰

La transmisión de *H. pylori* es probable que ocurra por múltiples rutas afectada por condiciones locales y comportamiento.^{91,92} En humanos, la vía de persona a persona⁹³ parece aumentar la transmisión de *H. pylori*, que se sospecha de transmisión vía oral-oral ó fecal-oral, hay aislamientos de *H. pylori* de saliva y de heces.^{94,18,95,96} También se ha demostrado un alto impacto en las condiciones de higiene.^{97,98} Los investigadores del Centro Médico Santa Isabel de Boston en Estados Unidos de América demostraron la participación de la mosca doméstica como transportador de la bacteria al tomarla de comidas contaminadas o heces. A partir de la heces de los portadores la bacteria se puede aislar viva y con potencial de infectar, lo cual es evidencia a favor de la teoría que considera a la vía fecal-oral como la principal ruta de transmisión.⁹⁹ La difusión a partir de reservorio de agua de consumo, es otra probabilidad y está respaldada por alta prevalencia de la infección en comunidades que carecen de servicio de agua potable, y por la presencia de brotes epidémicos, atribuidos a la contaminación de acueductos.¹⁰⁰ En el 2001, Mazari-Hiriati reportó que en la ciudad de México, el agua utilizada para consumo humano e irrigación tiene un papel importante como vehículo de transmisión de *H. pylori* y de otros patógenos entéricos, después de haber detectado en más del 10% de sus muestras^{101,102} y en el 2005 vuelve a realizar un monitoreo y vuelve a detectar altos niveles de *Helicobacter pylori* y otras bacterias patógenas, las cuáles encuentran un medio idóneo por el bajo nivel de cloración del agua potable de la ciudad de México, la cual abastece a 18 millones de habitantes.¹⁰³ En animales, altos rangos de prevalencia se han detectado, se ha sospechado que viven en colonias y que la transmisión aumente apoyando el rol de contacto íntimo en esta transmisión.^{6,104,105} Los perros generalmente tienen contacto cercano uno con otro, como las hembras y los cachorros durante el período de lactación. Los miembros de la familia muestran subtipos idénticos del organismo estudiado a través de métodos moleculares, sugiriendo la transmisión entre miembros de la familia.^{106,107} De otra manera, los aislamientos de *H. pylori* muestran gran divergencia genética; al menos en todos los aislamientos representados tipos iguales.^{108,109} La transmisión iatrogénica vía fórceps de biopsia ó endoscopio es además posible cuando una adecuada limpieza y desinfección no se ha llevado a cabo.^{110,111} Aunque el agua y vegetales han estado vinculados a la transmisión de *H. pylori*, es

necesario estudios más detallados para evaluar la importancia de estos vehículos como reservorios para *H. pylori*.

Prevalencia en perros y gatos

La prevalencia de *Helicobacter* en perros y gatos es alta. Los rangos de prevalencia van de 86-100% en perros saludables, 61-82% en perros con signos gastrointestinales altos, 41-100% en gatos saludables, y 56-76 en gatos infectados, esto es lo que se ha informado.^{104,6,1,112,113,33,114,115,105}

La mayoría de los perros estudiados han sido adultos de varias edades, y el rango de prevalencia asociado a edad del perro se desconoce. En gatos, *Helicobacter* spp. se ha encontrado más frecuente en adultos que en jóvenes.^{104,113}

Potencial zoonótico

El *H. heilmannii* se reconoce como un agente capaz de inducir gastritis crónica en humanos ha sido relacionado con úlcera péptica y linfoma gástrico primario de bajo grado.¹¹⁶ Se trata de una bacteria de mayor tamaño que el *H. pylori* y de apariencia helicoidal que mide de 3.5 a 7.5 μm de largo y 0.9 μm de diámetro (comparativamente el *H. pylori* mide de 2.5 a 3.5 μm de largo y de 0.5 a 1 μm de diámetro).¹¹⁷

Las prevalencias halladas en el mundo en seres humanos varían desde el 0.1 al 8% de la población.¹¹⁸ Comparando con el *H. pylori* la infección por *H. heilmannii* es encontrado típicamente en la mucosa sobre la superficie de las células epiteliales y no muestra una adherencia íntima a menudo observada como el *H. pylori*.^{116,119} Los organismos pueden ser encontrados profundos en el lumen de las glándulas gástricas y dentro de las células parietales y no muestra adherencia íntima a menudo observada con el *H. pylori*.¹¹⁹ La gastritis a pesar de estar presente, es mucho menos marcada en pacientes infectados con *H. heilmannii* que en aquellos infectados con *H. pylori*.¹¹⁹ Esta respuesta inflamatoria media, también ha sido encontrada en los gatos infectados por organismos tipo *H. heilmannii*.^{33,120}

Solamente existe un informe de cultivo positivo de *H. heilmannii* en seres humanos y tal cepa fue genéticamente similar al *H. bizzozeronii* aislado comúnmente en perros.¹²¹ De ahí el hecho de considerarse su potencial zoonótico e incluso algunos casos de infección por *H. heilmannii* en humanos, han estado muy relacionados con la presencia de mascotas.

A pesar de que la infección por *H. heilmannii* en humanos causa síntomas gastrointestinales y cambios gástricos patológicos, es difícil determinarlo debido a su baja prevalencia, que además no ha sido determinada en México.¹¹⁹

Algunos autores recomiendan prudente usar los mismos tratamientos propuestos para la erradicación de *H. pylori* en seres humanos infectados por *H. heilmannii*,^{116,119} mientras que el tratamiento de organismos tipo *H. heilmannii* en perros y gatos parece ser inefectivo en términos de que es frecuente la reaparición de las bacterias, incluso se ha descrito la presencia de la bacteria a los 29 días luego de la aparente erradicación postratamiento, sin haberse comprobado si se debe a reinfección o recrudescencia en caso de que los antibióticos sólo provocarán supresión parcial de la bacteria.¹²² Sin embargo, otros estudios han demostrado mejorías en animales que sufrían signología clínica relacionada con gastritis y que fueron tratados contra el *Helicobacter*.¹²³

La frecuencia aparentemente alta de helicobacterias en perros y gatos, y particularmente el aislamiento de *H. pylori* en un grupo de gatos de laboratorio, plantea la posibilidad de que los animales de compañía puedan servir como reservorio para la transmisión de helicobacterias a los humanos. Informes sobre casos recientes, han sugerido que existe la transmisión de otras especies de *Helicobacter*, como la especie *Gastrospirillum* y el *H. felis* de animales al hombre. Aunque no se ha demostrado la transmisión directa de perros y gatos a humanos, el aislamiento de *H. pylori* de las heces, saliva y jugo gástrico de los gatos, sugiere que se deben tomar precauciones higiénicas para minimizar una posible infección.¹²⁴ No se pueden hacer declaraciones precisas sobre el potencial zoonótico de los gatos y perros a sus dueños hasta que se determine la prevalencia de la infección con miembros y cepas específicos de helicobacterias en la población de animales de compañía y hasta que se conozca más sobre el modo de infección de las helicobacterias.^{25,125}

Patogenicidad

Hasta hoy, hay muy poca información acerca de las propiedades patógenas de *Helicobacter* spp. en caninos y felinos.²⁵

La mucosa gástrica está muy bien protegida contra infecciones bacterianas. *H. pylori* tiene una alta adaptación a este nicho ecológico. Con un mecanismo de características únicas que permiten entrar a la mucosa, desplazarse orientándose hacia la mucosa, atacando a las células epiteliales, evadiendo a la respuesta inmune y como resultado, una persistente colonización y transmisión.¹²⁶

El genoma de *H. pylori* en 1997 (1.65 millones pb) codificaba alrededor de 1500 proteínas.¹²⁷ Hoy se conocen varias cepas de *Helicobacter* y el genoma de dos de ellas ha sido completamente secuenciado. El genoma de la cepa "26695" consta de 1,7 millones de pares de bases, con un total de aproximadamente 1.550 genes. Las dos cepas secuenciadas muestran muchas diferencias genéticas, con más de un 6% de nucleótidos diferentes. El estudio del genoma de *H. pylori* se centra en aspectos relacionados con la patogenicidad, es decir, la habilidad de éste organismo en causar enfermedades. En la base de datos del genoma de *H. pylori* existen unos 62 genes en la categoría de patogénesis.¹²⁸

Entre los hallazgos más destacables son dos secuencias genómicas de *H. pylori* donde se descubrió una familia grande de 32 proteínas de membrana externa (proteínas Hop) que incluyen a las adhesinas de *H. pylori* y el descubrimiento de muchos genes que pueden activarse o desactivarse por pérdidas de pares mediante adhesión a la mucosa gástrica, la cual se inicia a través de varias adhesinas. Las adhesinas son proteínas gliconjugadas o lípidos bacterianos involucrados en el inicio de la colonización.¹²⁹

Los códigos de las proteínas son pares de genes muy variables que incluyen enzimas que modifican la estructura antigénica de la superficie molecular, controlan la entrada ADN desconocidos dentro de la bacteria y la influencia de la motilidad bacteriana. El genoma de *H. pylori* cambia continuamente durante la colonización del huésped por la importación de pequeños pedazos de material de ADN extraños de otra *H. pylori* extraída durante la persistencia o infecciones transitorias mezcladas.

Después de ser ingerido, la bacteria tiene que evadir la actividad bactericida del contenido gástrico y entrar a las paredes de la mucosa.

La producción de ureasa y la motilidad son esenciales para el primer paso de la infección. Se han propuesto varios mecanismos de virulencia para *H. pylori*, la enzima llamada ureasa tiene un peso molecular de 550 kDa, esta formada por dos subunidades denominadas como UreA y UreB y es unas de las proteínas más abundantes secretadas por el mismo microorganismo. La ureasa necesita como cofactor al níquel. Juntos hidrolizan la urea produciendo amonio y dióxido de carbono, lo que permite a la bacteria rodearse de un medio alcalino protegiéndose de la secreción ácida gástrica.

La actividad enzimática esta regulada por un gradiente de pH-entrada al canal de urea, UreI, que se abre con un pH bajo y cierra el influjo de urea debajo de condiciones neutrales.¹³⁰

La motilidad es esencial para la colonización, los flagelos de *H. pylori* se han adaptado al nicho gástrico. *H. pylori* posee varios flagelos que le dan gran movilidad. Estos están compuestos por proteínas llamadas flagelinas, cuyo peso molecular es aproximadamente 50,000 a 60,000 kDa. Las flagelinas están codificadas por los genes FlaA y FlaB.^{131,132}

H. pylori se puede adherir a las células epiteliales por múltiples componentes de superficie bacteriana. Una vez que *H.pylori* alcanza la capa epitelial, la bacteria se adhiere a través de varias adhesinas como BabA, SabA, AlpA, AlpB y HopZ. La adherencia de la bacteria a los receptores de las células del huésped induce cambios celulares, los cuáles incluyen una señal de transducción, permitiendo la infiltración de las células inflamatorias como los neutrófilos y los monocitos. BabA, es la adhesina que más se ha estudiado, utilizando para su caracterización la cepa *H.pylori* CCUG17875. Esta adhesina facilita la unión del microorganismo a los antígenos Lewis b. La adhesina BabA contiene dos copias del gen babA denominadas como babA1 y babA2. La cepa que contiene el gen babA2 codifica para una proteína funcional de la membrana externa, la cual se une al antígeno Lewis b; la babA1 tiene una pérdida de un segmento de 10 nucleótidos que contiene el codon de inicio para la traslación, lo cual induce una delación.¹³³

Algunas otras membranas de la familia de proteínas Hop, (HopZ, HopQ –HopQ1 y HopQ2-) también son mediadores de adhesión para células epiteliales.¹³⁴ Evidencia acumulada en modelos animales sugieren que la adhesina, particularmente por la BabA, es relevante en *H. pylori* asociada a enfermedades y puede influir en la severidad de la enfermedad, aunque los resultados de varios estudios son contradictorios.^{135,136}

La mayoría de la extracción de *H. pylori* expresa 95-kD citotoxina vacuolizante VacA, es una exotoxina secretada. La toxina se inserta dentro de la membrana del epitelio celular y forma hexámeros selectivos de aniones, voltaje depende del canal mediante el cual el bicarbonato y lo aniones orgánicos pueden liberarse, previendo posiblemente a la bacteria de nutrientes. La meta de la VacA es la membrana de la mitocondria, donde causa una liberación del citocromo *c* e induce apoptosis. El rol patogénico de la toxina aún esta debatido.^{137,138} Las mutaciones negativas de VacA, pueden colonizar en modelos animales y extracciones con genes inactivos de VacA se han aislado de pacientes, indicando que la VacA no es esencial para la colonización. Sin embargo, la mutación negativa de VacA estuvo fuera de la competencia por un tipo de bacteria silvestre en un modelo de ratón, indicando que la VacA incrementa el comportamiento bactericida en este modelo.¹³⁹ El análisis del rol de enfermedad de la VacA es

complicado por la extensa variabilidad en la VacA. En países del oeste, la variación genética de la VacA está asociada a un mayor número de enfermedades.¹⁴⁰ Sin embargo, asociación similar no se ha encontrado en Asia y la función de la asociación es desconocida.

Ambas cepas secuenciadas tienen una isla de patogenicidad (una secuencia de genes que se cree que participa en la capacidad infecciosa de la bacteria) llamada Cag: Mide 40 kilobases de tamaño y contiene unos 40 genes, pero puede estar organizada de manera diferente, dependiendo de la cepa que se estudia, esta isla puede estar en una misma región continua o estar dividida en dos regiones cag I y cag II por secuencias del cromosoma bacteriano. Esta isla de patogenicidad está generalmente ausente en cepas de *H. pylori* aisladas de humanos con infecciones asintomáticas.

El gen *cagA* codifica una de las proteínas de virulencia mayoritarias en *H. pylori*. Las cepas bacterianas que tienen el gen *cagA*, están asociadas con la habilidad de causar úlceras severas. Este gen codifica la síntesis de una proteína relativamente larga (1.186 aminoácidos). La proteína CagA ingresa al interior de las células humanas donde interrumpe el normal funcionamiento del citoesqueleto. La isla de patogenicidad Cag, tiene unos 30 genes que codifican un complejo de transporte (sistema de secreción tipo IV). Después de fijarse a las células epiteliales del estómago, la proteína CagA es inyectada dentro de la célula por este sistema de secreción. La proteína CagA es fosforilada en un residuo específico de tirosina por proteínas de membrana de la célula huésped. Se ha visto que cepas patógenas de *H. pylori* activan el receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR en inglés), una proteína de membrana con tirosina quinasa. La activación del EGFR por *H. pylori* está asociado con alteraciones en las señales de transducción y de expresión génica en las células huéspedes y éste hecho puede contribuir a su patogenicidad. También se ha sugerido que la región C-terminal de la proteína CagA (aminoácidos 873-1002) podría regular la transcripción genética de la célula huésped, independientemente de la fosforilación. Se piensa, debido al bajo contenido GC del gen *cagA* en comparación con el resto del genoma, que este gen fue adquirido por transferencia horizontal desde otra bacteria *cagA*⁺.¹⁴¹

La mayoría de las extracciones de *H. pylori* poseen la patogenicidad de *cag* (*cag*-PAI), en el fragmento genómico 37 kb conteniendo 29 genes. Algunos de estos fragmentos encodificados son predictivos del sistema de secreción tipo IV (SST4) que transloca a la proteína CagA 120 kD dentro de la célula hospedera. Después de entrar al epitelio celular, la CagA es fosforilada y una parte para SHP tirosina fosfatasa, dejando al

factor de crecimiento como respuesta celular y la producción de citocinas por la célula hospedadora¹⁴². Recientes investigaciones están demostrando el papel de Cag mutantes, como CagN del gen HP0538, el cual lo han descrito como intermediario y liberador variable de CagA e inductor de IL-8, mientras otros han encontrado que CagN está localizado en la membrana bacteriana y no es sustrato para el SST4, que está ligada al termino C y q solo bloquea parcialmente el sitio de anclaje.^{143,144}

Existen otras enzimas como las fosfolipasas A2 y C, que tienen un papel importante dentro de la patogenia de *H. pylori*, al degradar los componentes lipídicos de la mucosa que le proporciona integridad.¹⁴⁵ Igualmente existen otras enzimas relacionadas con la actividad proteolítica como la catalasa y superoxidasas dismutasa que protegen a la bacteria de los metabolitos tóxicos, productos de procesos oxidativos de defensa de los macrófagos y neutrófilos.^{146,147}

Otro factor de virulencia es el lipopolisacárido (LPS) que posee en su antígeno "O" los carbohidratos de Lewis "X" ó Lewis "Y" ó ambos. Los antígenos de Lewis son glicoconjugados con diferente número de residuos de fucosa, los cuales pueden ser de 4 tipos: Le^a, Le^b, Le^x y Le^{Y2829}.¹⁴⁸ Los antígenos de Lewis participan en la patogénesis ayudando al microorganismo a evadir la respuesta inmune durante la colonización en el estómago, favoreciendo a la bacteria su permanencia en el nicho gástrico, y por lo tanto induce 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.¹⁴⁹

Se ha asociado a la infección de *H. pylori* con la producción de citocinas proinflamatorias interleucinas (IL)-1 β , IL-6, IL-8 y factor de necrosis tumoral- α (TNF- α).¹⁵⁰ Cuando *H. pylori* coloniza las células del epitelio gástrico, se ha asociado que IL-17 induce la síntesis de IL-8 y que depende menos de la activación ERK 1/2 MAP cinasa.¹⁵¹ Se ha estudiado la combinación de diferentes vías de señalización transduccional por Cag PAI y OipA, las cuales conducen a una máxima inducción de IL-6.^{152,153} Investigaciones recientes han demostrado que la IL-8 induce el factor nuclear kappaB.^{154,155} La producción de estas citocinas proinflamatorias se ha vinculado con alteraciones en gastrina, somatostatina y secreción ácida, en el génesis de la gastritis y ulceración.^{3,156}

Histopatología gástrica

Helicobacter gástrico en caninos y felinos han sido sospecha de inducción de gastritis a partir de hallazgos histológicos. Los cambios histológicos como inflamación, folículos linfoides y degeneración de las glándulas gástrica y células parietales en presencia de *Helicobacter* gástrico, se han asumido como indicadores de patogenicidad de estos organismos.^{1, 113,66,112,52} Sin embargo, como estos cambios han sido detectados no solo en perros y gatos con padecimientos de signos gastrointestinales, sino además en perros y gatos clínicamente saludables. Se ha especulado que *H. felis* y *H. bizzozeronii*, pueden diferir en su patogenicidad, *H. felis* es más patógena que *H. bizzozeronii*, esto es basado en efectos citopatogénicos.^{157,158} En modelos experimentales de animales, *H. felis* ha demostrado que induce gastritis en ratas^{159,160,161} y similarmente *H. pylori* induce gastritis atrófica en un largo término en ratones. Sin embargo, la evidencia fuerte de la patogenicidad de *Helicobacter* gástrica en caninos y felinos es escasa, algunas características de *H. pylori* en humanos quizá puedan aplicarse para *Helicobacter* presentes en animales.

Métodos de diagnóstico

El diagnóstico de gastritis asociada a *Helicobacter* spp. se basa en diferentes técnicas que pueden agruparse en dos grandes categorías: técnicas invasivas, que requieren la obtención de muestras de mucosa gástrica tomadas por endoscopia digestiva alta y técnicas no invasivas, que permiten el diagnóstico de la infección sin someter al paciente al procedimiento por endoscopia. La elección de las pruebas puede estar relacionadas con las circunstancias clínicas, rango de probabilidad de la prueba de positivo o negativo, costo-beneficio de la prueba estratégica y disponibilidad de la prueba en el país.^{162,177}

Pruebas invasivas

Los métodos invasivos incluyen la toma de biopsias por endoscopia, el examen histológico de muestras de mucosa gástrica, que permite además de la detección de la bacteria, la identificación de las lesiones histológicas asociadas a los microorganismos y el cultivo microbiológico a partir de este mismo tipo de muestras, necesario para clasificación y la determinación del nivel de sensibilidad antibiótica de las cepas aisladas. Además que requieren un manejo de transporte óptimo para el procesamiento de las pruebas.^{163,164}

Prueba de ureasa rápida

Es una prueba de bajo costo y permite en un lapso de tiempo (hasta una hora) obtener un diagnóstico. Al producir ureasa el *Helicobacter* hidroliza urea, se forman iones de amonio, aumenta el pH de la solución y se produce un viraje del color del indicador. Se dispone de varias pruebas basadas en la ureasa CLO-test, el caldo de urea de Chirstensen y soluciones de urea a concentraciones variables, todas ellas con sensibilidad y especificidad elevada. La concordancia y el valor predictivo positivo ronda al 100% cuando se comparan los resultados de la prueba de ureasa con los métodos histológicos.

Este procedimiento consiste en introducir una porción de biopsia gástrica en una solución de urea a la que se le incorpora un indicador de pH como rojo fenol. El microorganismo presente en la muestras cataliza la degradación de urea generando amonio y bicarbonato. Esta reacción un aumento de pH y da lugar a un viraje de amarillo a rojo o rosa.^{21,165,12177} Entre sus desventajas cabe señalar la posibilidad de aparición tanto de resultados falsos positivos, debido a la existencia de microorganismos contaminantes capaces de metabolizar la urea, como de resultados falsos negativos, en el caso de la presencia de cepas de *Helicobacter* metabólicamente inactivas.⁴³

Esta prueba ha sido muy empleada en las investigaciones y práctica de Medicina Veterinaria, debido a su bajo costo y fácil acceso.¹⁷⁷

Citología

La técnica de citología gástrica por cepillado se ha descrito como de mayor sensibilidad y especificidad en animales¹⁷⁷ y en humanos se ha demostrado resultados similares y superiores con la histopatología, con la diferencia de un costo muy reducido.^{166,167} Además es una posibilidad para agilizar la detección de esta bacteria, la técnica consiste en el examen microscópico sobre improntas realizadas a partir de las muestras gástricas teñidas mediante la tinción de Gram, naranja de acridina o bromuro de etidio.

Histología

Permite la observación del microorganismo espiral y el análisis anatomopatológico de la muestra gástrica y los posibles cambios originados (gastritis crónica con nódulos linfoides). Existen diferentes tipos de tinciones que, sin ser específicas para *Helicobacter* spp., permiten su detección.^{1, 3,177,168,169}

Las tinciones utilizadas para la detección histológica de *Helicobacter* spp. destacan la de Warthin-Starry y hematoxilina-eosina. Sin embargo, debido a su sencillez y bajo costo, la tinción de Giemsa puede considerarse de elección para el diagnóstico histológico en muestras gástricas. La tinción modificada de Steiner aporta una visualización contrastada de fácil interpretación. Los procedimientos histológicos requieren un mínimo de dos días para su realización.^{1,32,88}

Inmunohistoquímica

La inmunohistoquímica (IHQ) se basa en la utilización de un anticuerpo específico, previamente marcado mediante un enlace químico con una enzima que puede transformar un sustrato en visible, sin afectar la capacidad del anticuerpo para formar un complejo con el antígeno. El complejo antígeno anticuerpo, mediante la utilización de alguna de las técnicas específicas (peroxidasa antiperoxidas, fluoresceína, avidina biotina peroxidasa, etc.) permite ser localizado e identificado dentro de la muestra.

En las técnicas de inmunofluorescencia se utilizan marcadores compuestos de fluoresceína que bajo la luz ultravioleta emiten luz de longitud de onda visible, que depende de la naturaleza del compuesto. El isotiocinato de fluoresceína emite luz verde amarilla intensa. Estas técnicas necesitan muestras en fresco y congeladas, sin fijación convencional, porque los antígenos están presentes en superficies celulares o son muy lábiles a la fijación en formalina. La inmunofluorescencia directa, es decir con anticuerpos conjugados con fluoresceína, se aplica corrientemente en el diagnóstico de las enfermedades cutáneas en donde tiene indicación y utilidad muy precisas como en enfermedades ampollares, vasculitis y mesenquimatosas. Está técnica a pesar de ser muy sensible, presenta inconvenientes como la falta de permanencia de la fluorescencia, requiere de microscopía especializada y el detalle morfológico es pobre. Es necesario fotografiar la reacción, para documentar el caso.

En la técnica de inmunoperoxidasa se utilizan como marcadores enzimas capaces de hacer cambiar de color un sustrato incoloro. Las enzimas más frecuentemente utilizadas son peroxidasa, fosfatasa alcalina, sustratos diaminobenzidina (color pardo), aminoetilcarbazol (color rojo) y nitroazul de tetrazolio (color azul). Estos marcadores pueden unirse (conjugarse) directamente al anticuerpo primario o bien indirectamente mediante otros anticuerpos (secundarios) o sustancias como biotina o poteína A.¹⁷⁰

La IHQ para *H. pylori* es considerada como una herramienta útil de diagnóstico; esta es altamente específica y tiene una alta sensibilidad que el cultivo bacteriológico y otros

métodos de tinción histológica clásica. Esta técnica es suficientemente sensible para identificar un bajo número o incluso un solo organismo y más preciso que otros métodos para identificar *H. pylori* después de la antibioterapia específica. La IHQ ha sido poco empleada en estudios de diagnóstico y como objetivo de estudio de patogénesis de la infección de *Helicobacter* spp. gástrico en medicina veterinaria.^{171,172} Se realizó un estudio en Tailandia a partir de 75 biopsias gástricas de caninos con el anticuerpo anti-*H. pylori* policlonal de conejo encontrándose positivos 30.7% (23/75).¹⁷³

Microscopía electrónica

Tres diferentes tipos morfológicos de gastroespirales se observaron en 1950's y 1970's a partir de muestras de tejido de la mucosa gástrica de caninos y felinos las cuales fueron examinadas por microscopía electrónica.^{104,174,5} Esto ha permanecido como el estudio más detallado que se ha realizado hasta la fecha sobre la morfología de esta bacteria.¹¹² Estudios recientes han notificado que la bacteria espiral sin fibrillas periplasmáticas es la que se ha encontrado comúnmente en la mucosa gástrica de perros y gatos. Basados en el tamaño y diámetro del organismo, número de espirales, número de flagelos.¹⁷⁵ Aunque las células se parecen a *H. felis* parecen ser comparativamente infrecuentes.^{6,176,113,105,177,178}

La sensibilidad de la técnica de la microscopía electrónica para detectar gastroespirales es más baja que las pruebas de la ureasa e histología.¹⁷⁷ Esto puede suceder debido a la pequeña área de superficie que se está investigando por el microscopio electrónico (figura 1).^{89,177}

Cultivo

El cultivo permite detallar la caracterización de los aislamientos y la susceptibilidad antimicrobiana. Se han publicado varios informes de técnicas de cultivo y medio de crecimiento para *H. pylori*.^{179,180}

Cultivar *Helicobacters* gástrica de perros y gatos es muy difícil y laborioso. Se debe utilizar un adecuado medio de transporte. Este es un método diagnóstico con alta sensibilidad y especificidad (del 100%), imprescindible para la investigación y el estudio de sensibilidad a los antimicrobianos de las distintas cepas y el fracaso del tratamiento erradicador. El aislamiento de *Helicobacter* es un medio de cultivo se sitúa como el patrón de referencia en el diagnóstico. La muestra debe transportarse en medio adecuado y de menor tiempo posible, dado a la sensibilidad del *Helicobacter* a la

deseccación y las condiciones ambientales. Por otro lado es una técnica no rutinaria, indicada para el uso de fracasos terapéuticos y que requiere cierto tiempo hasta obtener el resultado diagnóstico. El cultivo de *Helicobacter* puede realizarse en medios no selectivos enriquecidos con agar nutriente (sangre y otros elementos, y medios selectivos como 2,3,5-trifeniltetrazolio (TTC) y suplementos antibióticos) el medio de Skirrow es el más utilizado.¹⁸¹

El cultivo de este microorganismo debe realizarse lo más pronto posible tras la obtención de la biopsia. En caso de demora se puede mantener la muestra a 4° C en un medio de transporte como suero salino, solución de gincónsa al 20%, BHI con un 1% de suero, sueroalbúmina bovina a 0,5% suplementada con catalasa al 0,1% o medio de Stuart. Se han descritos medios de transporte bifásicos que incorporan diversos agentes antimicrobianos para evitar la contaminación con otras bacterias. Las muestras de mucosa gástrica pueden congelarse a -70° C permitiendo la recuperación de la bacteria después de varios meses tras su obtención. La siembra se realiza mediante impregnación de la biopsia en el medio de cultivo sólido, presionando con una torunda estéril o un asa de aislamiento. Una alternativa es la homogenización de la muestra previa a su siembra. Existe una amplia gama de medios sólidos de cultivo para el aislamiento de este microorganismo. Algunos medios no selectivos de uso habitual, como agar sangre o agar chocolate, resultan útiles en muestras con bajo índice de contaminación. En estos medios las colonias de *Helicobacter pylori* aparecen grisáceas y aproximadamente de 1 mm de diámetro. Se puede sustituir la sangre de caballo o carnero por carbón, yema de huevo, almidón o ciclodextrina. En ocasiones se incluye hemina, isovilatex, suero fetal bovino, extracto de levadura o BHI como (3-10 mg/L), cef-sulodina (5mg/L) o anfotericina (2-10 mg/L) proporciona una selectividad adecuada para el aislamiento del microorganismo.

La tasa de crecimiento de la bacteria se puede elevar cuando se siembra más de una biopsia por cada paciente (antral y cuerpo) y cuando se utilizan conjuntamente varios medios de cultivo. Se recomienda la incubación de todos estos medios en una atmósfera microaerofílica con un 5-10% de CO₂, 5-10% de O₂ y 80-90% de N₂ a 37°C durante al menos 7 días. Un suplemento de un 5-8% de hidrógeno puede potenciar el crecimiento del microorganismo. La incubación de las placas en estufa de CO₂ (10% de CO₂ y humedad relativa del 98%) permite también el crecimiento de este bacilo, aunque parece que en estas condiciones el porcentaje de aislamiento primario puede reducirse.

La identificación del microorganismo es sencilla y puede obtenerse mediante reacciones positivas para catalasa, oxidada, ureasa. La tinción de Gram de las colonias muestran los típicos bacilos curvados Gram negativos.

Reacción en Cadena de la Polimerasa (RCP)

El PCR (Reacción en Cadena de la Polimerasa) es una técnica cualitativa y es un método poderoso para la detección de un bajo número de bacteria de material clínica y no se requiere a la bacteria viable.^{182,183} Si tan solo se aplica el diagnóstico de *H. pylori* por amplificación directa de ADN de muestras de biopsias. La precisión varía mucho junto con inhibidores de biopsia gástrica, la elección de iniciadores y la reacción PCR hecha.¹⁸⁴ No obstante, un buen diseño de PCR es superior a otros métodos en términos de sensibilidad cuando se detectan *Helicobacter* gástrico a partir de saliva, placa dental, jugo gástrico o heces y son además pruebas no invasivas.^{185,186,187,188} El ensayo de PCR cuantitativos tienen además un desarrollo estimado de la severidad de infección con *H. pylori* y *H. felis*.^{189,190} Sin embargo, el uso de PCR basado en métodos tiene un riesgo de resultados falsos positivos. Actualmente PCR no se utiliza de rutina para detección de *Helicobacter* gástrica en medicina veterinaria, sin embargo en investigación veterinaria se ha utilizado en diferentes especies encontrándose nuevos tipos de especies.^{4,191,192,193,194}

La técnica de hibridación *in situ* se ha desarrollado exitosamente para identificar *H. pylori* de fijación-formalina, tejidos fijados en parafina. El método FISH, sonda de ácidos nucleicos se produce por una selección, clonación y sintetización de la secuencia genómica específica para un grupo particular de agentes infecciosos, esta sonda cambia de hibridación con el blanco ADN o ARN del espécimen.^{195,196,23}

Identificación y tipificación molecular de aislamientos de *Helicobacter*

La identificación preliminar de especies de *Helicobacter* está hecha con base en características morfológicas y de motilidad determinadas *in vivo* por microscopía electrónica y pruebas de ureasa positiva. *Helicobacter* son helicoidales, Gram negativos y son organismos catalasa positivos. Una exacta identificación de especies de *Helicobacter* requiere examinación morfológica por microscopía electrónica, bioquímicas, pruebas fenotípicas y de tolerancia, así como métodos moleculares de cultivos de *Helicobacter*.^{36,121,4}

Genotipificación es una tipificación basada en el ADN de la bacteria, se utiliza un ADN microbial como blanco para analizar la variación de la secuencia y sitios de restricción a un nivel en el genoma completo o en un loci específico. Comparación de genotipos entre especies provee información de la relación de las variedades. Esta información puede ser utilizada para encontrar la raíz de la infección en epidemias o seguir la transmisión de un agente infeccioso en una población de animales o humanos.¹⁹⁷

Los métodos utilizados para genotipificación incluyen ribotipificación y electroforésis de gel en campo pulsado. En ribotipificación, el ADN digerido está hibridizado con ADNr 16S, ADNr 23S o 16S + 23S ADNr probes.¹⁹⁸ En la electrofóresis de gel de campo pulsado, con enzimas de corte, un número restringido de fragmentos se producen por la electrofóresis.

Los métodos de tipificación molecular ha sido aplicados para estudiar la diversidad de *H. pylori* aislamientos de varias áreas geográficas.¹⁰⁹ Métodos similares han sido utilizados para tipificación de *H. mustelae*, *H. bizzoeronii*, *H. salomonis* y *H. felis*.

Inserción de un plásmido

La ventaja de este método es su simplicidad y bajo costo, pero un mayor número de desventajas. No todas las variedades de bacterias pueden acarrear un plásmido, pueden perder plásmidos en subcultivos y las bandas obtenidas son relativamente bajas y por lo tanto este poder discriminatorio es bajo. Además, particularmente los plásmidos pueden aparecer después del aislamiento con varias bandas como supercoloide, circular relajado o ADN lineal con diferentes movilidades electroforéticas.¹⁹⁹ De todas las especies de *Helicobacter* solo *H. pylori* ha sido estudiada por este método y aproximadamente el 35% de las variedades examinadas tuvieron un plásmido insertado.²⁰⁰

Polimorfismo de longitud de fragmentos de restricción (RFLP)

Son las variaciones en las bases nitrogenadas en el sitio donde una enzima de restricción corta un segmento de ADN. Estas variaciones afectan el tamaño de los fragmentos que resultan del corte. Los RFLP se pueden utilizar como marcadores en la construcción de mapas físicos y de ligamiento. La mayoría de los científicos ya no usan RFLP para estudiar la variación humana, sino que miran las secuencias en una forma más precisa, usando polimorfismos de un solo nucleótido (snips) o microsatélites.

El primer genoma completo de ADN se aisló de células bacterianas, esto se digirió con enzimas de restricción que cortaron el ADN en fragmentos aproximadamente de 1000

a 2000 pares de bases (pb) de largo. Esto se separa electroforéticamente de acuerdo al tamaño en gel de agarosa para dar el complejo genómico de "huella digital". Este patrón puede ser analizado y almacenado en archivos de cómputo y comparados con otros archivos. La desventaja de este método es su amplia aplicabilidad y su uso universal, mientras que las desventajas incluyen una ADN de calidad buena y puro para el análisis y un complejo patrón de fragmentos de ADN excepcional, esto debido a su difícil interpretación.²⁰¹ Como el número de bandas generadas por enzimas de restricción son numerosas, reduciendo el número de los componentes de las bandas se puede facilitar la interpretación de los datos. La transferencia del ADN del gel de agarosa para la membrana (Southern blotting) y posteriormente aplicar la membrana, en donde se hibridiza solo los fragmentos de subconjuntos de ADN que pueden ser específicamente reconocidos por la prueba. La variación y posición de números de estos fragmentos son llamados fragmentos de restricción de polimorfismo largo ("restriction fragment length polymorphism", RFLP).

La mayoría utiliza para esta prueba el ADN ribosomal, generalmente 16S, 23S o 16 + 23S genes ARNr, que están presentes en varias copias seguidas de la mayoría de las bacterias. Este método se llama ribotipificación. Este método de tipificación ha sido ampliamente adoptado, porque la misma pruebas universales (usualmente derivadas de ADNr de *E. coli*) pueden ser utilizadas para diferentes especies y la mayoría de estas especies anidan múltiples copias de operon ARNr.²⁰² Este patrón de bandeo se compone de varias bandas que fueron obtenidas, dependiendo de los sitios de anclaje de la enzima de restricción dentro de la prueba. El poder discriminatorio es bueno con varias especies bacterianas que acarrean múltiples copias de operones de ARNr. El principal beneficio de la ribotipificación está en patrón de bandeo simple, buena reproductibilidad y automatización. Entre las desventajas se incluye el procedimiento laborioso, tomando varios días al utilizar el procedimiento estándar y el bajo potencial discriminatorios que es aplicado para algunas especies bacterianas. Sin embargo, esta herramienta taxonómica es ampliamente aceptada como método para identificación de especies y con algunos grupos difíciles de bacterias ha brindado beneficios. Además, se ha desarrollado un sistema de ribotipificación automatizada (Riboprinter®, Qualicon Inc., DE, USA). Esto está altamente automatizado, solo necesita un cultivo de células bacterianas y da la respuesta en 8 horas, todavía este equipo es relativamente costoso y no se encuentra en la mayoría de los institutos de investigación.

Electroforesis en campo pulsado (PFGE)

Uno de los métodos de tipificación discriminatorios es PFGE porque detecta las mutaciones en cualquiera de los sitios de anclaje de las enzimas de restricción utilizadas. En este método, las células bacterianas son fijadas en bloques de agarosa en orden para obtener el ADN intacto. Los bloques son rebanados para la digestión de enzimas de corte-diferente (comúnmente se utiliza reconocer de 6 a 8 pb por sitio). El resultado de los fragmentos de ADN son relativamente largos (entre 10~1000 kb) y serán separadas bajo condiciones electroforéticas específicas.²⁰³

El gel con varias rebanadas esta dentro en un lugar dentro de la cámara corriendo y es cruzado por varios rayos hexagonales de electrodos, formando el campo pulsado. Este cambio en las condiciones electroforéticas causa que el ADN se mueva a lo largo del gel, desde atrás y de regreso, resultando una alta resolución facilitada por este método. La elección de las enzimas se relaciona con el objetivo, si se desea la determinación del tamaño del genoma, relativamente algunas bandas son elegibles, mientras que para los propósitos de tipificación se prefiere la suma de 20-40 bandas.

La principal desventaja del PFGE es el poder discriminatorio y el relativo patrón de bandeo simple, pero el procedimiento de aislamientos de ADN largos y laboriosos, donde la digestión de las muestras puede tomar algunos días para obtener resultados.²⁰⁴

Además esto representará el genoma completo bacterial en un solo gel y resulta altamente reproducible. Cuando comparamos epidemiológicamente las variedades relacionadas, podemos determinar que los patrones indistinguibles representan los clones del mismo estallido o raíz. Además los patrones con dos o tres bandas diferentes (cambios genéticos en el sitio de reconocimiento de la enzima) esto se ha considerado con probable relación. Se ha mostrado que algunas especies bacterianas muestran este fenómeno cuando fueron subcultivadas por un período ó aislamiento de variedades múltiples a partir de pacientes. Dos variedades se consideran posiblemente relacionadas si una diferencia de 4-6 fragmentos esta presente y si un aislamientos no es el mismo antecesor si aparecen >7 bandas de diferencia. Además, el PFGE puede ser utilizado para determinar el tamaño del genoma por una suma de los resultados de los fragmentos.

Grandes registros computarizados mantienen una promesa para el futuro. En el presente, los patrones de PFGE seleccionados de patógenos de están en la comida (principalmente *Escherichia coli* y salmonella) pueden ser comparadas rápidamente en tiempo real a través de Internet, como PulseNet. Esta red permite comparar rápidamente los patrones

de PFGE a través de registros establecidos en el Centro de Control de Enfermedades y Prevención in Atlanta, EUA (<http://www.cdc.gov/ncidod/dbmd/pulsenet.htm>).

La diversidad genética de *H. pylori* ha sido estudiada por PFGE.²⁰⁵ Además la diversidad genética de dos helicobacter, *H. mustelae* y *H. hepaticus* han sido determinados con PFGE y marco menos que en *H. pylori*.^{206,207} El tamaño del genoma de *H. pylori*, *H. mustelae* y *H. hepaticus* ha sido además determinado con la técnica de PFGE y un rango entre 1.3 a 1.8 Mb. El genoma completo de la variedad *H. pylori* fue secuenciado en 1997.²⁰⁸

Reacción en Cadena de la Polimerasa - Transcriptasa Reversa (RT-RCP)

Es la técnica más sensible para la detección de ARNm y cuantifica la disponibilidad que se encuentra, es un hecho que esta técnica es suficientemente sensible para cuantificar el ARN de una sola célula. Requiere de una transcriptasa inversa, como Tth (*Thermus thermophilus*). En el caso de la técnica Taíman una qRT-PCR (PCR cuantitativa empleando ARN como molde). Permite la detección de la cantidad de ADN específico empleando un tercer cebador, una sonda, unida a dos fluorocromos que, cuando la sonda esta intacta presencia una transferencia energética de fluorescencia por resonancia (FRET). Dicho FRET no se produce cuando la sonda esta dañada y los dos fluorocromos están distantes, esto sucede cuando la polimerasa se sitúa a nivel de la sonda y la degrada mediante su actividad 3'-5' exonucleasa, o que permite monitorizar el cambio del patrón de fluorescencia y deducir el nivel de amplificación del gen. Las investigaciones realizadas utilizando este método son muy pocas aún, en el 2004 en humanos donde se evaluó la fisiología del estómago *in vivo* con *Helicobacter pylori*,²⁰⁹ más tarde Osaki y colaboradores realizan un estudio sobre mutación de *Helicobacter pylori* en ratas del desierto.²¹⁰ En la Universidad de Texas se desarrolló una técnica de PCR en tiempo real cuantitativa que permitió determinar el número de copias del gen *ureC*. Teniendo en cuenta que existe una única copia de este gen en el genoma de *H. pylori* permitiendo realizar una cuantificación del número de bacterias que se encontraban en la mucosa, realizando una curva estándar que mantiene una relación lineal a diferentes concentraciones de ADN, pudiéndose detectar hasta mil bacterias.²¹¹

Pruebas no invasivas

Por lo general son de bajo costo y fácil acceso, son ampliamente utilizadas en medicina humana. Estas pruebas son muy específicas, pero poco sensibles. Estas son las pruebas

serológicas, prueba de aliento de urea de aire espirado C13 y C14 y detección de antígenos de *Helicobacter* en muestras fecales.

Pruebas serológicas

La medición de anticuerpos circulantes (IgG) a *H. pylori* es una forma sensible y específica de diagnóstico no invasivo de la infección por *Helicobacter* en humanos, y ha facilitado la investigación de la frecuencia y la identificación de los factores de riesgo para la infección.^{212,213,214}

La serología es de valor limitado en la evaluación de la respuesta de la infección al tratamiento antibiótico y antiácido, ya que los títulos de anticuerpos pueden declinar lentamente después de la erradicación del organismo. La serología puede ser poco fiable en pacientes cuya respuesta inmunitaria es inadecuada, como en los individuos inmunodeficientes y los pacientes muy jóvenes o muy viejos.

Es una prueba sencilla y barata, basada en la detección de anticuerpos específicos frente a antígenos de *Helicobacter* como consecuencia de la reacción inmunológica local sistémica del individuo. Dada la permanencia de anticuerpos en el período comprendido entre los 3 y 6 meses inmediatamente posteriores al tratamiento, las pruebas serológicas indican únicamente infección previa por *Helicobacter* y no discriminan entre pacientes con infección activa y enfermedad en aquellos pacientes infectados pero asintomáticos.

Los perros son comúnmente infectados con *Helicobacter* spp. gástrico, pero la presencia de múltiples especies de *Helicobacter* y la posibilidad de coinfección en un mismo perro ha complicado la evaluación serológica. Un estudio en Nueva York demostró la evaluación de antígenos homólogos de *Helicobacter* spp., revelando que las bandas de proteínas principales de *Helicobacter felis* y *Helicobacter bizzozeronii*, dos tipos de *Helicobacter* spp. que infectan a los perros, fueron muy similares para UreA (29 a 31 kDa), UreB (63 a 66 kDa) y HSP (58 a 60 kDa) de *H. pylori*, y el suero de perros infectados y no infectados mostró el mismo patrón para cada antígeno.³⁰

El valor de la serología como método de control es muy limitado, aunque resulta útil en estudios epidemiológicos o cuando no se puede realizar la endoscopia u otros métodos diagnósticos en casos sin terapia erradicadora.²¹⁵

Prueba de aliento de urea en aire espirado C13 ó C14

La producción de ureasa por las helicobacterias se ha usado también como base para la "prueba del aliento", para diagnosticar de forma no invasiva o para determinar los

efectos del tratamiento en humanos con infección por *Helicobacter*. La recogida de muestras de aliento después de una dosis oral de 13 o 14 C-urea se puede usar para determinar la infección, ya que las helicobacterias producen ureasa que descompone la urea en el estómago hasta formar 13 o 14 C -HC₃ que es absorbido, transformado en 13 o 14 C-CO₂ y puede medirse en el aliento. Esta prueba ha demostrado ser extremadamente útil para el diagnóstico no invasivo de la helicobacteriosis en humanos, monos y cerdos y para evaluar la respuesta al tratamiento.

Esta prueba se ha utilizado para control de la infección y consiste en medir el CO₂ en el aliento. Se realiza mediante la administración por boca Carbono-marcado/Urea y mezclado con ácido cítrico, si el paciente tiene *Helicobacter pylori*, mediante la ureasa producida por esta bacteria, se transformará en CO₂ y amoníaco.

El CO₂ liberado a través de la sangre aparecerá en el aliento a través del pulmón. La medición del CO₂ marcado se realiza en dos tomas, basal y a la media hora de tomar el Carbono-Urea. La sensibilidad del test es del 90% y es específico en más del 95% en humanos. Mediante este análisis se puede dar por controlada la infección o seguir con un tratamiento más prolongado.

La prueba de aliento C13-urea ha sido evaluado en perros y gatos, demostrando la colonización de *Helicobacter*, como un método exitoso para animales.^{216,217} Sin embargo, los inhibidores de la bomba de protones y receptores antagonistas de histamina-H₂, disminuyen la actividad de la ureasa de *Helicobacter* spp., por eso el tiempo para realizar esta prueba después del uso de antibióticos y antisecretores es muy importante.^{218,219}

Detección de antígenos de *Helicobacter* en muestras fecales.

Las técnicas de PCR y cultivo han sido utilizadas para detectar *H. pylori* y ADN de *Helicobacter* a partir de muestras fecales.²²⁰ Además, el inmunoensayo de la enzima (EIA) para detección de antígenos de *H. pylori* en heces (HsSA) ha sido descrita.²²¹ Este método EIA no invasivo está comercialmente disponible (*HpSA Premier Platinum* HpSA, Meridian Diagnostics, Cincinnati, OH, USA), y ha demostrado ser una herramienta fidedigna y fácil para utilizar para diagnóstico de la infección de *H. pylori*. Hay un informe que describe el método de PCR para diagnóstico de *Helicobacter* en heces así como en placa dental de gatos infectados con *H. pylori*.¹⁸

Terapia de erradicación de *Helicobacter* gástrica

Hay algunos estudios que conciernen a terapias de erradicación en perros y gatos contra *Helicobacter* gástrica, pero los estudios preliminares, en el cual las combinaciones con amoxicilina, metrodinazol y famotidina u omeprazol fueron evaluados, mostrando que la terapia humana efectiva de erradicación de *H. pylori* puede aplicarse a gatos y perros, aunque se han reportado recurrentes infecciones después de estas terapias.^{216,222} Las terapias de multi-drogas han demostrado a nivel de campo los mejores resultados de erradicación en humanos. Los regímenes estudiados consisten en preparaciones de sales de bismuto, antagonistas receptores de H₂ ó inhibidores de la bomba de protones, en combinación con uno, dos o tres agentes antimicrobianos. La terapia triple estándar, dos agentes antimicrobianos: amoxicilina o tetraciclina en casos de alergias a penicilinas y metronidazol, fueron combinados con subcitrato de bismuto. En humanos, efectos colaterales de este régimen son diarrea, náusea, vómito y dolor abdominal, pudiendo causar una suspensión del tratamiento, por lo tanto el objetivo principal de estos regímenes es disminuir los efectos colaterales que se presenten.

Haponen propuso la triple terapia para perros con amoxicilina, metronidazol y subcitrato de bismuto, en caso de que falle se prescribe tetraciclina y omeprazol, sin embargo, no se garantiza la completa erradicación.²²³ Se ha mencionado que la administración de probióticos (*Bacillus clausii*, *Lactobacillus GG*, *Lactobacillus Bifidobacterium*) junto la triple terapia mejora los efectos colaterales producidos por la terapia antibiótica anti-*H. pylori*.^{224,225,226}

En el Reino Unido, algunas cepas de *Helicobacter pylori* han presentado resistencia al metronidazol y a la claritromicina. Se ha propuesto utilizar levofloxacina, lanzoprazol y amoxicilina como tratamiento de segunda línea.^{227,228}

JUSTIFICACIÓN

Helicobacter pylori es causa de gastritis aguda y crónica, ulceración; además de favorecer el desarrollo de neoplasias gástricas en humanos. Aunque *H. pylori* solo se ha diagnosticado en gatos y se ha reproducido de manera experimental en Beagles. Se dice que el riesgo zoonótico es mínimo; sin embargo, son muy pocos los estudios que demuestran esto, desconociendo el modo de transmisión, la patogenia de las especies de *Helicobacter* presentes en los animales, las cuales han sido encontradas en humanos, animales domésticos y silvestres.

HIPÓTESIS

En la mucosa gástrica de perros de casa clínicamente sanos hay *Helicobacter* spp. y su presencia se ve incrementada en perros callejeros sin evaluación clínica.

OBJETIVOS

1. Determinar la prevalencia, densidad de colonización y distribución de *Helicobacter* spp. en el estómago de perros así como los cambios histológicos asociados a su presencia.
 - Evaluar la asociación de densidad de colonización e inflamación gástrica.
 - Comparar una cantidad semicuantitativa de *Helicobacter* spp. con el grado de inflamación.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se realizó un estudio prospectivo, randomizado y a simple ciego sobre 46 perros de la Cd. de México, de los cuales 16 fueron perros de casa muestreados por endoscopia y 30 perros callejeros fueron muestreados por cirugía experimental.

Criterios de inclusión: Los propietarios de los perros de casa estuvieron consientes de la participación de sus perros en el estudio. Los perros de casa fueron muestreados por endoscopia y sometidos a procedimientos de rutina, como ovario histerectomía, castración y profilaxis dental.

Los perros que solo presentaban flatulencias se consideraron clínicamente sanos y se incluyeron en el estudio.

Criterios de exclusión: Perros de casa con signos de problemas gastrointestinales (vómito, diarrea, evidencia de dolor abdominal, estreñimiento, flatulencias) y que han recibido medicación durante un mes anterior con antibióticos ó anti-inflamatorios no esteroidales (AINES).

Animales: Los perros de casa se encontraron en un rango de edad de 6 meses a 8 años, y fueron perros de raza pura, los cuales fueron pacientes del Hospital Veterinario de Especialidades y Hospital Veterinario del Valle, en la Ciudad de México.

Los perros callejeros fueron perros mestizos y de diferentes razas provenientes de perreras del área metropolitana para el servicio de cirugía experimental de la FMVZ-UNAM, encontrándose en un rango de 8 meses a 12 años aproximadamente, no se realizo evaluación clínica. Al finalizar los procedimientos de toma de muestra y cirugía experimental los perros fueron eutanaziados con pentobarbital sódico y cloruro de potasio.

Endoscopia y biopsia gástrica: El alimento fue retirado 12 horas antes del estudio de la endoscopia. Los perros fueron anestesiados por vía IV o IM con acepromacina seguida con la administración de propofol y la anestesia se mantuvo con halotano. Los perros fueron colocados en decúbito lateral izquierda. El endoscopio flexibe marca Olympus Modelo PW-2L1 (diámetro exterior 9.5 mm; diámetro de canal de biopsia, 2.8 mm) fue utilizado para perros de talla mediana y grande, y la fibra óptica endoscopia (diámetro exterior, 5mm; diámetro de canal de biopsia, 2mm) fue utilizada para perros de talla chica. Equipo e instrumentos fueron limpiados y esterilizados, las cuñas para

biopsia se desinfectaron en solución clorada 1:10 para destruir los residuos. Durante la endoscopia, la mucosa gástrica fue evaluada por anomalías obvias de la mucosa.

La biopsia de la mucosa gástrica para examen histológico se obtuvo por medio de un fórceps para biopsia, se tomaron 2 muestras por región gástrica (fondo, cuerpo, antro) las cuales fueron depositadas inmediatamente en el medio ureasa y en formol amortiguado al 10%.

Cirugía Experimental: Los perros callejeros fueron anestesiados con pentobarbital sódico para la práctica de cirugía, al terminar la cirugía experimental se tomaron 2 muestras por región gástrica (fondo, cuerpo y antro). Al finalizar los procedimientos de toma de muestra y cirugía experimental los perros fueron eutanaziados con pentobarbital sódico y cloruro de potasio.

Prueba de ureasa: La producción de ureasa se evaluó de la siguiente forma, una vez tomada la biopsia, la muestra se colocó en 200 μ L de solución compuesta de urea, sodio, fenol rojo, fosfatasa alcalina amortiguada (pH 6.5). Los tubos se encubieron por 24 horas y se observaron a las 3, 6, 12 y 24 horas para valorar el cambio de color del medio. El resultado fue registrado positivo si el indicador viraba a rosa fucsia en un lapso de 24 h.

Histopatología: Las muestras fueron fijadas en solución amortiguadora de formalina al 10% por 24 h. Se procesaron de manera rutinaria los cortes previamente incrustados en parafina, se cortaron con un grosor de 3-4 mm, y fueron teñidas con hematoxilina y eosina. El examen se realizó de modo ciego. La presencia de *Helicobacter* spp. se reafirmó con la tinción de Warthin-Starry y la tinción de Giemsa. El total de muestras fue analizada minuciosamente por microscopía de luz. Se utilizó la escala visual analógica de la clasificación de Sydney/Houston (0: ausente, 1: leve, 2: moderado, 3: severo) para evaluar la densidad de bacterias, el grado de inflamación crónica (infiltración por mononucleares), de actividad (infiltración neutrofílica), de metaplasia intestinal, hiperplasia foveolar y atrofia de la mucosa gástrica.

Inmunohistoquímica: Las secciones histológicas se tiñeron por el sistema de detección complejo peroxidasa con un kit comercial "Ultramarque™ PolyScan™ Polymer Kit." (Cellmarque, CA).

Para ello se realizaron cortes histológicos de 2.5-3 μm de espesor que se extendieron en láminas polarizadas. Las secciones de tejido fueron desparafinadas y rehidratadas, después se realizó la recuperación del sitio antigénico con "Declere Bio reagents" (Cellmarque, CA) en un olla de presión por 9 minutos. Se realizaron 2-3 lavados con agua corriente y posteriormente se hizo un lavado en solución amortiguadora (Cellmarque, CA). Se bloquearon las laminillas con el inmunodetector de peroxidasa para ratón/conejo por 5 min a temperatura ambiente. Se lavo con una solución amortiguadora 2-3 veces. El tejido se cubrió con el anticuerpo primario *H. pylori* policlonal de conejo (Cellmarque, CA), se trabajo a una dilución de 1:100 por 1 hora. Se lavo con una solución amortiguadora 2-3 veces. Se cubrieron las secciones con el inmunodetector de enlace a biotina ratón/conejo (Cellmarque, CA). Se incubó por 10 min. Se volvió a lavar con solución amortiguadora 2-3 veces. Se cubrió el tejido con el inmunodetector HRP Label ratón/conejo, se incubó por 10 min. Se volvió a lavar con solución amortiguada 2-3 veces. Se preparó la diaminobencidina agregando 1 gota de cromógeno DAB inmunodetector conejo/ratón por mL de amortiguador DAB inmunodetector conejo/ratón y se mezcló. Se cubrió el tejido con la preparación solución DAB sustrato cromógeno, se incubó por 5 minutos. Se lavo 5 veces con agua de la llave. Se contrasto con hematoxilina de Harris y se viró con carbonato de litio a una concentración de 0.05%, se deshidrató y fue cubierto con un portaobjeto. La lectura del estudio se catalogó como positiva, ante la evidencia clara de un color café sobre los microorganismos de *Helicobacter* spp.

Análisis estadístico: La diferencia de género de perros de casa y calle fue evaluada por la prueba exacta de Fisher's ($p < 0.5$). La edad y peso se evaluó con la prueba de Mann-Whitney ($p < 0.5$). Los resultados de la prueba de la ureasa fueron analizados por la prueba exacta de Fisher's ($p < 0.5$). Los resultados histopatológicos de cronicidad, actividad, densidad bacteriana por *Helicobacter* spp., metaplasia intestinal e hiperplasia foveolar fueron medidos por la prueba exacta de Fisher's ($p < 0.5$). La correlación entre colonización bacteriana por *Helicobacter* spp. y cronicidad, actividad, metaplasia intestinal e hiperplasia folicular fue evaluado por Ji-cuadrada de tendencia lineal y ($p < 0.5$) y se aplicó el coeficiente de correlación gamma ordinal por ordinal. Para la inmuohistoquímica se utilizó la prueba de Ji-cuadrada ($p < 0.5$).

Para el análisis estadístico descriptivo se utilizó el programa SPSS para Windows. La significancia fue de $p < 0.5$.

RESULTADOS

Los cuadros 1 y 2 muestra el tipo de población que fue incluida en este estudio (Figura 2). El cuadro 1, muestra la distribución de edad y peso, para los perros de casa (n=14) la edad $X=5.6$ años con un $DS=2.6$ años y peso $X=24.1$ kg con una $DS=13.9$, mientras que para los perros de calle (n=32) la edad $X=4$ años con una $DS=2.2$ años y el peso $X=17.3$ kg con un $DS=7$ kg, con valores de $p=0.04$ y $p=0.16$ respectivamente.

En el cuadro 2 se observa la distribución de género de perros de casa (n=14) para macho 57% y hembra 43% y para perros de calle (n=32) fue para macho 69% y 31% para hembra.

El cuadro 3, muestra los resultados de la prueba de ureasa en perros de casa (n=14) y calle (n=32) en los tres sitios biopsiados. La prueba de la ureasa fue positiva en antro en el 35.7% de los casos de perros de casa y 84.4% positivos en perro de calle. La muestras de cuerpo 42.9% positivo en los perros de casa y 90.6% positivas en los de calle. La ureasa para fondo 50% positivos para perros de casa y 68.8% en los de calle, con valor de $p=0.512$.

De las 46 muestras obtenidas resultaron positivas a la prueba de la ureasa 32 en antro, 35 en cuerpo y 29 de la región de fondo. Considerando el promedio de tiempo de reacción de ambas zonas el mayor porcentaje reacciono a las 12 h, 62.5% en antro, un 62.85% para cuerpo y y 75.86% en fondo. (Cuadro 4).

Los hallazgos histológicos evidenciados se describen en los cuadros del 5 al 10, las cuales fueron agrupadas en perros de casa y calle. En el 84.78% (n=39) de las muestras se encontró *Helicobacter* spp. mostrando lesiones, 7 perros de casa y 32 perros de calle (Figura 3, 4 y 5). Encontrándose un grado mayor de colonización en los perros de calle. La cronicidad (inflamación crónica) fue en su mayoría leve para 41 perros (Figura 9), mientras que el grado de actividad (infiltración neutrofílica) se presentó solamente en 13 en perros de calle, Figura 8. El grado de atrofia se presentó en 86.95% de los 46 perros, predominando atrofia leve en el 50% de los resultados (Figura10). Solo 1 perro de calle presentó metaplasia intestinal, mientras que 39 perros presentaron hiperplasia foveolar, en su mayoría grado moderado 71.9%, siendo estos perros de calle en su totalidad, y los de casa solo presentaron hiperplasia grado leve (Figura 7).

Se realizó una correlación de la presencia de densidad de *Helicobacter* spp. con la clasificación de Sidney/Houston renovado 1994, en el cuadro 11 aparecen los resultados de cronicidad con *Helicobacter* spp. encontrándose una alta significancia para

antro $p= 0.016$ y una correlación positiva r -Gamma 0.568, mientras que para cuerpo fue significativamente $p= 0.025$ y su correlación fue baja r -Gamma 0.398.

En el cuadro 12 se muestra la correlación entre actividad y densidad de *Helicobacter* spp., donde el sitio de antro mostró unos resultados altamente significativos $p= 0.010$ y su correlación fue positivamente alta r -Gamma 0.846.

La correlación realizada entre atrofia de mucosa gástrica y *Helicobacter* spp. (Cuadro 13) no fue significativa en ninguna región gástrica y la correlación fue negativa en antro y demasiado baja en cuerpo y fondo. En el cuadro 14, se observa los resultados de la correlación metaplasia intestinal con *Helicobacter* spp., los cuales no fueron significativos, mostrando una correlación alta negativa r -Gamma -0.650.

Los resultados de correlación de hiperplasia foveolar con la densidad de *Helicobacter* spp. fueron altamente significativos para antro $p= 0.000$, cuerpo $p=0.002$ y para fondo $p=0.000$, con una alta correlación r -Gamma 0.858, 0.645 y 0.733 respectivamente. (Cuadro 15).

La inmunohistoquímica fue positiva en el 82.60% ($n=46$) de los casos, como se puede observar en la Figura 6, encontrándose una mayor significancia en perros de calle 96.87% ($n=32$), mientras que para los perros de casa solo fue positiva en el 50% ($n=14$) de las muestras, Cuadro 16. Se realizó una correlación con género, $p=0.986$ y edad $p=0.523$, las cuales fueron no significativas.

DISCUSIÓN

La bacteria *Helicobacter* fue encontrada tanto en animales jóvenes como en viejos de ambos sexos, lo que coincide con Happonen quien señala que las tasas de prevalencia fueron similares en perros de todas las edades y sexos. Además no se detectó asociación entre edad y densidad de colonización.³²

Sin embargo, los tiempos de reacción a la prueba de la ureasa difieren con lo obtenido por Happonen, donde sus resultados fueron registrados a los 15 y 60 minutos posterior a la incubación de las muestras.¹⁷⁷

Los hallazgos informados de la prueba de la ureasa demuestran una alta prevalencia, siendo en su mayoría positiva a las 12 horas. En perros de la calle el porcentaje de positivos fue mayor, sobre todo en cuerpo. Coincidiendo con lo descrito por Hazell, mostrando que el número de resultados positivos de la prueba de la ureasa incrementaban con el tiempo de duración.²²⁹

Estas diferencias se pueden explicar según Malferheiner, debido a que existieran factores que puedan influenciar la rapidez para obtener el resultado de la prueba, los cuáles podrían ser volumen del caldo o agar, concentraciones de urea y fenol, pH y temperatura de incubación.²³⁰ En perros de la calle el porcentaje de positivos fue mayor, sobre todo en antro y cuerpo. Sin embargo, la prueba de la ureasa puede dar resultados falsos-negativos cuando se encuentra un bajo porcentaje de *Helicobacter* presente. Se ha mencionado que pueden haber falsos positivos por la producción de urea de otras bacterias gástricas como *Proteus mirabilis* y *Pseudomonas aeruginosa*, aunque un cambio tardío en el color también se puede presentar en un muestra con baja densidad de *Helicobacter*.²³¹ De forma general, la detección de *Helicobacter* gástrico por la prueba de urease rápida se considera bastante fidedigno.

Al no existir un criterio de evaluación histológica para perros se utilizó el Sistema Sydney/Houston renovado 1994, desarrollado para categorizar gastritis en humanos,^{112,115} aunque algunos investigadores como Eaton y Handt han utilizado su propio criterio^{1,12,31,44,105,194} para poder hacer comparaciones entre diferentes estudios se esta utilizando la clasificación de Sydney renovado 1994.^{32,42232,177}

El criterio histológico en este estudio y la relación de asociación de *Helicobacter* spp. con cada uno de los estadios de la clasificación analoga visual de Sidney renovado 1994 ha podido establecer comparaciones con algunos autores (Figuras 3, 3ª y 3b). En este estudio, *Helicobacter* spp. fue identificada histológicamente en la mayoría de las muestras teñidas con H/E coincidiendo con los hallazgos descritos por varios autores.

La técnica de Warthin-Starry ha sido descrita en la mayoría de los casos como un método de tinción satisfactorio si se está buscando organismo espirales.¹⁷³

Aunque las tinciones de plata, tanto Warthin-Starry y la tinción de Steiner, son muy sensibles y específicas para identificar *Helicobacter*, estas tinciones son muy complicadas y frecuentemente presentan artificios que pudieran confundirse con bacterias; sin embargo, la mayoría de las infecciones muestran un alto grado de organismos de *Helicobacter* spp. y la morfología de la bacteria es tan característica que puede ser detectada de manera sencilla y específica.

El tamaño de la biopsia muestreada quizá pueda influir en el rango de prevalencia, siendo más difícil la detección de *Helicobacter* spp. por método endoscópico, aunque sea ha mencionado que el tamaño de la biopsia no afecta los resultados. La prevalencia de bacteria puede variar por zona geográfica, la Ciudad de México presenta una alta incidencia de *H. pylori* en humanos, tanto en niños como en adultos.^{232,233}

En este estudio, todas las partes muestreadas del estómago tuvieron *Helicobacter* spp., 84.78% antro (39/46), 89.13% cuerpo (41/46) y 84.78% (39/46) de las muestras de fondo, estos resultados son similares a los reportados en Tailandia.^{234,173}

La colonización de la mucosa antrica y fúndica fue densa y fue más extensiva en cuerpo. Hallazgos similares han sido observados en perros y gatos después de una infección natural con *Helicobacter* spp. en infecciones experimentales con *H. felis*.^{177,3,241,115}

Las razones para esta diferencia de colonización no se ha establecido aún. Lee explicó las diferencias de las condiciones de micro medioambientes a partir de diferentes sitios de la mucosa gástrica quizá pueda ser un factor.²³⁵ Otra posible explicación es que la colonización bacteriana aumenta en áreas gástricas con menos mucosa prominente de respuesta celular inflamatoria.^{236,237}

La mayoría de los perros tuvieron *Helicobacter* spp. en el estómago, pero solo desarrollaron gastritis ligera. Esto sugiere que en los perros algunas enfermedades bacterianas no presentan evidencia histológica.^{12,178}

La inflamación gástrica fue un hallazgo común en los hallazgos histológicos, se detectaron varios nódulos linfocitarios, neutrófilos o eosinófilos. Los neutrófilos no juegan un papel importante en la gastritis de perros como en la gastritis con *H. pylori* en humanos, esto quizá se deba a las diferentes especies de *Helicobacter* que colonizan el estómago de los perros.³¹ En perros, se ha encontrado una correlación no positiva entre

grado de inflamación gástrica y densidad de colonización de *Helicobacter* spp., de acuerdo con lo informado por Eaton, habiendo desacuerdo con otros autores.^{6,115}

En 1995, un grupo de investigadores alemanes sometió a análisis histopatológico muestras de mucosa gástrica de 122 perros sanos y 127 gatos sanos. El 82% de los perros y el 76% de los gatos presentó *Helicobacter* en las biopsias analizadas. Los cambios anatomopatológicos asociados a esta infección fueron fibrosis de la lámina propia de la mucosa (41% perros y 58% gatos), degeneración glandular con acumulo linfocitos y neutrófilos (21% perros y 39% gatos) y edema de la lámina propia de la mucosa (54% perros y 23% gatos).¹

Nosotros encontramos solo folículos linfoides en las muestras positivas para *Helicobacter* spp. La importancia de los agregados linfocitarios es debatible en perros, se ha especulado que pueden ser marcadores de inflamación gástrica, pero hay reportes como el de Kolbjørnsen que lo consideran como un hallazgo normal.²³⁸ Sin embargo, en humanos los folículos linfoides se han vinculado con gastritis asociada a *H. pylori*.^{239,240} Simpson demostró que en gatos *H. felis* produce hiperplasia folicular linfoide.²⁴¹

Este estudio reveló correlaciones positiva media a baja, altamente significativas entre la densidad de *Helicobacter* spp. con cronicidad en antro r-Gamma 0.568 (p=0.016) y cuerpo r-Gamma 0.398 (p=0.025). Entre actividad con densidad de *Helicobacter* spp. la correlación fue positiva alta (r-Gamma 0.846) y altamente significativa (p=0.010). Mientras que para hiperplasia foveolar con densidad de *Helicobacter* spp. en antro hubo una muy alta correlación positiva (r-Gamma 0.858) y fue altamente significativa (p=0.000), y para fondo correlación positiva alta (r-Gamma 0.733) y también fue altamente significativa (p=0.000).

La inmunohistoquímica con el anticuerpo anti-*H. pylori* policlonal de conejo fue altamente sensible 82.60% (38/46) positivos en todos los perros evaluados. Este anticuerpo no discrimina entre las diferentes especies de *Helicobacter*, por ser un anticuerpo policlonal. Más aún, otros autores han descrito tinciones de inmunohistoquímica con PAb Hp y Mab 371/254.55 ó anti-*H. pylori* anticuerpo para organismos tipo *H. heilmannii* en la mucosa gástrica de monos cynomolgus. Las bacterias morfológicamente similares para *H. heilmannii* y *H. felis*, se tiñeron positivamente con PAb conejo contra *H. pylori*.^{242,243}

Estas observaciones indican un alto grado de homología antigénica entre las diferentes especies de *Helicobacter*. Un amplio espectro de reactividad de la inmunohistoquímica

puede ser considerada como útil en la detección genérica de infecciones de *Helicobacter*, particularmente para uso diagnóstico en especies animales como gatos y perros donde las diferentes especies de *Helicobacter* pueden estar presentes. Los anticuerpos monoclonales específicos para las diferentes especies de *Helicobacter* puede ser de gran ayuda para el diagnóstico, ya que se han descrito diferencias en la severidad de las gastritis en gatos infectados con diferentes especies de *Helicobacter*.¹⁷¹

CONCLUSIONES

Los resultados encontrados demuestran un alta prevalencia de 82.60% de *Helicobacter* spp. en perros de la Ciudad de México, particularmente en perros de la calle.

La prueba de la ureasa mostró resultados satisfactorios, siendo una prueba barata y de fácil acceso, sin embargo, el costo por endoscopia en medicina veterinaria en México, la encarece.

Los resultados de la histopatología sugieren que la tinción de hematoxilina/eosina se puede emplear como prueba de rutina en la práctica diaria de diagnóstico y las tinciones especiales como Giemsa y Warthin-Starry emplearlas con fines de investigación.

Aunque la inmunohistoquímica es altamente específica es costosa y requiere de tiempo y experiencia. Usualmente no se utiliza como prueba de rutina, pero quizá esta prueba vale la pena en aquellos casos donde las tinciones histológicas convencionales son difíciles de evaluar.

El desarrollo de anticuerpos monoclonales anti-*Helicobacter* especie/específico sería una importante herramienta diagnóstica hacia futuro.

Hoy en día, se han reportado alrededor de más de 30 especies de *Helicobacter* en diferentes animales tanto domésticos como salvajes, es de suma importancia conocer las diferentes especies presentes tanto en animales como en humanos, ya que la mayoría de los reportes en México muestran prevalencia de *H. pylori* sin haber realizado estudios específicos como PCR.

En Medicina Veterinaria existe un gran campo de investigación en el género *Helicobacter*, ya que se ha demostrado que un mismo animal puede presentar diferentes especies de *Helicobacter*, algunas aún sin clasificación y se desconoce las patogenicias de cada una de estas.

Es de suma importancia conocer las prevalencias de *Helicobacter* en las distintas especies domesticas, sobre todo por el vínculo tan cercano al humano. Sin embargo, no debemos menospreciar las especies marinas y salvajes, ya que pueden jugar un papel muy importante como reservorios y posibles medios de transmisión de las diferentes especies de *Helicobacter* en diferentes medioambientes de la República Mexicana. La posibilidad de riesgo zoonótico está latente, sin embargo para poder apoyar esta teoría tenemos que conocer las especies de *Helicobacter* presentes y la patogenicia de cada una de ellas. En México aún no se ha determinado la prevalencia de estas especies en humanos ni tampoco en animals.

Además no debemos olvidar que a escala mundial el cáncer gástrico a finales del siglo XX, continúa siendo la segunda causa de muerte por cáncer, superada tan solo por el cáncer de pulmón. En la mayor parte de los casos de cáncer gástrico éste es precedido por un curso prolongado de inflamación crónica activa asociada a *Helicobacter* spp.

La infección por *Helicobacter pylori* es por mucho, la causa más frecuente de gastritis crónica activa en personas de todo el mundo y figura en la lista de carcinógenos de la clase I de la IARC. La infección gástrica por *Helicobacter pylori* es aceptada como factor etiológico necesario, aunque no suficiente, para el desarrollo del cancer gástrico, estimándose que tanto el cancer gástrico como la úlcera péptica y el linfoma gástrico (tejido linfoide asociado a mucosa- MALT), desaparecerían 40 años después de ser erradicada de nuestra especie la infección por *Helicobacter pylori* en nuestra especie.

LISTADO DE CUADROS.

Cuadro 1. Edad y peso de perros de casa y calle.

<i>Perros</i>	<i>Casa (n=14)</i>	<i>Calle (n=32)</i>	<i>p<0.05</i>
Edad (años)	x= 5.6 DS= 2.6	x= 4 DS=2.2	0.4
Peso (kgs)	x= 24.1 DS=13.9	x=17.3 DS=7	0.16

Prueba de Mann-Whitney, $p= <0.05$

Cuadro 2. Género de perros de casa y calle.

<i>Género</i>	<i>Casa (n=14)</i>	<i>Calle (n=32)</i>
Macho	57%	69%
Hembra	43%	31%

Prueba de Mann-Whitney, $p= <0.05$

Cuadro 3. Resultados de la prueba de la ureasa a partir de biopsias gástricas.

<i>Región gástrica</i>	<i>Casa (n=14)</i>	<i>Calle (n=32)</i>	<i>p<0.05</i>
Antro	35.7%	84.4%	0.002
Cuerpo	42.9%	90.6%	0.001
Fondo	50.0%	68.8%	0.32

Prueba exacta de Fisher's, $p= <0.05$

Cuadro 4. Tiempo de reacción de las muestras positivas a la prueba de la ureasa.

<i>Región gástrica</i>	<i>N</i>	<i>Intervalo de lectura</i>							
		<i>3h</i>	<i>%</i>	<i>6h</i>	<i>%</i>	<i>12h</i>	<i>%</i>	<i>24h</i>	<i>%</i>
Antro	32	2	6.25	9	28.12	20	62.50	1	3.12
Fondo	35	2	5.71	10	28.57	22	62.85	1	2.85
Cuerpo	29	0	0	6	20.68	22	75.86	1	3.44

Ji-cuadrada, $p= <0.05$

Cuadro 5. Resultados histopatológicos de cronicidad (inflamación crónica) en la escala de Sydney/Houston, a partir de biopsias gástricas de perros de casa y calle.

<i>Cronicidad (Inf. Crónica)</i>	<i>Región gástrica</i>	<i>Casa N=14</i>	<i>Calle N=32</i>	<i>p < 0.05</i>
Nada	Antro	28.6%	3.1%	.017
	Cuerpo	71.4%	12.5%	.000
	Fondo	64.3%	25%	.006
Leve	Antro	71.4%	65.6%	.017
	Cuerpo	21.4%	43.8%	.000
	Fondo	14.3%	65.8%	.006
Moderado	Antro	0%	28.1%	.017
	Cuerpo	7.1%	43.8%	.000
	Fondo	21.4%	9.4%	.006
Intenso	Antro	0%	3.1%	.017
	Cuerpo	0%	0%	.000
	Fondo	0%	0%	.006

Ji-cuadrada $p = < 0.05$

Cuadro 6. Resultados histopatológicos de actividad (inflamación neutrofílica) en la escala de Sydney/Houston, a partir de biopsias gástricas de perros de casa y calle.

<i>Actividad (Inf. Neutrofílica)</i>	<i>Región gástrica</i>	<i>Casa n=14</i>	<i>Calle n=32</i>	<i>p < 0.05</i>
Nada	Antro	100%	59.4%	.048
	Cuerpo	100%	71.9%	.180
	Fondo	100%	87.5%	.590
Leve	Antro	0%	25%	.048
	Cuerpo	0%	18.8%	.180
	Fondo	0%	6.3%	.590
Moderado	Antro	0%	9.4%	.048
	Cuerpo	0%	6.3%	.180
	Fondo	0%	3.1%	.590
Intenso	Antro	0%	6.3%	.048
	Cuerpo	0%	3.1%	.180
	Fondo	0%	3.1%	.590

Ji-cuadrada $p = < 0.05$

Cuadro 7. Resultados histopatológicos de la densidad de *Helicobacter* spp. en la escala de Sydney/Houston, a partir de biopsias gástricas de perros de casa y calle.

<i>Helicobacter</i> spp.	Región gástrica	Casa n=14	Calle n=32	p < 0.05
Nada	Antro	50%	0%	.000
	Cuerpo	28.6%	3.1%	.006
	Fondo	35.7%	6.3%	.028
Escaso	Antro	0%	18.8%	.000
	Cuerpo	42.9%	18.8%	.006
	Fondo	35.7%	28.1%	.028
Moderado	Antro	35.7%	9.4%	.000
	Cuerpo	7.1%	40.6%	.006
	Fondo	21.4%	28.1%	.028
Abundante	Antro	14.3%	71.9%	.000
	Cuerpo	21.4%	37.5%	.006
	Fondo	7.1%	37.5%	.028

Ji-cuadrada p= <0.05

Cuadro 8. Resultados histopatológicos de atrofia de mucosa en la escala de Sydney/Houston, a partir de biopsias gástricas de perros de casa y calle.

Atrofia	Región gástrica	Casa n=14	Calle n=32	p < 0.05
Nada	Antro	21.4%	9.4%	.095
	Cuerpo	57.1%	62.5%	.877
	Fondo	50.0%	84.4%	.021
Leve	Antro	64.3%	43.8%	.095
	Cuerpo	28.6%	28.1%	.877
	Fondo	50.0%	12.5%	.021
Moderada	Antro	14.3%	46.9%	.095
	Cuerpo	14.3%	9.4%	.877
	Fondo	0%	3.1%	.021
Intensa	Antro	0%	0%	.095
	Cuerpo	0%	0%	.877
	Fondo	0%	0%	.021

Ji-cuadrada - Pearson p= <0.05

Cuadro 9. Resultados histopatológicos de metaplasia intestinal en la escala de Sydney/Houston, a partir de biopsias gástricas de perros de casa y calle.

<i>Metaplasia Intestinal</i>	<i>Región gástrica</i>	<i>Casa n=14</i>	<i>Calle n=32</i>	<i>p < 0.05</i>
Nada	Antro	100%	96.9%	1.000
	Cuerpo	100%	100%	1.000
	Fondo	100%	100%	1.000
Incompleta focal	Antro	0%	3.1%	1.000
	Cuerpo	0%	0%	1.000
	Fondo	0%	0%	1.000

Prueba Exacta de Fisher's $p < 0.05$ Antro $p = < 1.000$

Cuadro 10. Resultados histopatológicos de hiperplasia foveolar en la escala de Sydney/Houston, a partir de biopsias gástricas de perros de casa y calle.

<i>Hiperplasia foveolar</i>	<i>Región gástrica</i>	<i>Casa n=14</i>	<i>Calle n=32</i>	<i>p < 0.05</i>
Nada	Antro	42.9%	3.1%	.000
	Cuerpo	57.1%	18.8%	.023
	Fondo	57.1%	43.8%	.176
Leve	Antro	57.1%	15.6%	.000
	Cuerpo	42.9%	68.8%	.023
	Fondo	35.7%	56.3%	.176
Moderada	Antro	0%	71.9%	.000
	Cuerpo	0%	12.5%	.023
	Fondo	7.1%	0%	.176
Intensa	Antro	0%	9.4%	.000
	Cuerpo	0%	0%	.023
	Fondo	0%	0%	.176

Ji-cuadrada $p = < 0.05$

Cuadro 11. Resultados histopatológicos de correlación de cronicidad (inflamación crónica) densidad de *Helicobacter* spp. a partir de biopsias de mucosa gástrica de perros.

<i>Helicobacter</i> spp.									
<i>Cronicidad (Inf. Crónica)</i>	<i>Región gástrica</i>	<i>Nada</i>	<i>n</i>	<i>Escaso</i>	<i>N</i>	<i>Moderado</i>	<i>N</i>	<i>Abundante</i>	<i>n</i>
Nada	Antro	60%	7	0%	6	20%	8	20%	25
	Cuerpo	21.4%	5	35.7%	12	28.6%	14	14.3%	15
	Fondo	35.3%	7	29.4%	14	17.6%	12	17.6%	13
Leve	Antro	12.9%	7	12.9%	6	22.6%	8	51.6%	25
	Cuerpo	11.8%	5	17.6%	12	35.3%	14	35.3%	15
	Fondo	0%	7	30.4%	14	34.8%	12	34.8%	13
Moderado	Antro	0%	7	22.2%	6	0%	8	77.8%	25
	Cuerpo	0%	5	26.7%	12	26.7%	14	46.7%	15
	Fondo	16.7%	7	33.3%	14	16.7%	12	33.3%	13
Intenso	Antro	0%	7	0%	6	0%	8	100%	25
	Cuerpo	0%	5	0%	12	0%	14	0%	15
	Fondo	0%	7	0%	14	0%	12	0%	13

Ji-cuadrada, Tendencia lineal, $p < 0.05$ Antro $p = 0.016$
 Cuerpo $p = 0.025$
 Fondo $p = 0.077$

r-Gamma: Antro 0.568 Cuerpo 0.398 Fondo 0.361

Cuadro 12. Resultados histopatológicos de correlación de actividad (infiltración neutrofilica) con densidad de *Helicobacter* spp. a partir de biopsias de mucosa gástrica de perros.

<i>Helicobacter</i> spp.									
<i>Actividad (Inf. Neutrofilica)</i>	<i>Región gástrica</i>	<i>Nada</i>	<i>n</i>	<i>Escaso</i>	<i>N</i>	<i>Moderado</i>	<i>N</i>	<i>Abundante</i>	<i>N</i>
Nada	Antro	21.2%	7	15.2%	6	24.2%	8	39.4%	25
	Cuerpo	13.5%	5	24.3%	12	32.4%	14	29.7%	15
	Fondo	16.7%	7	28.6%	14	28.6%	12	26.2%	13
Leve	Antro	0%	7	12.5%	6	0%	8	87.5%	25
	Cuerpo	0%	5	33.3%	12	33.3%	14	33.3%	15
	Fondo	0%	7	50%	14	0%	12	50%	13
Moderado	Antro	0%	7	0%	6	0%	8	100%	25
	Cuerpo	0%	5	50%	12	0%	14	50%	15
	Fondo	0%	7	100%	14	0%	12	0%	13
Intenso	Antro	0%	7	0%	6	0%	8	100%	25
	Cuerpo	0%	5	0%	12	0%	14	100%	15
	Fondo	0%	7	0%	14	0%	12	100%	13

Ji-cuadrada, Tendencia lineal, $p < 0.05$ Antro $p = 0.010$
 Cuerpo $p = 0.262$
 Fondo $p = 0.405$

r-Gamma: Antro 0.846 Cuerpo 0.243 Fondo 0.24

Cuadro 13. Resultados histopatológicos de correlación de atrofia de mucosa gástrica con densidad de *Helicobacter* spp. a partir de biopsias de mucosa gástrica de perros.

		<i>Helicobacter</i> spp.							
<i>Atrofia de mucosa</i>	<i>Región gástrica</i>	<i>Nada</i>	<i>n</i>	<i>Escaso</i>	<i>n</i>	<i>Moderado</i>	<i>N</i>	<i>Abundante</i>	<i>N</i>
Nada	Antro	50%	7	0%	6	16.7%	8	33.3%	25
	Cuerpo	14.3%	5	21.4%	12	46.4%	14	17.9%	15
	Fondo	17.6%	7	26.5%	14	29.4%	12	26.5%	13
Leve	Antro	8.7%	7	4.3%	6	21.7%	8	65.2%	25
	Cuerpo	7.7%	5	23.1%	12	7.7%	14	61.5%	15
	Fondo	9.1%	7	45.5%	14	18.2%	12	27.3%	13
Moderado	Antro	11.8%	7	29.4%	6	11.8%	8	47.1%	25
	Cuerpo	0%	5	60%	12	0%	14	40%	15
	Fondo	0%	7	0%	14	0%	12	100%	13
Intenso	Antro	0%	7	0%	6	0%	8	0%	25
	Cuerpo	0%	5	0%	12	0%	14	0%	15
	Fondo	0%	7	0%	14	0%	12	0%	13

Ji-cuadrada, Tendencia lineal, $p < 0.05$ Antro $p = 0.726$
 Cuerpo $p = 0.337$
 Fondo $p = 0.528$

r-Gamma: Antro -0.012 Cuerpo 0.256 Fondo 0.087

Cuadro 14. Resultados histopatológicos de correlación de metaplasia intestinal con densidad de *Helicobacter* spp. a partir de biopsias de mucosa gástrica de perros.

		<i>Helicobacter</i> spp.							
<i>Metaplasia Intestinal</i>	<i>Región gástrica</i>	<i>Nada</i>	<i>n</i>	<i>Escaso</i>	<i>N</i>	<i>Moderado</i>	<i>N</i>	<i>Abundante</i>	<i>n</i>
Nada	Antro	15.6%	7	11.1%	6	17.8%	8	55.6%	25
	Cuerpo	10.9%	5	26.1%	12	30.4%	14	32.6%	15
	Fondo	15.2%	7	30.4%	14	26.1%	12	28.3%	13
Incompleta Focal	Antro	0%	7	100%	6	0%	8	0%	25
	Cuerpo	0%	5	0%	12	0%	14	0%	15
	Fondo	0%	7	0%	14	0%	12	0%	13

Ji-cuadrada, Tendencia lineal, $p < 0.05$ Antro $p = 0.325$
 Cuerpo $p = 1.0$
 Fondo $p = 1.0$

r-Gamma: Antro -0.650

Cuadro 15. Resultados histopatológicos de correlación de hiperplasia foveolar con densidad de *Helicobacter* spp. a partir de biopsias de mucosa gástrica.

<i>Hiperplasia Foveolar</i>	<i>Región gástrica</i>	<i>Helicobacter</i> spp.							
		<i>Nada</i>	<i>n</i>	<i>Escaso</i>	<i>n</i>	<i>Moderado</i>	<i>N</i>	<i>Abundante</i>	<i>n</i>
Nada	Antro	71.4%	7	14.3%	6	0%	8	14.3%	25
	Cuerpo	28.6%	5	35.7%	12	28.6%	14	7.1%	15
	Fondo	31.8%	7	36.4%	14	27.3%	12	4.5%	13
Leve	Antro	15.4%	7	23.1%	6	46.2%	8	15.4%	25
	Cuerpo	3.6%	5	21.4%	12	35.7%	14	39.3%	15
	Fondo	0%	7	26.1%	14	21.7%	12	52.2%	13
Moderado	Antro	0%	7	8.7%	6	8.7%	8	82.6%	25
	Cuerpo	0%	5	25%	12	0%	14	75%	15
	Fondo	0%	7	0%	14	100%	12	0%	13
Intenso	Antro	0%	7	0%	6	0%	8	100%	25
	Cuerpo	0%	5	0%	12	0%	14	0%	15
	Fondo	0%	7	0%	14	0%	12	0%	13

Ji-cuadrada, Tendencia lineal, $p < 0.05$ Antro $p = 0.000$
 Cuerpo $p = 0.002$
 Fondo $p = 0.000$

r-Gamma: Antro 0.858 Cuerpo 0.645 Fondo 0.733

Cuadro 16. Resultados de inmunohistoquímica con el anticuerpo *H. pylori* policlonal de conejo.

<i>IHQ Ac. H. pylori</i>	<i>Casa (n=14)</i>	<i>Calle (n=32)</i>	<i>Total</i>
Positivo	50%	96.87%	82.60% (38/46)
Negativo	50%	3.12%	17.39% (8/46)

Ji-cuadrada, $p < 0.05$

LISTADO DE FIGURAS.

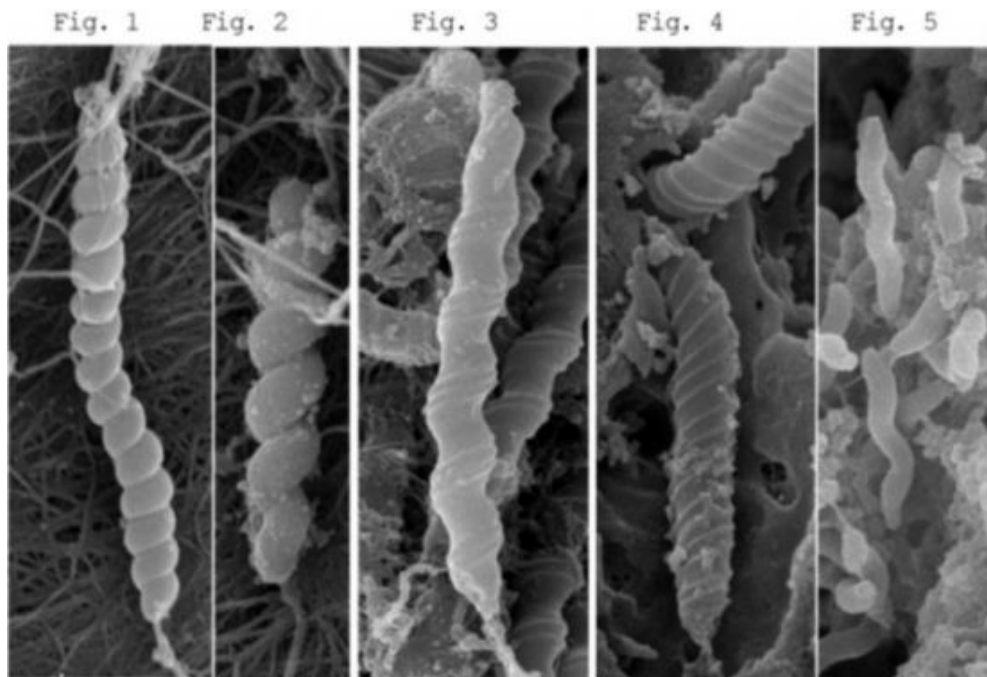


Figura 1. *Helicobacter* spp. Microscopía electrónica de barrido.



Figura 2. Perros de casa de distintas razas y perros de calle mestizos

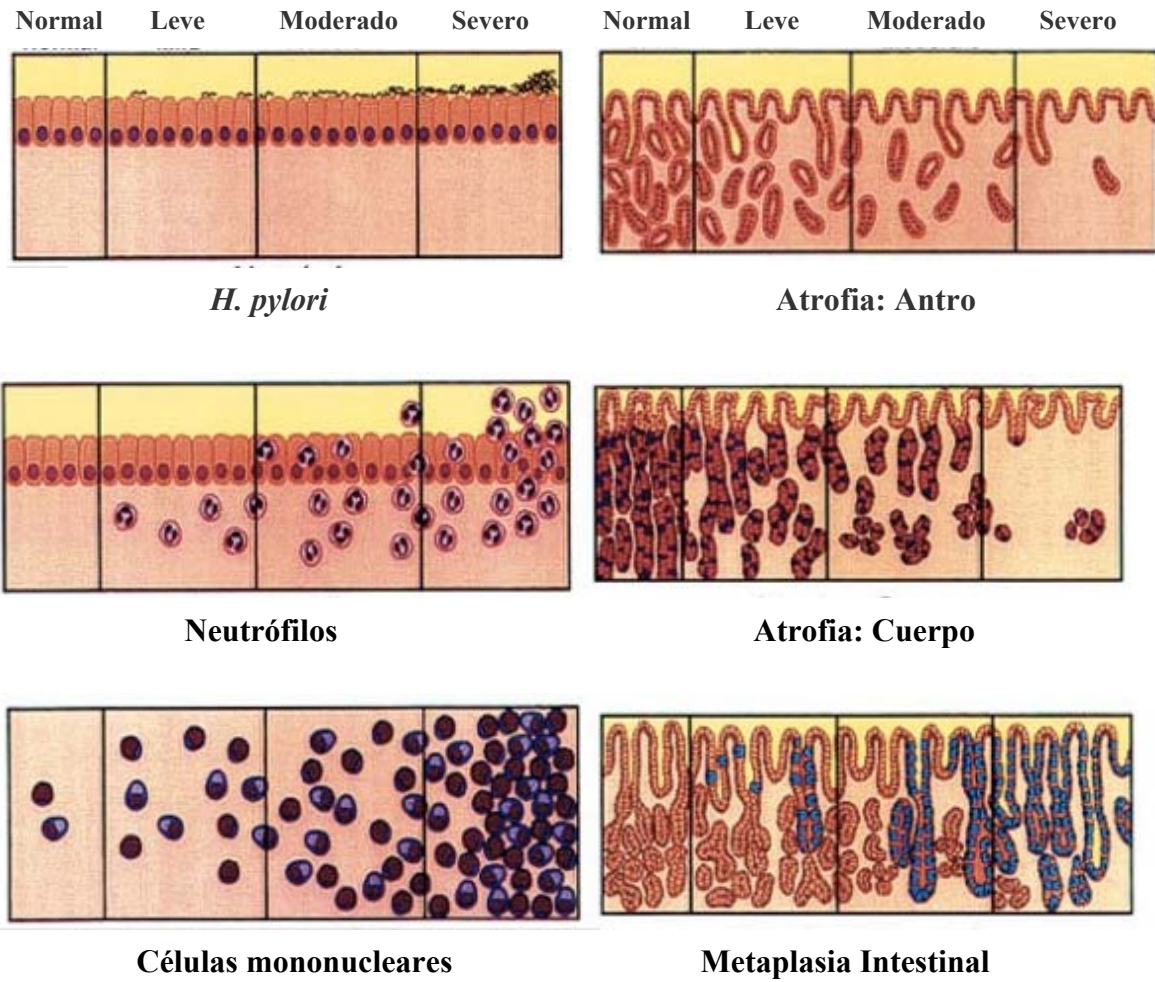
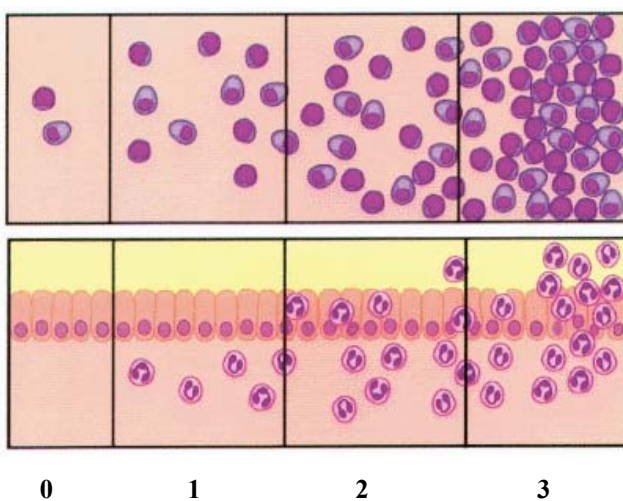
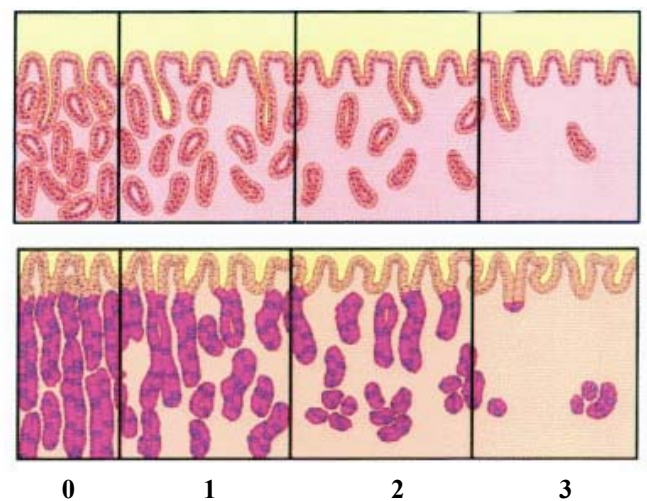


Figura 3. Escalas visuales de los parámetros implicados en la clasificación y gradación de las gastritis. Sistema Sydney renovado, 1994. RM Genta.



3a. Escalas visuales de los infiltrados inflamatorios, grados 0 – 1 – 2 – 3 del Sistema Sydney renovado, 1994. RM Genta.



3b. Escalas visuales de grado de atrofia, mucosa astral y de cuerpo 0 – 1 – 2 – 3 (normal/atrofia leve, moderada, severa) del Sistema Sydney renovado, 1994. RM Genta.

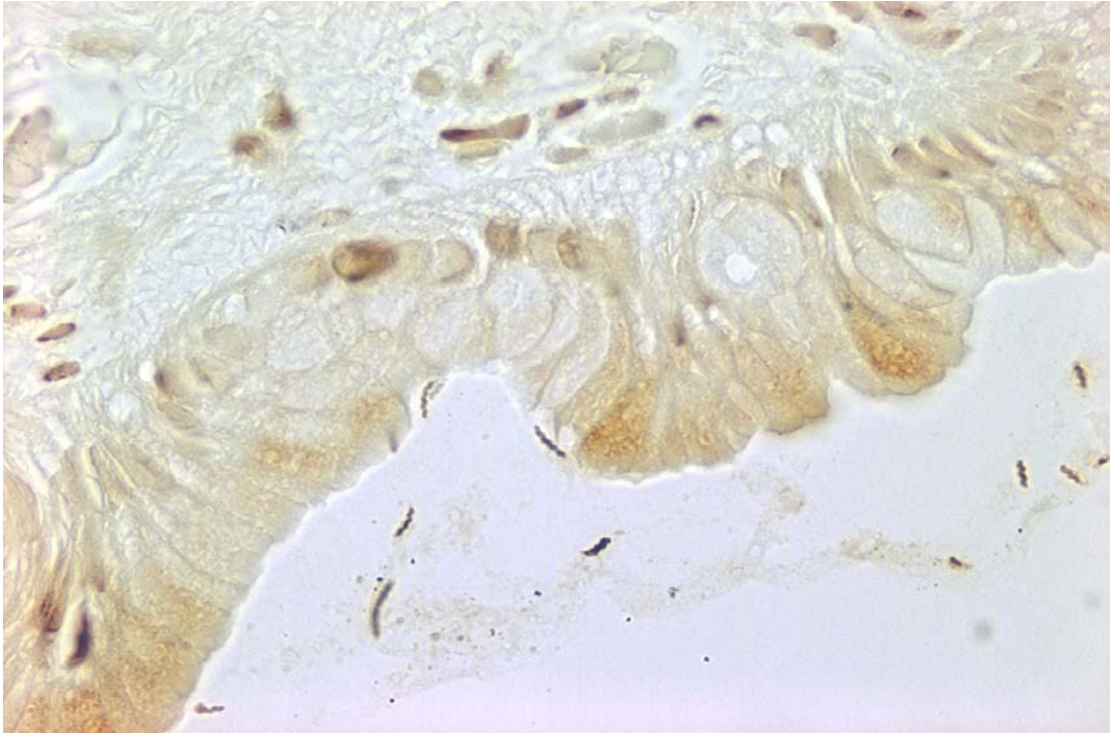


Figura 4. Mucosa gástrica de perro de casa #2 con *Helicobacter* spp. moderado.
Tinción de Warthin-Starry, 400X.

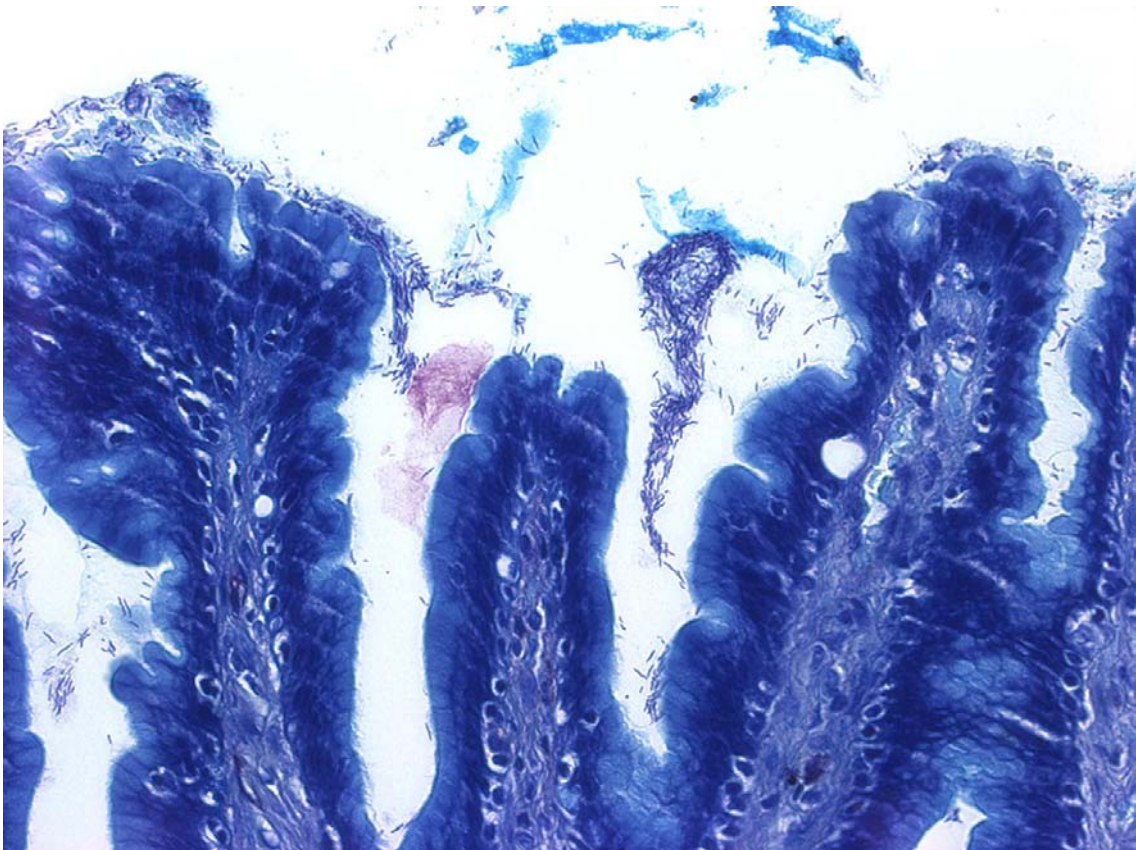


Figura 5. Mucosa gástrica de perro de calle #24 con *Helicobacter* spp. moderado.
Tinción de Giemsa, 400X.

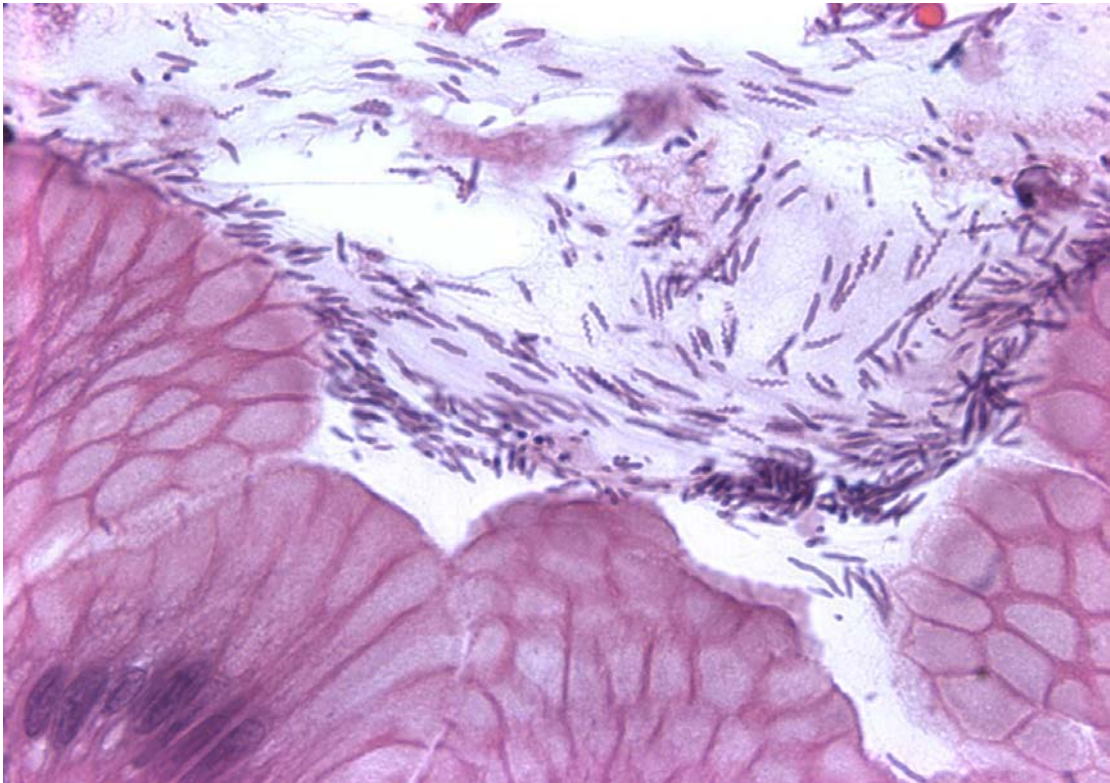


Figura 6. Mucosa gástrica de perro de calle # 45 con *Helicobacter* spp. abundante. Tinción de Hematoxilina/Eosina, 400X.

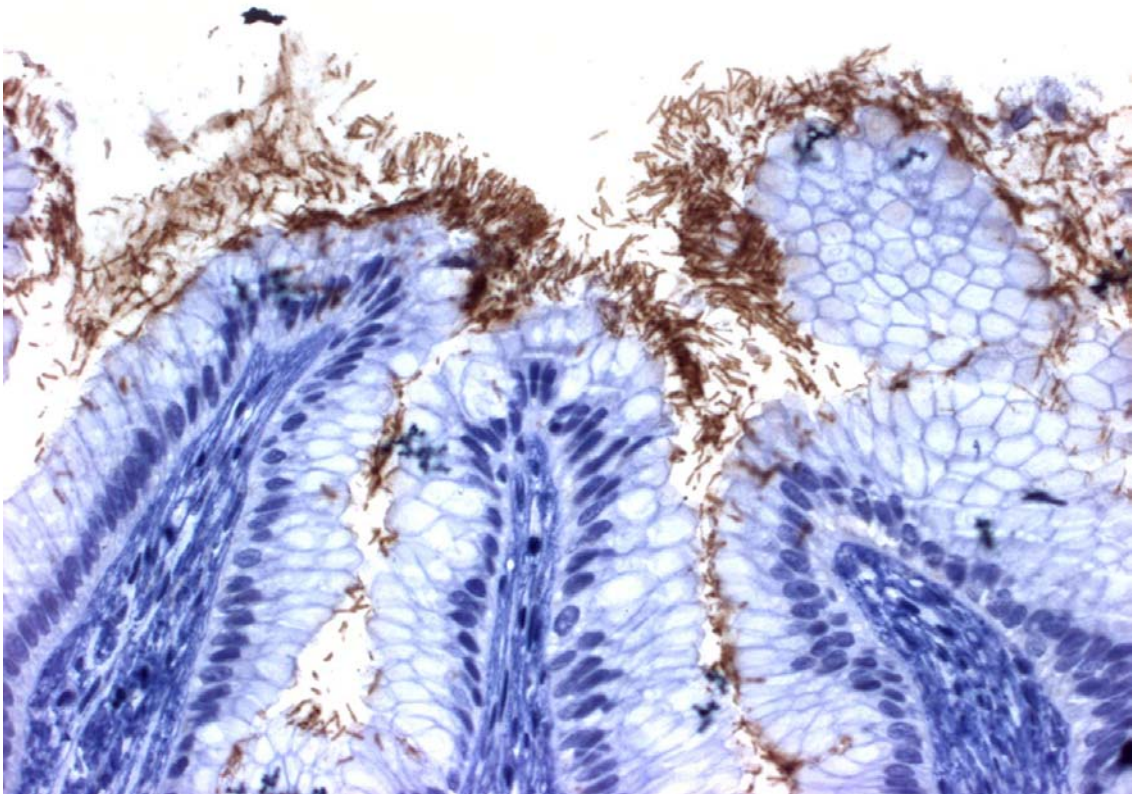


Figura 7. Grupo de organismos de *Helicobacter* spp. abundante en la superficie de la mucosa gástrica de antro de perro de la calle #32. Tinción de inmunohistoquímica (Anticuerpo *H. pylori* policlonal de conejo), 400X.

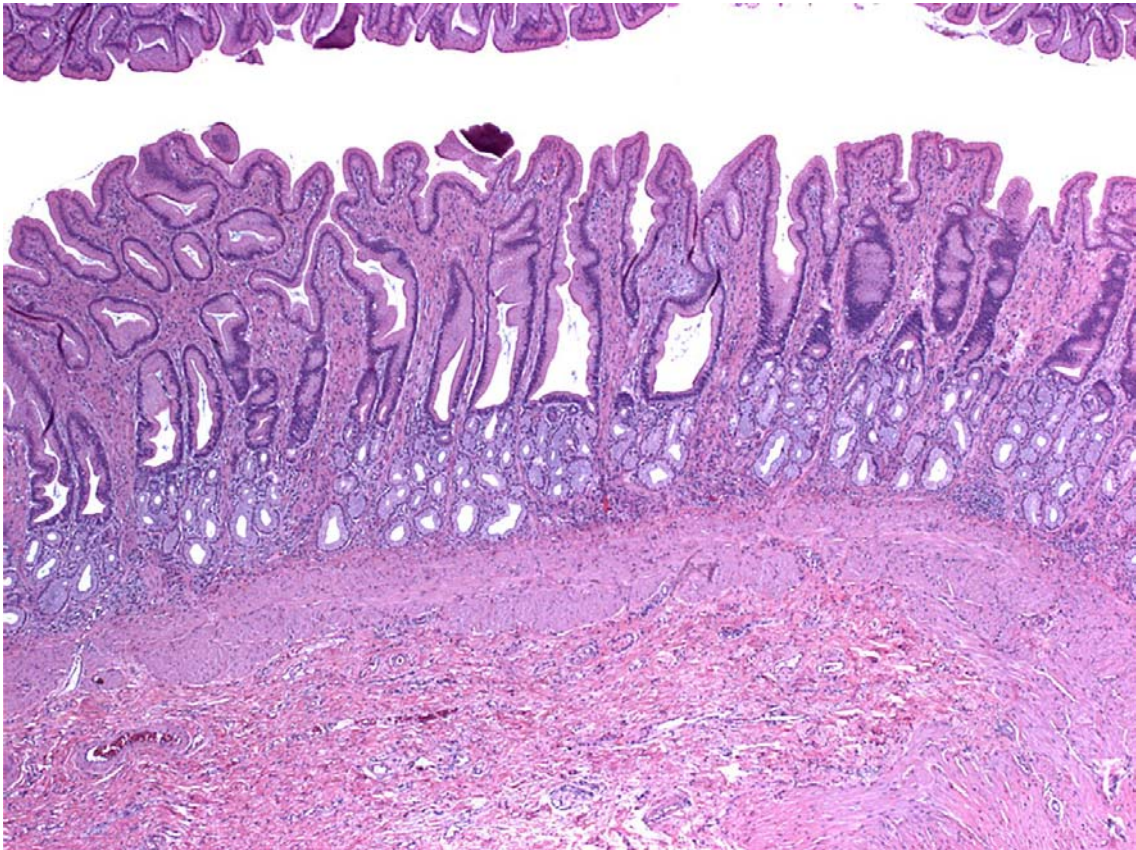


Figura 8. Hiperplasia foveolar intensa en antro de la mucosa gástrica de perro de calle #24.
Tinción de Hematoxilina/eosina, 400X.

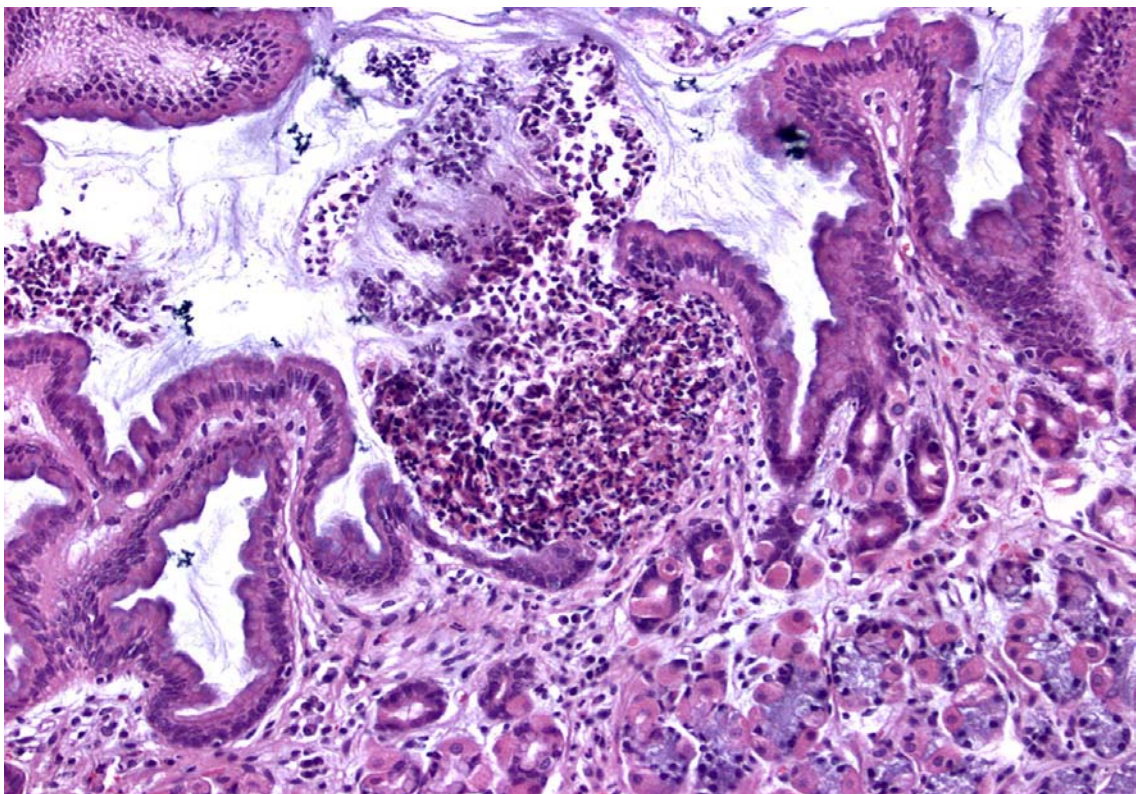


Figura 9. Mucosa gástrica de perro de calle #29 con actividad intensa en cuerpo.
Tinción de Hematoxilina/eosina, 400X

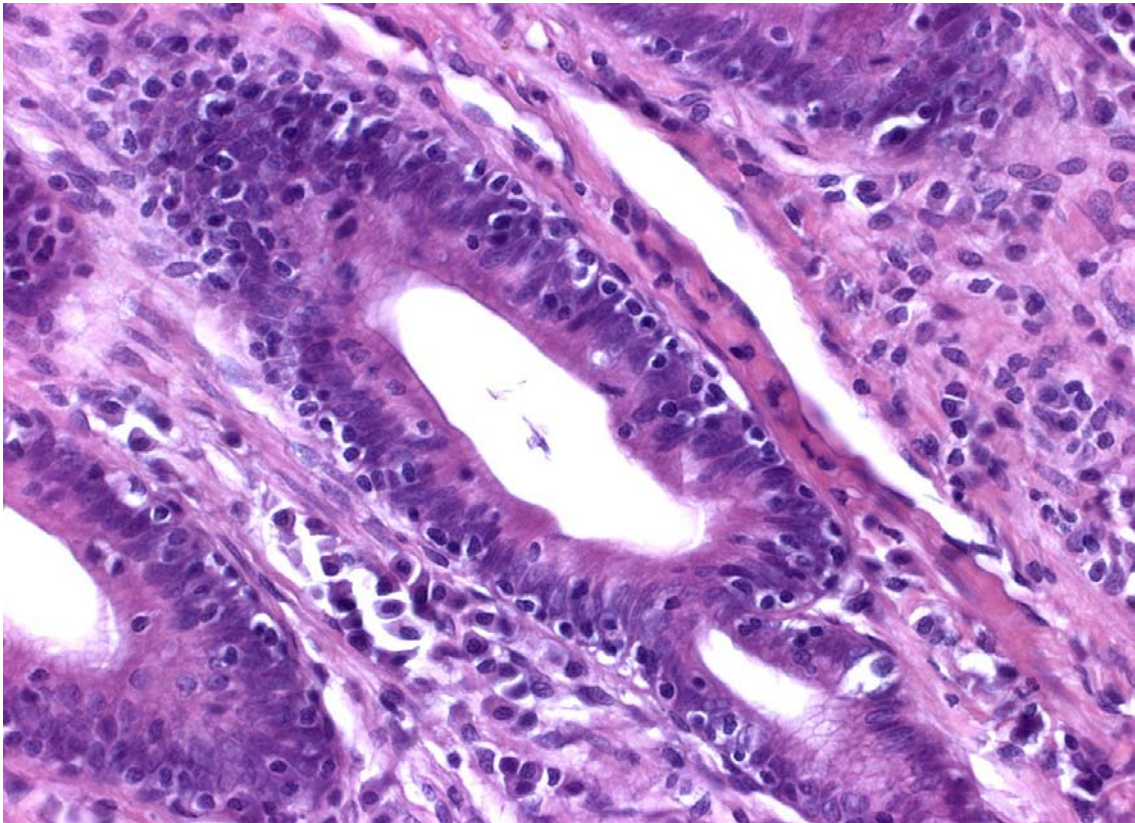


Figura 10. Mucosa gástrica de perro de calle #20 con gastritis linfoide ligera.
Tinción de Hematoxilina/eosina, 400X.

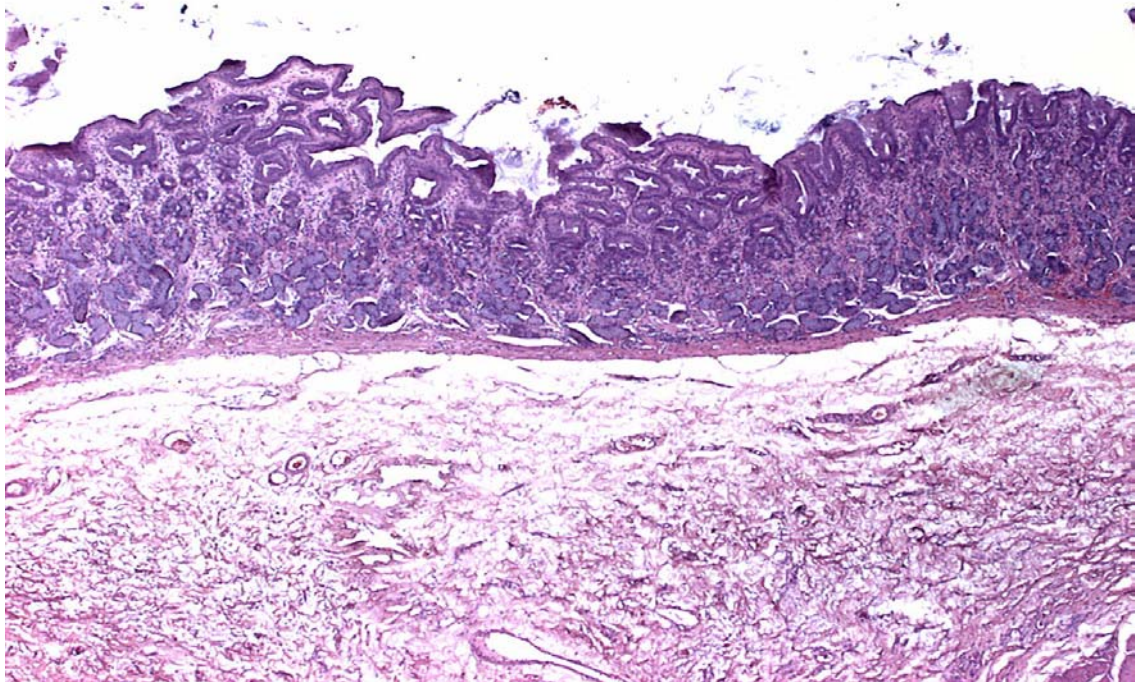


Figura 11. Mucosa gástrica de perro de calle #33 con atrofia de mucosa moderada en cuerpo.
Tinción de Hematoxilian/eosina, 400X.

LITERATURA CITADA.

- ¹ Hermanns W, Kregel K, Brever W, Lechner J. *Helicobacter* like organisms: Histopathology examination of gastric biopsies from dogs and cats: J Com Pathol.1995; 112:307-318.
- ² O'Rourke JL, Grehan M, Lee A. Non-pylory *Helicobacter* species in humans. Gut. 2001; 49:601-606.
- ³ Simpson KW, McDonough PI, Strauss-Ayali D, Chang YF, Harpending P, Valentine BA. *Helicobacter felis* infection in dogs: effect on gastric structure and function. Vet Pathol.1999; 36: 237-248.
- ⁴ Jalava K, Kaartinen M, Utriainen M, Happonen I, Hänninen ML. *Helicobacter salomonis* sp. Nov., a canine gastric *Helicobacter* sp related to *Helicobacter felis* and *Helicobacter bizzozeronii*. Int J Sys Bacteriol.1997; 47 (4): 975-982.
- ⁵ Lockard VG, Boler RK. Ultrastructure of a spiraled microorganism in the gastric mucosa of dog. Am J Vet Res.1970; 31:1423-1462.
- ⁶ Henry GA, Long PH, Burns JL, Charbonneau DL. Gastric spirollosis in Beagles. Am J Vet Res. 1987;48 (5): 831-836.
- ⁷ Fox JG, Edrize BM, Cabot EB, Beucage C, Murphy JC y Prostack KS. *Campylobacter*-like organism isolated from gastric mucosa of ferrets. Am J Vet Res.1986; 47:236-239.
- ⁸ Ceelen LM, Decostere A, Chiers K, Ducatelle R, Mares D, Haesebrouck F. Patogenesis of *Helicobacter pullorum* infection in broilers. Int J Food Microbiol. 2007; 116:207-13.
- ⁹ Moyaert H, Haesebrouck F, Baele M, Picavet T, Ducatelle R, chiers K, Ceelen L, Decostere A. Prevalence of *Helicobacter equorum* in faecal samples from horses and humans. Vet microbiol.2007; 121:378-83.
- ¹⁰ Waldenstrom J, On SL, Ottawall R, Hasselquist D, Harrington CS, Olsen B. Avian reservoirs and zoonotic potencial of the emerging human pathogen *Helicobacter canadensis*. Appl Environ Microbiol.2003; 69:7523-6.
- ¹¹ Mendes EN, Queiroz DMM, Rocha GA, Moura SB, Leite VHR y Fonseca MEF. Ultrastructure of a spiral micro-organism from pig gastric mucosa ("*Gastrospirillum suis*"). J Med Microbiol.1990; 33: 61-66

-
- ¹² Eaton KA, Randin MJ, Kramer L, Wack R, Sherding R, Krakowka S, Fox JG y Morgan DR. Epizootic gastritis associated with gastric spiral bacilli in cheetahs. *Vet Pathol.*1993; 30:55-63.
- ¹³ Terioka A, Munson L, Marker L, Aldridge BM, Soinick JV. Comparison of *Helicobacter* spp. in Cheethas (*Acinonix jubatus*) with and without gastritis. *J Clin Microbiol.*2005; 43:229-34.
- ¹⁴ Curry A, Jones DM and Eldridge J. Spiral organism in the baboon stomach. *Lancet* ii. 1987. 634-635.
- ¹⁵ Sato T and Takeuchi. Infection by Spirilla in the stomach of the monkey. *Vet Pathol.* 1982; 19:17-25
- ¹⁶ Fox JG, Edrison BM, Cabot EB, Beucage C, Murphy JC y Probst KS. *Campylobacter*-like organism isolated from gastric mucosa of ferrets. *Am J Vet Res.* 1986; 47:236-9.
- ¹⁷ Kiehlbauch JA, Brenner DJ, Cameron DN, Steigerwalt AG, Makowski JM, Baker CN, Patton CM, Wachsmuth IK. Genotypic and phenotypic characterization of *H. cinaedi* and *H. fennelliae* strains isolated from humans and animals. *J Clin Microbiol.*1995; 33:2940-7.
- ¹⁸ Fox JG, Drolet R, Higgins R, Messier S, Yan L, Coleman BE, Paster BJ, Dewhirst FE. *Helicobacter canis* isolated from a dog liver with multifocal necrotizing hepatitis. *J Clin Microbiol.*1996; 34:2479-82.
- ¹⁹ Fox JG. The non-*H. pylori* helicobacters: their expanding role in gastrointestinal and systemic diseases. *Gut.*2002; 50:273-83.
- ²⁰ Fawcett PT, Gibney KM, Vinette KM. *Helicobacter pylori* can be induced to assume the morphology of *Helicobacter heilmannii*. *J Clin Microbiol.*1999; 37:1045-8.
- ²¹ Warren JR y Marshall BJ. Unidentified curved bacilli on gastric epithelium in active chronic gastritis. *Lancet.*1983; 46:1273-5.
- ²² Jalava K, Kartinen M, Utriainen M, Happonen I, Hänninen ML. *Helicobacter salomonis* sp. Nov., a canine gastric *Helicobacter* sp related to *Helicobacter felis* and *Helicobacter bizzozeronii*. *Int J Sys Bacteriol.*1997; 47:975-82.²²
- ²³ Priestnall SL, Wiinberg B, Spohr A, Neuhaus B, Kuffer M, Wielman M, Simpson KW. Evaluation of “*Helicobacter heilmannii*” subtypes in the gastric mucosae of cats and dogs. *J Clin Microbiol.* 2004; 42:2144-51.
- ²⁴ Fawcett PT, Gibney RM, Vinette KM. *Helicobacter pylori* can be induced to assume

the morphology of *Helicobacter heilmannii*. J Clin Microbiol.1999; 37:1045-8.

²⁵ Neiger R y Simpson KW. *Helicobacter* infection in dogs and cats: facts and fiction. J Vet Inter Med.2000; 14:125-33.

²⁶ De Groote, Haesebrouck F, van Doorm LJ, Vandamme P, Ducatelle R. Evaluationn of a group-specific 16S ribosomal DNA-based PCR for detection of *Helicobacter bizzozeroni*, *Helicobacter felis* and *Helicobacter salomonis* in fresh and paraffin-embedded gastric biopsy specimens. J Clin Microbiol.2001; 39:1197-9.

²⁷ Baele M, Van den Bulck, Decostere A, Vandamme P, Hanninen ML, Ducatelle R, Haesebrouck F. Multiplex PCR assay for differentiation of *Helicobacter felis*, *H. bizzozeroni* and *H. salomonis*. J Clin Microbiol.2004; 42:115-22.

²⁸ Trebesius K, Adler K, Vieth M, Stolte M and Haas R. Specific detection and prevalence of *Helicobacter heilmannii*-like organism in the human gastric mucosa by fluorescent in situ hybridization and partial 16s ribosomal DNA sequencing. J Clin Microbiol.2001; 39:1510-6.

²⁹ Neiger R, Schuchert P, Burnens A, Tschudi M, Schmassmann A. A new PCR method for the detection of gastric *Helicobacter* species in dogs. Gut.1998; 43:118-21.

³⁰ Strauss-Ayali D, Simpson KW, Schein AH, McDonough P, Jacobson R, Valentine BA, Peacock J. Serological discrimination of dogs infected with gastric *Helicobacter spp.* and uninfected dogs. J Clin Microbiol.1999; 37:1280-7.

³¹ Handt LK, Fox JG, Dewhist FE, Frase JG, Paster BJ, Yan Li, Rozmiarek H, Rufo R, Stalis IH. *Helicobacter pylori* isolated from the domestic cat: public health implications.1994; 62:2367-74.

³² Happonen I, Linden J, Saari S, Karjalainen M, Hänninen ML, Jalava K, Westermarck E. Detection and effects of *helicobacters* in healthy dogs and dogs with signs of gastritis. J Am Vet Med Assoc.1998; 213:1767-74.

³³ Neiger R, Dieterich C, Burns A, Waldvogel A, Corthésy-Theulaz I, Halter F, Lauterburg B and Schmassmann A. Detection and prevalence of *Helicobacter* infection in pet cats. J Clin Microbiol.1998; 36:634-7.

³⁴ Dunn BE, Cohen H and Blazer. *H. pylori*. J Clin Microbiol.1997;10:720-41.

³⁵ Doenges JL. Spirochetes in the gastric glands of *macacus rhesus* and or man without related disease. Arch. Pathol.1967;25:469-77.

-
- ³⁶ Paster BJ, Lee A, Fox JG, Dewhirst FE, Tordoff LA, Fraser GJ, O'Rourke JL, Taylor NS and Ferrero R. Phylogeny of *Helicobacter felis* sp. Nov., *Helicobacter mustelae*, and related bacteria. Int J Syst Bacteriol.1991; 41:31-8.
- ³⁷ Kirkbride CA, Gates CE, Collins JE and Ritchie AE. Ovine abortion associated with an anaerobic bacterium. J Am Vet Med Assoc.1985; 186:789-91.
- ³⁸ Godwin CS, Armstrong JA, Chilvers T, Peters M, Collins MD, Sly L, McDonnell W and Sharper WES. Transfer to *Campylobacter pylori* and *Campylobacter mustelae* to *Helicobacter* gen. nov. as *Helicobacter pylori* com. nov. and *Helicobacter mustelae* com. nov., respectively. Int J Syst Bacteriol.1989; 39:397-05
- ³⁹ Vandamme P, Falsen E, Hoste R, Segers B, Tytgat P and Deley J. Revision of *Campylobacter*, *Helicobacter* and *Woinella* taxonomy: emendation of generic descriptions and proposal of *Arcobacter* gen.nov. Int J Syst Bacteriol.1991; 41:88-103.
- ⁴⁰ Vandamme P, Pot Willis B, De Vos P, Kersters K and Swings J. Polyphasic taxonomy, a consensus approach to bacterial systematics. Microbiol Rev.1996; 60:407-38.
- ⁴¹ On SLW, Holmes B. Classification and identification of *Campylobacters*, *Helicobacters* and allied taxa by numerical analysis of phenotypic tests. Syst Appl Microbiol.1996; 18:374-90.
- ⁴² On SLW, Holmes B, Sackin MJ. A probability matrix for the identification of *campylobacters*, *helicobacters* and allied taxa. J Appl Bacter.1995; 81:425-32.
- ⁴³ Brondson MA, Godwin CS, Sly LI, Chilvers T and Schoenknecht FD. *Helicobacter nemestrinae* sp. nov., a spiral bacterium found in the stomach of a pigtailed macaque (*Macaca nemestrina*). Int J Sys Bacteriol.1991; 41:148-53.
- ⁴⁴ Eaton KA, Dewhirst FE, Raddin MJ, Fox JG, Paster BJ, Krakowka S and Morgan DR. *Heliconacter acynomyx* sp. nov., isolated from cheetahs with gastritis. Int J Syst Bacteriol.1993; 43:99-106.
- ⁴⁵ Franklin CL, Beckwith CS, Livingston RS, Riley LK, Gibson SV, Besch-Williford CL and Hook RR. Isolation of a novel *Helicobacter* species, *Helicobacter cholecystus* sp. Nov., from the gall bladder of syrian hamsters with cholangiofibrosis and centrilobular pancreatitis. J Clin Microbiol.1996; 34:2952-8.
- ⁴⁶ Waynen LG, Brenner DJ, Colwel RR, Grimont PAD, Kandler O, Krichevsky MI, Moore LH, Moore WEC, Murray RGE, Stackebrandt E, Starr MP and Trüper HG.

Report of the ad hoc committee of reconciliation of approaches to bacterial systematics. Int J Syst Bacteriol.1987; 37:463-4.

⁴⁷ Totten PA, Fennell CL, Tenover FC, Wezenberg JM, Perine PL, Stam WE and Holmes KK. *Campylobacter cinaedi* (sp. nov.) and *Helicobacter fennelliae* (sp. nov.): Two new *Campylobacter* species associated with enteric disease in homosexual men. J Inf Dis.1985; 151:131-9.

⁴⁸ Stanley J, Linton D, Burners AP, Dehirst FE, Owen RJ, Porter A, On SLW and Costas M. *Helicobacter canis* sp. nov. a new species from dogs: an integrated study of phenotype and genotype. J Gen Microbiol.1993; 139:2495-504.

⁴⁹ Stanley J, Linton D, Burners AP, Dehirst FE, Owen RJ, Porter A, On SLW and Costas M. *Helicobacter pullorum* sp. nov. –genotype and phenotype of a new species isolated from poultry and human patients with gastroenteritis. Microbiology.1994; 14:3441-9.

⁵⁰ Dewhirst FE, Seymor C, Fraser GJ, Paster BJ and Fox JG. Phylogeny of *Helicobacter* isolates from bird and swine and description of *Helicobacter pametensis* sp. nov. Int J syst Bacteriol.1994; 44:553-60.

⁵¹ Paster BJ, Lee A, Fox JG, Dewhirst FE, Tordoff LA, Frase GJ, O'Rourke JL, Taylor NS and Ferrero R. Phylogeny of *Helicobacter felis* sp. nov., *Helicobacter mustelae*, and related bacteria. Int Syst Bacteriol.1991; 41:31-8.

⁵² Lee A, Phillips MW, O'Rourke JL, Paster BJ, Dewhirst, Fraser GJ, Fox JG, Sly LI, Romaniuk PG, Trust TJ and Kouprach S. *Helicobacter muridarum* sp. nov., a microaerophilic helical bacterium with a novel ultrastructure isolated from the intestinal mucosa of rodents. Int J Syst Bacterial.1992; 42:27-6.

⁵³ Fox JG, Dewhirst Fe, Tully JG, Paster BJ, Yan L, Taylor NS, Collins MJ, Gorelick PR and Ward JM. *Helicobacter hepaticus* sp. nov., a microaerophilic bacterium isolated from livers and intestinal mucosal scrapings from mice. J Clin Microbiol.1994; 32:1238-45.

⁵⁴ Fox JG, Yan LL, Dewhirst FE, Paster BJ, Shames B, Murphy JC, Hayward A, Belcher JC and Mendes EN. *Helicobacter bilis* sp. nov., a novel *Helicobacter* species isolated from bile, livers and intestines of aged, inbred mice. J Clin Microbiol.1995; 33:445-54.

-
- ⁵⁵ Shen Z, Fox JG, Dewhirst DE, Paster BJ, Foltz CJ, Yan L, Sahmes B and Perry L. *Helicobacter rodentium* sp. nov., a urease-negative *Helicobacter* species isolated from laboratory mice. *Int J Syst Bacteriol.*1997; 47:627-34.
- ⁵⁶ Stackebrandt E and Goebel BM. Taxonomic note: A place for DNA-DNA reassociation and 16S rRNA sequence analysis in the present species definition in bacteriology. *Int J Syst Bacteriol.*1994; 44:846-9.
- ⁵⁷ McGavin MD, Carlton WW, Zachary JF. *Special Veterinary Pathology Thomson's*. Ed Mosby. USA. 2001. 3ra ed.p:26-8.
- ⁵⁸ Nelson RW, Couto CG. *Small Animal Internal Medicine*. Ed Mosby. USA. 2003. 3ra ed. p: 455-7.
- ⁵⁹ Lee A, Krakowka S, Fox JG, Otto G, Eaton KA, Murphy JC. Role of *Helicobacter felis* in chronic canine gastritis. *Vet Pathol.*1992; 29:487-94.
- ⁶⁰ Salih BA, Abasiyanik MF, Bayurt N, Sander E. *H. pylori* infection and other risk factors associated with peptic ulcers in Turkish patients: a retrospective study. *World J Gastroenterol.*2007; 13:3245-8.
- ⁶¹ Rocco A, Nardote G. Diet, *H. pylori* infection and gastric cancer: evidence and controversias. *World J Gastroenterol.*2007; 13:2901-12.
- ⁶² Cartago MC, Lazcano-Ponce E, Torres J, Velasco-Mondragón E, Quintero M, Correa P. Determinants of *Helicobacter pylori* seroprevalence in Mexican adolescents. *Helicobacter.*2004; 9:106-14.
- ⁶³ Utas S, Ozbarik O, Turasan A, Utas C. *Helicobacter pylori* eradication treatment reduces the severity of rosacea. *J Am Acad Dermatol.*1999; 40:433-5.
- ⁶⁴ Boxeida de Miguel D, Vázquez Romero M, Vázquez Sequeiros E, Foruny Olcina JR, Boxeida de Miguel P, López San Román A, Alemán Villanueva S, Martín de Argila de Prados C. Effect of *Helicobacter pylori* eradication therapy in rosacea patients. *Rev Esp Enferm Dig.* 2006; 98:501-9.
- ⁶⁵ Daudén E, Jiménez-Alonso I, García-Diez A. *Helicobacter pylori* and idiopathic chronic urticaria. *Int J Dermatol.*2000; 39:446-52.
- ⁶⁶ Atherton JC, Blazer MJ. Infecciones por *Helicobacter pylori*: Principios de Medicina Interna Harrison.1998.14 ed. Cap 156:1076-9.
- ⁶⁷ Moreira A, Rodrigues J, Delgado L, Fonseca J, Vaz M. Is *Helicobacter pylori* infection associated with chronic idiopathic urticaria? *Allergol immunopathol (Madr).* 2003; 31:209-14.

-
- ⁶⁸ Kounturas J, Mylopoulos N, Boura P, Bessas C, Chatzopoulos D, Venizelos J, Zavos C. Relationship between *Helicobacter pylori* infection and glaucoma. *Ophthalmology*.2001; 108:599-04.
- ⁶⁹ Kounturas J, Mylopoulos N, Chatzopoulos D, Zavos C, Boura P, Konstas AG, Vénselos J. Eradication of *Helicobacter pylori* may be beneficial in the management of chronic open-angle glaucoma. *Arch Intern Med*.2002; 162:1237-44.
- ⁷⁰ Kowalski M, Pawlik M, Konturek JW, Kouturek SJ. *Helicobacter pylori* infection in coronary artery disease. *J Physiol Pharmacol*.2006; 57:101-11.
- ⁷¹ Kowalski M. *Helicobacter pylori* infection in coronary artery disease: influence of *H.pylori* eradication on coronary artery lumen percutaneous transluminal coronary angioplasty. The detection of *H. pylori* specific DNA in human coronary atherosclerotic plaque. *J Physiol Pharmacol*.2001; 54:3-13.
- ⁷² Sawayama Y, Ariyama I, Hamada M, Otaguro S, Machi T, Taira Y, Hayashi J. Association between chronic *Helicobacter pylori* infection and acute ischemic stroke: Fukuoka Harasanshin Atherosclerosis Trial (FHAT). *Atherosclerosis*.2005; 178:303-9.
- ⁷³ Singh RK, McMahon AD, Patel H, Packard CJ, Rathbone BJ, Samani NJ. Prospective analysis of the association of infection with CagA bearing strains of *Helicobacter pylori* and coronary heart disease. *Hearth*.2002; 88:43-6.
- ⁷⁴ Mendall MA, Goggin PM, Molineaux M, Levy J. Relation of *Helicobacter pylori* infection and coronary heart disease. *Br Hearth J*.1994; 71:437-9.
- ⁷⁵ Rad R, Schmid RM, Prinz C. *Helicobacter pylori*, iron deficiency and gastric autoimmunity. *Blood*.2006; 15107:1673-9.
- ⁷⁶ Qayoom S, Ahmad QM. Psoriasis and *Helicobacter pylori*. *Indian J Dermatol Venerol Leprol*. 2003; 69:133-4.
- ⁷⁷ Kawakami T, Watabe H, Mizoguchi, Soma Y. Elevated serum IgA anticardiolipin antibody levels in adult Henoch-Schonlen purpura. *Br J Dermatol*. 2006; 155:983-7.
- ⁷⁸ N6vak J, Skekanecz Z, Sebesi J, Tak6ts A, Remeter P, Bene L, Spika S, Csiki Z. Elevated levels of anti-*Helicobacter pylori* antibodies in Henoch-Schonlein purpura. *Autoimmunity*. 2003; 36:307-11.
- ⁷⁹ Galadari IH, Sheriff MO. The role of *Helicobacter pylori* in urticaria and atopic dermatitis. *Skinmed*.2006; 5:172-6.

-
- ⁸⁰ Cullinan P, Harris JM, Newman Taylor AJ, Jones M, Taylor P, Dave JR, Mils O, Moffat Sa, White CW, Fig. JK, Moon AM, Barnes MC. Can early infection explain the sibling effect in adult atopy? *Eur Respir J.* 2003; 22:956-61.
- ⁸¹ Migneco A, Ojetto V, Specchia L, Franceschi F, Candelli M, Mettimano M, Montebelli R, Sari L, Gasbarrini G. Eradication of *Helicobacter pylori* infection improves blood pressure values in patients affected by hypertension. *Helicobacter.* 2003; 8:585-9.
- ⁸² Beepers DG, Lip GY, Blan AD. SALT intake and *Helicobacter pylori* infection. *J Hyperts.* 2004;22:1455-7.
- ⁸³ Blei AT. *Helicobacter pylori*, harmful to the brain? *Gut.* 2001;48:590-1.
- ⁸⁴ Dasari BM, Sigal SH, Liebre CS. Analysis of the risk factors for chronic hepatic encephalopathy: the role of *Helicobacter pylori* infection. *Am J Gastroenterol.* 1998; 93:726-31.
- ⁸⁵ Graham DY, Evans DJ, Peacock J, Baker T and Schrier WH. Comparison of rapid serological test (FlexSure HP and QuickVue) with conventional ELISA for detection of *Helicobacter pylori* infection. *Am J Gastroenterol.* 1996; 91:942-8.
- ⁸⁶ Mégrud F, Brassens-Rabbe MP, Denis F, Belbouri A, Hoa A. Seroepidemiology of *Campylobacter pylori* infection in various population. *J Clin Microbiol.* 1989; 27:1870-3.
- ⁸⁷ Webb PM, Knight T, Graves S, Wilson A, Newell DG, Elder J, Forman D. Relation between infection with *Helicobacter pylori* and living conditions in childhood: Evidence for person to person transmission in early life. *Br Med J.* 1994; 308:750-3.
- ⁸⁸ Heilman KL, Borchard F. Gastritis due to spiral shaped bacteria other than *Helicobacter pylori*: Clinical, histological, and ultrastructure findings. *Gut.* 1991; 32:137-40.
- ⁸⁹ McNulty CAM, Dent JC and Carry A. New spiral bacterium in gastric mucosa. *J Clin Pathol.* 1989; 42:485-91.
- ⁹⁰ Torres J, Leal-Herrera Y, Perez-Perez G, Gomez A, Camorlinga-Ponce M, Cedillo-Rivera R, Tapia-Conyer R, Muñoz O. A Community-Based Seroepidemiologic Study of *Helicobacter pylori* Infection in Mexico. *J Infect Dis.* 1998; 178:1089-94.
- ⁹¹ Brown LM, Thomas TL, Ma JL, Chang YS, You WC, Liu WD, Zhang L, Pee D, Gail MH. *Helicobacter pylori* infection in rural China: demographic, lifestyle and environmental factors. *Int J Epidemiol.* 2002; 31:646-7.

-
- ⁹² Cave DR. Epidemiology and Transmission of *Helicobacter pylori* Infection. How Is *Helicobacter pylori* Transmitted?. Gastroenterology.1997; 113:9-14.
- ⁹³ Brown LM. *Helicobacter pylori*: epidemiology and routes of transmission. Epidemiol Rev.2000; 22:283-97.
- ⁹⁴ Taylor DN, Blazer MJ. The epidemiology of *Helicobacter pylori* infection. Epidemiol Rev.1991; 13:42-59.
- ⁹⁵ Kelly SM, Pitcher MCL, Farmery SM, Gibson GR. Isolation of *Helicobacter pylori* from faeces of patients with dyspepsia in the United Kingdom. Gastroenterol.1994; 107:1671-4.
- ⁹⁶ Thomas JE, Gibson GR, Darboe MK, Dale A and Weaver LT. Isolation of *Helicobacter pylori* from human faeces. Lancet.1992; 340:1194-5.
- ⁹⁷ Ahmed KS, Khan AA, Ahmed I, Tiwari SK, Habeeb A, Ahi JD, Abid Z, Ahmed N, Habilullah CM. Impact of household hygiene and water source on the prevalence and transmission of *Helicobacter pylori*: a South Indian perspectiva. Singapore Med J. 2007; 48:543-9.
- ⁹⁸ Nurgalieva ZZ, Malaty HM, Graham DY, Almuchambetova R, Machmudova A, Kapsultanova D, Osato MS, Hollinger FB, Zhangabylou A. *Helicobacter pylori* infection in Kazakhstan: effect of water source and household hygiene. Am J Trop Med Hyg.2002; 67:201-6.
- ⁹⁹ García Campos JM, Alarcón T, López Brea M. La infección por *Helicobacter pylori* (en línea) BioPress.net 8, Dic 2003 (Fecha de ingreso 10 septiembre del 2004) URL disponible en: <http://www.biopress.net/articulos/articulo>
- ¹⁰⁰ Hegarty JP, Dowd MT, Baker KH. Occurrence of *Helicobacter pylori* in surface water in the United States. J Appl Environ Microbiol.1999; 87:697-701.
- ¹⁰¹ Mazari-Hiriart M, López-Vidal Y y Calva JJ. *Helicobacter pylori* in water systems for humans use in Mexico city. Water Sci Technol.2001; 43:93-8.
- ¹⁰² Mazari-Hiriart M, López-Vidal Y, Castillo-Rojas G, Ponce-de-León S, Cravioto A. *Helicobacter pylori* and other enteric bacteria in freshwater environments in Mexico city. Arch Med Res.2001; 32:458-67.
- ¹⁰³ Mazari-Hiriart M, López-Vidal Y, Ponce-de-León S, Calva JJ, Rojo-Callejas, Castillo-Rojas G. Longitudinal study of microbial diversity and seasonality in the Mexico City metropolitan area water supply system. Appl Environ Microbiol.2005; 71:5129-37.

-
- ¹⁰⁴ Weber AF, Hasa O, Sautter JH. Some observations concerning the presence of spirilla in the fundic glands of dogs and cats. *Am J Vet Res.*1958; 19:672-80.
- ¹⁰⁵ Eaton KA, Dewhirst FE, Paster BJ, Tzellas N, Coleman BE, Paola J, Sherding N. Prevalence of varieties of *Helicobacter* species in dogs from random sources and pet dogs: Animal and public health implications. *J Clin Microbiol.*1996; 34:3165-70.
- ¹⁰⁶ Wang JT, Sheu JC, Lin JT, Wang TH, Wu MS. Direct DNA amplification and restriction pattern analysis of *Helicobacter pylori* in patients with duodenal ulcer and their families. *J Infect Dis.*1993; 168:1544-8.
- ¹⁰⁷ Vincent P, Gottrand F, Pernes P, Husson MO, Lecomte-Houcke M, Turk D, Leclerc H. High prevalence of *Helicobacter pylori* infection in cohabiting children. Epidemiology of a cluster with special emphasis on molecular typing. *Gut.*1994; 35:313-6.
- ¹⁰⁸ Akopyanz N, Buknow NO, Westblom TU, Kresovich S and Berg DE. DNA diversity among clinical strains of *Helicobacter pylori* detected by PCR- based RAPD fingerprinting. *Nucleic Acid Res .*1992; 20:5137-42.
- ¹⁰⁹ Owen RJ, Hunton C, Bickely J, Moreno M, Linton D. Ribosomal RNA gene restriction patterns of *Helicobacter pyori*: Analysis and appraisal of HaeIII digest as a molecular typing system. *Epidemiol Infect.*1992; 109:35-47.
- ¹¹⁰ Cronmiller JR, Nelson DK, Jackson DK, Cheng HK. Efficacy of conventional endoscopic disinfection and sterilization methods against *Helicobacter pylori* contamination. *Helicobacter.*1999; 4:198-03.
- ¹¹¹ Akamatsu T, Tabata K, Hironaga M, Kawakami H, Uyeda M. Transmission of *Helicobacter pylori* infection via flexible fiberoptic endoscopy. *Am J Infect Control.*1996; 24:396-01.
- ¹¹² Geyer C, Cobalzky F, Lechner J, Hermanns W. Ocurrence of spiral-shaped bacteria in gastric biopsies of dogs and cats. *Vet Rec.*1993; 133:18-9.
- ¹¹³ Otto G, Hazell SH, Fox JG, Howlett CR, Murphy JC, O'Rourke JL, Lee S. Animal and public health implications of gastric colonization of cats by *Helicobacter*-like organisms. *J Clin Microbiol.*1994; 32:1043-9.
- ¹¹⁴ De Majo M, Pennisi MG, Carbone M, Feres MT, Masucci M, Meli F, Cavallari V. Ocurrence of *Helicobacter* spp. in gastric biopsies of cats living in different kind of colonies. *Eur J Comp Gastroenterol.*1998; 3:13-8.

-
- ¹¹⁵ Yamasaki K, Suematsu H, Takahashi T. Comparison of gastric lesions in dogs and cats with and without gastric spiral organism. *J Am Vet Med Assoc.*1998; 212:529-33.
- ¹¹⁶ Morgner A, Lehn N, Andresen LA, Thiede C, Bennedsen M. *Helicobacter heilmannii*-Associated Primary Gastric Low-Grade MALT Lymphoma: Complete Remission After Curing the Infection. *Gastroenterology.*2000; 118:821-8.
- ¹¹⁷ Dubouis A. A spiral bacteria in the human stomach: The gastric *Helicobacters*. *Emerg Infect Dis.*1995; 1:79-85.
- ¹¹⁸ Mazzucheli L, Wilder Smith CH, Ruchti C, Meyer-Wyss B, Merki HS. *Gastrospirillum hominis* in asymptomatic, healthy individuals. *Dig Dis Sci.*1993; 38:2087-9.
- ¹¹⁹ Stolte M, Kroher G, Meining A, Morgner A, Bayerdörffer E. A comparison of *Helicobacter pylori* and *H. heilmannii* gastritis. A matched control study involving 404 patients. *Scand J Gastroenterol.*1997; 32:28-33.
- ¹²⁰ Norris NC, Marks SL, Eaton KA, Torabian SZ, Munn RJ. Healthy cats are commonly colonized with "*Helicobacter heilmannii*" that is associated with minimal gastritis. *J Clin Microbiol.*1999; 37:189-94.
- ¹²¹ Jalava K, Harrington CS, Andersen Leif, Aníñen M. A cultured strain of "*Helicobacter heilmannii*" on a human gastric pathogen identified as "*Helicobacter bizzozeronii*", evidence for zoonotic potential of *Helicobacter*. *Emerg Infect Dis.* 2001; 7:1036-8.
- ¹²² Haponen I. Canine and Feline gastric *Helicobacters*: Diagnosis and significance in chronic gastritis. Academic dissertation. Presented in Auditorium Maximum, Håmeentie 57, 00580 Helsinki. 1999.
- ¹²³ Haponen I, Linen J, Westermarck E. Effect of triple therapy on eradication of canine gastric *Helicobacters* and gastric disease. *J Small Anim Pract.*2000; 41:1-6.
- ¹²⁴ Fox JC, Perkins S, Yan L, Shen A, Attardo L. Local immune response in *Helicobacter pylori*-infected cats and identification of *H. pylori* in saliva, gastric fluid and faeces. *Inmunology.*1996; 88:400-6.
- ¹²⁵ Hernández CA, Gallón G. *Helicobacters* gástricos en perros y gatos: mínimo riesgo en salud pública. *Rev Col Cienc Pec.*2004; 17:267-73.
- ¹²⁶ Suerbaum S, Michetti P. *Helicobacter pylori* infection *Rev. N Engl J Med.* 2002; 347:1175-86.

-
- ¹²⁷ Tomb JF, White O, Kerlavage AR. The complete genome sequence of the gastric pathogen *Helicobacter pylori*. *Nature*.1997; 246:398-12.
- ¹²⁸ The pylori gene. Nacional Center of Biotechnology Information; 26695; J99. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>
- ¹²⁹ Clyne M, Drumm B. The urease enzyme of *Helicobacter pylori* does not function as an adhesin. *Infect Immun*. 1996;64:2817-20.
- ¹³⁰ Weeks DL, Eskandari S, Scout DR, Sachs G. A H⁺-gated urea channel: the link between *Helicobacter pylori* ureasa and gastric colonization. *Science*.2000; 287:482-5.
- ¹³¹ Suerbaum S, Josenhans C, Labigne A. Cloning and genetic characterization of *Helicobacter pylori* and *Helicobacter mustalae* flan flagellin genes and construction of *H. pylori* flaA-negative mutants by electroporation-mediated allelic exchange.*J Bacteriol*.1993; 175:3278-88.
- ¹³² Yan J, Liang SH, Mao YF, Li LW, Li SP. Construction of expression systems for flaA and flan genes of *Helicobacter pylori* and determination of immunoreactivity and antigenicity of recombinant proteins. *World J Gastroenterol*.2003; 9:2240-50.
- ¹³³ Pride DT, Meinersmann RJ, Blazer MJ. Allelic variation within *Helicobacter pylori* babA y babB. *Infect and Immun*.2001; 69:1160-71.
- ¹³⁴ Cao P, Cover TL. Two different familias of hopQ alleles in *Helicobacter pylori*. *J Clin Microbiol*. 2002; 40:4504-11.
- ¹³⁵ Henning EE, Allen JM, Cover TL. Multiple chromosomal loci for the babA gene in *Helicobacter pylori*. *Infect Immun*.2006; 74:3046-51.
- ¹³⁶ Henning EE, Mernaugh R, Edl J, Cao P, Cover TL. Heterogeneity among *Helicobacter pylori* strains in expression on the outer membrana protein BabA. *Infect Immun*.2004; 72:3429-35.
- ¹³⁷ Yamasaki E, Wada A, Kumatori A, Nakagama I, Fuano J, Nakayama M, Hisatsune J, Kimura M, Moss J, Hirayama T. *Helicobacter pylori* vacuolating cytotoxin induces activation of the proapoptotic proteins Bax and Bak, leading to cytochrome c realease and cell death, independent of vacuolation. *J Biol Chem*.2006; 281:11250-9.
- ¹³⁸ Willhite DC, Cover TL, Blande SR. Cellular vacuolation and mitochondrial cytochrome c realease are independent outcomes of *Helicobacter pylori* vacuolating cytotoxin activity that are each dependent on membrana channel formation. *J Biol Chem*.2003; 278:48204-9.

-
- ¹³⁹ Salama NR, Otto G, Tompkins L, Falkow S. Vacuolating cytotoxin of *Helicobacter pylori* plays a role during colonization in a mouse model of infection. *Infect Immun.*2001; 69:730-6.
- ¹⁴⁰ Atherton JC, Peek RM Jr, Tham KT, Cover TL, Blaser MJ. Clinical and pathological importance of heterogeneity in vacA, the vacuolating cytotoxin gene of *Helicobacter pylori*. *Gastroenterology.*1997; 112:92-9.
- ¹⁴¹ Bauer B, Moese S, Bartfeld S, Meyer TF, Selbach M. Analysis of cell type-specific responses mediated by the type IV secretion system of *Helicobacter pylori*. *Infect Immun.*2005; 73:4643-52.
- ¹⁴² Andrzejewska J, Lee SK, Olbermann P, Lotzing N, Katzawitsch E, Linz B, Achtman M, Kado CI, Suerbaum S, Josenhans C. Characterization of the pilin ortholog of the *Helicobacter pylori* type IV cag pathogenicity apparatus, a surface-associated protein expressed during infection. *J Bacteriol.* 2006; 188:5865-77.
- ¹⁴³ Bourzac KM, Satkamp LA, Guillemin K. The *Helicobacter pylori* Cag pathogenicity island protein CagN is a bacterial membrane-associated protein that is processed at this C terminus. *Infect and Immun.*2006; 74:2537-43.
- ¹⁴⁴ Couturier MR, Tasca E, Montecucco C, Stein M. Interaction with CagF is required for translocation of CagA into the host via the *Helicobacter pylori* type IV secretion system. *Infect Immun.*2006; 74:273-81.
- ¹⁴⁵ Siomany BL, Siomany A. Interference by leptin with *Helicobacter pylori* lipopolysaccharides-induced cytosolic phospholipase A2 activation in gastric mucosal cells. *J Physiol Pharmacol.*2007; 58:117-30.
- ¹⁴⁶ Alamuri P, Maier RJ. Methionine sulfoxide reductase in *Helicobacter pylori*: interaction with methionine-rich proteins and stress-induced expression. *J Bacteriol.*2006; 188:58339-50.
- ¹⁴⁷ Seyler RW Jr, Olson JW, Maier RJ. Superoxide dismutase-deficient mutants of *Helicobacter pylori* are hypersensitive to oxidative stress and defective in host colonization. *Infect and Immun.*2001; 69:4034-40.
- ¹⁴⁸ Moran AP, Knirel YA, Senchenkova SN, Widmalm G, Hynes SO, Janson PE. Phenotypic variation in molecular mimicry between *Helicobacter pylori* lipopolysaccharides and human gastric epithelial cell surface glycoforms. Acid-induced phase variation in Lewis(x) and Lewis(y) expression by *H. pylori* lipopolysaccharides. *J Biol Chem.*2002; 277:5785-95.

-
- ¹⁴⁹ Wirth HP, Yang M, Sanabria-Valentín E, Berg DE, Dubois A, Blaser MJ. Host Lewis phenotype-dependent *Helicobacter pylori* Lewis antigen expresión in *rhesus* monkeys. *FASEB J.*2006; 20:1534-6.
- ¹⁵⁰ Beswick EJ, Das S, Pinchuk IV, Adegboyega P, Suárez G, Yamaoka Y, Reyes VE. *Helicobacter pylori*-induced IL-8 production by gastric epithelial cells up-regulates CD74 expression. *J Immunol.*2005; 175:171-6.
- ¹⁵¹ Sebroka L, Pellicanò A, Montelene G, Grazioli B, Guamieri G, Imeneo M, Pallone F, Luzca F. Extracellular signal-regulated protein kinase mediated interleukin 17(IL-17)-induced IL-8 secretion in *Helicobacter pylori*-infected human gastric epithelial cells. *Infect Immun.* 2004;72:5019-26.
- ¹⁵² Lu H, Wu JY, Kudo T, Ohno T, Graham DY, Yamaoka Y. Regulation of interleukin-6 promoter activation in gastric epithelial cells infected with *Helicobacter pylori*. *Mol Biol Cell.*2005; 16:4954-66.
- ¹⁵³ Yamoka Y, Kudo T, Lu H, Casola A, Basier AR, Graham DY. Role of interferon-stimulated responsive element-like element in interleukin-8 promoter in *Helicobacter pylori* infection. *Gastroenterology.*2004; 126:1030-43.
- ¹⁵⁴ Beswick EJ, Pinchuk W, Minch K, Suárez G, Sierra JC, Yamaoka Y, Reyes VE. The *Helicobacter pylori* urease B subunit binds to CD74 on gastric epithelial cells and induces NF-kappaB activation and interleukin-8 production. *Infect and Immun.*2006; 74:1148-55.
- ¹⁵⁵ Sharma SA, Tummuru MK, Blazer MJ, Kerr LD. Activation of IL-8 gene expression by *Helicobacter pylori* is regulated by transcription factor nuclear factor-kappa B in gastric epithelial cells. *J Immunol.*1998; 160:2401-7.
- ¹⁵⁶ Belaes IL, Post L, Calam J, Yamada T, Delvalle J. Tumour necrosis factor alpha stimulates gastrin release from canine and human antral G cells: possible mechanism of the *Helicobacter pylori*-gastrin link. *Eur J Clin Invest.*1996; 26:609-11.
- ¹⁵⁷ Norris CR, Marks SL, Eaton KA, Solnick JV. Healthy cats are commonly colonized with "*Helicobacter heilmannii*" that is associated with minimal gastritis. *J Clin Microbiol.*1999; 37:189-94.
- ¹⁵⁸ Peyrol S, Lecoindre I, Berger I. Differential pathogenic effect of two *Helicobacter*-like organism in dog gastric mucosa. *J Submicrosc Cytol Pathol.*1998; 30:425-33.
- ¹⁵⁹ Lee A, Fox JC, Hazell S. Pathogenicity of *Helicobacter pylori*: a perspective. *Infect Immun.*1993; 61:1601-10.

-
- ¹⁶⁰ Fox JG, Blanco M, Murphy JC, Taylor NS, Lee A, Kabok Z, Pappo J. Local and systemic immune responses in murine *Helicobacter felis* active chronic gastritis. *Infect Immun.*1993; 61:2309-15.
- ¹⁶¹ Fox JC, Correa P, Taylor NS, Lee A, Otto G, Murphy JC, Rose R. *Helicobacter mustelae*-associated gastritis in ferrets. An animal model of *Helicobacter pylori* gastritis in humans. *Gastroenterology.*1990; 99:352-61.
- ¹⁶² Krogfelt KA, Lehours P, Mégraud F. Diagnosis of *Helicobacter pylori* infection. *Helicobacter.* 2005; 10:5-13.
- ¹⁶³ Han SW, Flamm R, Hachem CY, Kim HY, Clarridge JE, Evans DG, Beber J, Drnec J, Graham DY. Transport and storage of *Helicobacter pylori* from gastric mucosal biopsias and clinical isolates. *Eur J Clin Microbiol. Infect and Immun Dis.*1995; 14:349-52.
- ¹⁶⁴ Heep M, Scheibl K, Degrell A, Lehn N. Transport and storage of fresh and frozen gastric biopsy specimens for optimal recovery of *Helicobacter pylori*. *J Clin Microbiol.*1999; 37:3764-6.
- ¹⁶⁵ Fox JG, Taylor NS, Edmonds P and Brenner DJ. *Campylobacter pylori* subsp. *Mustelae* subsp. nov. isolated from the gastric mucosa of ferrets (*Mustela putorius furo*), and an emended description of *Campylobacter pylori*. *Int J Syst Bacteriol.*1988; 38:367-70.
- ¹⁶⁶ Dalla Libera M, Pazzi P, Carli G, Contato E, Piva I, Scagliarini R, Merighi A, Ricci N, Guillini S. Brush cytology: a reliable method to detect *Helicobacter pylori*. *J Clin Gastroenterol.*1996; 22:317-21.
- ¹⁶⁷ Custódio Rde O, Daher RR, Ximenes YR, Silverio Ade O, Custódio NR. *Helicobacter pylori* identification by brush gastric cytology: a comparison with histologic method. *Rev Soc Bras Med Trop.*2005; 38:322-5.
- ¹⁶⁸ Strauss-Ayali D, Scanziani E, Deng D, Simpson KW. *Helicobacter* spp. infection in cats: evaluation of the humoral immune response and prevalence of gastric *Helicobacter* spp. *Vet Microbiol.*2001; 79:253-65.
- ¹⁶⁹ Randin MJ, Eaton KA, Krakowkas S, Morgan DR, Lee A, Otto G, Fox J. *Helicobacter pylori* gastric infection in gnotobiotic Beagles dogs. *Infect Immun.*1990; 58:2606-12.
- ¹⁷⁰ Taylor CR, Cote RJ. Immunomicroscopy: a diagnostic tool for the surgical pathologist. WB Saunders Company. USA.1994.p:5-45.

-
- ¹⁷¹ Scanziani E, Simpson KW, Monestiroli S, Soldati S, Strauss-Ayali D, Del Piero F. Histological and immunohistochemical detection of different *Helicobacter* species in the gastric mucosa of cats. J Vet Diagn Invest.2001; 13:3-12.
- ¹⁷² Rossi G, Fortuna D, Pancotto L, Renzoni G, Taccini E, Ghiara P, Rappuoli, Del Giudice G. Immunohistochemical study of lymphocyte populations infiltrating the gastric mucosa of beagle dogs experimentally infected with *Helicobacter pylori*. Infect Immun.2000; 68:4769-72.
- ¹⁷³ Prachasilpchtham S, Nuanualsuwan S, Chatsuwana T, Techangamsuwan S, Wangnaitam S, Sailasuta A. Diagnosis of *Helicobacter* spp. infection in canine stomach. J Vet Sci.2007; 8:139-45.
- ¹⁷⁴ Weber AF and Schmittiel EF. Electron Microscopic and bacteriologic studies of spirilla isolated from the fundic stomachs of cats and dogs. Am J Vet Res.1962; 39:334-37.
- ¹⁷⁵ Stoffel MH, Friess AE, Bournes A, Schamassmann A, Neiger R. Distinction of gastric *Helicobacter* spp. in humans and domestic pets by scanning electron microscopy. Helicobacter.2000; 5:232-9.
- ¹⁷⁶ Lee A, Hazzell SL, O'Rourke J, Kouprach S. Isolation of a spiral-shaped bacterium from the cat stomach. Infect Immun.1998; 29:487-94.
- ¹⁷⁷ Haponen I, Saari S, Castren L, Tyni O, Hanninen ML, Westermarck E. Comparison of diagnostic methods for detecting gastric *Helicobacter*-like organism in dogs and cats. J Comp Pathol.1996; 115:117-27.
- ¹⁷⁸ Simpson KW, Strauss-Ayali D, McDonough PL, Chang YK, Valentine BA. Gastric function in dogs with naturally acquired *Helicobacter* spp. infection. J Vet Intern Med.1999; 13:507-15.
- ¹⁷⁹ Goodwin CS, Blinkow ED, Warren JR, Waters TE, Sanderson CR and Easton L. Evaluation of cultural techniques of isolating *Campylobacter pyloridis* from endoscopic biopsies of gastric mucosa. J Clin Pathol.1985; 38:1127-31.
- ¹⁸⁰ Veenendahl RA, Lichtendahl-Bernands AT, Peña AS, Endtz HP, van Boven CP, Lames CB. Effect of transport medium and transportation time on culture of *Helicobacter pylori* from gastric biopsy specimens. J Clin Pathol.1993; 46:561-3.
- ¹⁸¹ Hachem CY, Clarridge JE, Evans DG, Graham DY. Comparison of agar based media for primary isolation of *Helicobacter pylori*. J Clin Pathol.1995; 48:714-6.

-
- ¹⁸² Vannechoutte M, Boerlin P, Trichy HV, Bannerman E, Jager B and Bille I. Comparison of PCR-based DNA fingerprinting techniques for the identification of *Listeria* species and their use for atypical *Listeria* isolates. *Int J Syst Bacteriol.*1998; 48:127-39.
- ¹⁸³ De Groote D, Haesebrouck F, van Doorn LJ, Bañadme P and Ducatelle R. Evaluation of a Group-Specific 16S ribosomal DNA-Based PCR for detection of *Helicobacter bizzozeronii*, *Helicobacter felis* and *Helicobacter salomonis* in fresh paraffin-embedded gastric biopsy specimens. *J Clin Microbiol.*2001; 39:1197-9.
- ¹⁸⁴ Dunn BE, Cohen H and Blazer MJ. *Helicobacter pylori*. *J Clin Microbiol Rev.*1997; 10:720-41.
- ¹⁸⁵ Madnier IM, Fosse TM and Montiel RA. Oral carriage of *Helicobacter pylori*: a review. *J Periontodol.*1997; 68:2-6.
- ¹⁸⁶ Mapstone NP, Lewis FA, Tompkins DS, Lynch ADF, Axon ATR, Dixon MF and Quirke P. PCR identification of *Helicobacter pylori* in faeces from gastritis patients. *Lancet.*1993; 341:447-8.
- ¹⁸⁷ Wahlfors J, Meurman JH, Toskala J, Korhonen A, Alakuijala P, Janatuinen E, Kärkkäinen UM and Nuutinen PJP. Development of a rapid PCR method for identification of *Helicobacter pylori* in dental plaque and gastric biopsy specimens. *Eur J Clin Microbiol Inf Dis.*1995; 14:780-6.
- ¹⁸⁸ Yoshida H, Hirota K, Shiratori Y, Nihei T, Amano S, Yoshida A, Kawamata O and Omata M. Use of gastric juice-based PCR assay to detect *Helicobacter pylori* infection in culture-negative patients. *J Clin Microbiol.*1998; 36:317-20.
- ¹⁸⁹ Kong L, Smith JG, Bramhill D, Abruzzo GK, Bonfiglio C, Cioffe C, Flattery AM, Gill CJ, Lynch L, Scott PM, Silver L, Thompson C, Kropp H and Bartizal K. A sensitive and specific PCR method to detect *Helicobacter felis* in a conventional mouse model. *Clin Diagn Lab Immunol.*1996; 3:73-8.
- ¹⁹⁰ Monteiro L, Hua J, Birac C, Lamouliatte H and Megraud F. Quantitative polymerase chain reaction for the detection of *Helicobacter pylori* in gastric biopsy specimens. *Eur J Clin Microbiol Inf Dis.*1997; 16:143-9.
- ¹⁹¹ Harper CM, Dangler CA, Xu S, Feng Y, Shen Z, Sheppard B, Stamper A, Dewhirst FE, Paster BJ, Fox BJ. Isolation and characterization of a *Helicobacter* sp. from the gastric mucosa of dolphins, *Lagenorhynchus acutus* and *Delphinus delphis*. *Appl Environ Microbiol.*2000; 66:4751-7.

-
- ¹⁹² Harper CG, Xu S, Rogers AB, Feng Y, Shen Z, Taylor NS, Dewhirst FE, Paster BJ, Millar M, Hurley J, Fox JG. Isolation and characterization of novel *Helicobacter* spp. from the gastric mucosa of harp seals *phoca groenlandica*. Dis Aquat Organ. 2003; 57:1-9.
- ¹⁹³ Inglis GD, Mc Conville M, De Jong A. Atypical *Helicobacter canadensis* strains associated with swine. Appl Environ Microbiol. 2006; 72:4464-71.
- ¹⁹⁴ Fox JG, Handt L, Xu S, Shen Z, Dewhirst FE, Paster BJ, Dangler CA, Lodge K, Motzel S, Klein H. Novel *Helicobacter* species isolated from rhesus monkeys with chronic idiopathic colitis. J Med Microbiol. 2001; 50:421-9.
- ¹⁹⁵ Tang YW, Persing DH. Molecular detection and identification of microorganisms. In: Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Tenoer FC, Tenover FC, Tenover FC. Manual of Clinical Microbiology. 7ed. ASM Press. Washington, DC. 1999:215-44.
- ¹⁹⁶ Park JH, Seok SH, Cho SA, Baek MW, Lee HY, Kim DJ, Park JH. The high prevalence of *Helicobacter* sp in porcine pyloric mucosa and its histopathological and molecular characteristics. Vet Microbiol. 2004; 104:219-25.
- ¹⁹⁷ Maslow JN, Slutsky AM, Arbeit RD. Application of pulsed-field gel electrophoresis to molecular epidemiology. In: Pershing DH, Smith TF and Tenoer FC. Diagnostic Molecular Microbiology. Principles and Applications. Am Soc Microbiol. 1993:563-72.
- ¹⁹⁸ Garrido L, Toledo H. Novel Genotypes in *Helicobacter pylori* involving domain V of the 23S rRNA Gene. Helicobacter. 2007; 12:505-9.
- ¹⁹⁹ Maslow NP, Mulligan ME and Arbeit RD. Molecular epidemiology: application of contemporary techniques to the typing of microorganisms. Clin Infect Dis. 1993; 17:153-64.
- ²⁰⁰ Simor AE, Shames B, Drumm B, Sherman P, Low DE and Pender JL. Typing of *Campylobacter pylori* by bacterial DNA restriction endonuclease analysis and determination of plasmid profile. J Clin Microbiol. 1990; 28:83-6.
- ²⁰¹ Sambrook J, Fritsch EF and Maniatis T. Molecular cloning, a laboratory manual. Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor. 1997; 8:34-9.
- ²⁰² Utrianem M, Aníñen ML. Detection of *Helicobacter*-like bacteria in porcine gastric biopsy samples by amplification of 16S rRNA, ureB, VacA and Cag A genes by PCR. Vet Res Commun. 1998; 22:373-83.
- ²⁰³ Chu G, Vollrath D and Davis RV. Separation of large DNA molecules by contour-clamped homogenous electric fields. Science. 1986; 234:1582-5.

-
- ²⁰⁴ Maslow NP, Mulligan ME and Arbeit RD. Molecular epidemiology: application of contemporary techniques to the typing of microorganisms. *Clin Infect Dis.*1993; 17:153-64.
- ²⁰⁵ Taylor DE, Eaton M, Chang N and Salama SM. Construction of *Helicobacter pylori* genome map and demonstration of diversity at the genome level. *J Bacteriol.*1992; 174:6800-6.
- ²⁰⁶ Saunders KE, McGovern KJ and Fox JG. Use of pulsed-field gel electrophoresis to determine genomic diversity in strains of *Helicobacter hepaticus* from geographically distant locations. *J Clin Microbiol.*1997; 35:2859-63.
- ²⁰⁷ Taylor DE, Chang N, Taylor NS and Fox JG. Genome conservation in *Helicobacter mustelae* as determined by pulse-field gel electrophoresis. *FEMS Microbiol.*1994; 118:31-6.
- ²⁰⁸ Tomb JF, White O, Kerlavage AR, Clayton RA, Sutton GG, Fleischmann RD, Ketchum KA, Klenk HP, Gill S, Dougherty BA, Nelson K, Quackenbush J, Zhou L, Kirkness EF, Peterson S, Loftus B, Richardson D, Dodson R, Khalak HG, Glodek A, McKenney K, Fizegerald LM, Lee N, Adams MD, Venter JC. The complete genome sequence of the gastric pathogen *H. pylori*. *Nature.*1997; 388:539-47.
- ²⁰⁹ Boonjakuakul JK, Syvanen M, Suryaprasad A, Bowlus CL, Soinick JV. Transcription profile of *Helicobacter pylori* in the human stomach reflects its physiology *in vivo*. *J Infect Dis.*2004; 190:946-56.
- ²¹⁰ Osaka T, Hanawa T, Manzoku T, Fukuda M, Kawakami H, Sussuki H, Yamaguchi H, Yan X, Taguchi H, Murata S, Kamiya S. Mutation of luxS effects motility and infectivity of *Helicobacter pylori* in gastric mucosa of Mongolian gerbil model. *J Med Microbiol.*2006; 55:1477-85.
- ²¹¹ He Q, Wang JP, Osato M, Lachman LB. Real-time quantitative PCR for detection of *Helicobacter pylori*. *J Clin Microbiol.*2002; 40:3720-8.
- ²¹² Locatelli A, Catapani WR, Gomes CR Jr, Silva CB, Waiseberg J. Detection of anti-*Helicobacter pylori* antibodies in serum and duodenal fluid in peptic gastroduodenal disease. *World J Gastroenterol.*2004; 15:2997-0.
- ²¹³ Arora V, Aggarwal A, Singh K. Comparative evaluation of conventional method and elisa based IgG antibodies detection for diagnosis of *Helicobacter pylori* infection in cases of dyspepsia. *Indian J Med Microbiol.*2003; 21:46-8.

-
- ²¹⁴ Urita Y, Hike K, Torii N, Nikuchi Y, Kurakata H, Kanda E, Sasajima M, Miki K. Comparison of serum IgA and IgG antibodies for detecting *Helicobacter pylori* infection. Intern Med.2004; 43:548-52.
- ²¹⁵ Ogata SK, Kawakami E, Patricio FR, Pedroso MZ, Santos AM. Evaluation of invasive and non-invasive methods for the diagnosis of *Helicobacter pylori* infection in symptomatic children and adolescents. Sao Paulo Med J.2001; 119:67-71.
- ²¹⁶ Corneta A, Simpson KW, Strauss-Ayali, McDonough PL, Gleed RD. Use of a [¹³C]urea breath test for detection of gastric infection with *Helicobacter* spp. in dogs. Am J Vet Res.1998; 59:1364-9.
- ²¹⁷ Neiger R, Seiler G, Schmassmann A. Use of urea breath test to evaluate short-term treatments for cats naturally infected with *Helicobacter heilmannii*. Am J Vet Res.1998; 60:880-3.
- ²¹⁸ Chevy WD, Woods M, Scheiman JM. Lansoprazole and ranitidine effect the accuracy of the 14C-urea breath test by a pH-depend mechanism. Am J Gastroenterol.1997; 92:446-50.
- ²¹⁹ Gatta L, Vakil N, Ricci C, Osborn JF, Tampiere A, Perna F, Miglioni M, Vaira D. Effect of proton pump inhibitors and antacid therapy on 13C-urea breath tests and stool test for *Helicobacter pylori* infection. Am J Gastroenterol.2004; 99:823-9.
- ²²⁰ Al-Soud WA, Bennedsen M, On SL, Ouis IS, Vandamme P, Nilsson HO, Ljungh A, Wadstrom T. Assessment of PCR-DGGE for the identification of diverse *Helicobacter* species, and application to faecal samples from zoo animals to determine *Helicobacter* prevalence. J Med Microbiol.2003; 52:765-71.
- ²²¹ Vaira D, Malfertheiner P, Megraud F, Axon AT, Deltenre M, Hirschl AM, Gasbarrini G, O'Morain C, Garcia JM, Quina M, Tytgat GN. Diagnosis of *Helicobacter pylori* infection with a new non-invasive antigen-based assay. HpSA European study group. Lancet.1999; 354: 30-3.
- ²²² Perkins SE, Yan LL, Shen Z, Hayward A, Murphy JC, Fox JG. Use of PCR and culture to detect *Helicobacter pylori* in naturally infected cats following triple antimicrobial therapy. Antimicrob Agents Chemoter.1996; 40:1486-90.
- ²²³ Happonen I, Linden J, Westermarck E. Effect of triple therapy on eradication of canine gastric *Helicobacters* and gastric disease. J Smal Anim Pract. 2000; 41:1-6.

-
- ²²⁴ Nista EC, Candelli M, Cremonini F, Cazzato IA, Zocco MA, Franceschi F, Cammarota G, Gasbarrini G, Gasbarrini A. Bacillus clausii therapy to reduce side-effects of anti-*Helicobacter pylori* treatment: randomized, double blind, placebo controlled trial. *Alliment Pharmacol Ther.*2004; 20:1181-8.
- ²²⁵ Cremonini F, Di Caro S, Covinno M, Armuzzi A, Gabrielle M, Santarelli L, Nista EC, Cammarota G, Gasbarrini G, Gasbarrini A. Effect of different probiotic preparations on anti-*Helicobacter pylori* therapy-related side effects: a parallel group, triple blind, placebo-controlled study. *Am J Gastroenterol.*2002; 97:2744-9.
- ²²⁶ Sheu BS, Cheng HC, Kao AW, Wang ST, Yang YJ, Yang HB, Wu JJ. Pretreatment with *Lactobacillus*-and *Bifidobacterium*-containing yogurth can improve the efficacy of quadruple therapy in eradicating residual *Helicobacter pylori* infection after failed triple therapy. *Am J Clin Nutr.* 2006; 83:864-9.
- ²²⁷ Cameron EA, Powell KU, Baldwin L, Jones P, Bell GD, Williams SG. *Helicobacter pylori*: antibiotic resistance and eradication rates in Suffolk, UK. 1991-2001. *J Med Microbiol.*2004; 53:535-8.
- ²²⁸ Wong WM, Gu Q, Chu KM, Yee KM, Fung FM, Tong TS, Chan AO, Lai KC, Chan CK, Wong BC. Lansoprazole, levofloxacin and amoxicilin triple therapy vs quadruple therapy as second line treatment of resistant *Helicobacter pylori* infection. *Aliment Pharmacol Ther.*2006; 23:421-7.
- ²²⁹ Mitchell HM, Hu P, Chi Y, Chen MH, Li YY, Hazell SL. A low rate of reinfection following effective therapy against *Helicobacter pylori* in a developing nation (China). *Gastroenterology.*1998; 114:256-61.
- ²³⁰ Malfertheiner P, Enrique Domínguez-Muñoz J, Heckenmüller H, Neubrand M, Fischer HP, Sauerbruch T. Modified rapid urease test for detection of *Helicobacter pylori* infection. *Eur J Gastroenterol Hepatol.*1996; 8:53-6.
- ²³¹ Goldie J, Veldhuyzen van Zanten SJ, Jalali S, Richardson H, Hunt RH Goldie J, Veldhuyzen van Zanten SJ, Jalali S, Richardson H, Hunt RH. Inhibition of urease activity but not growth of *Helicobacter pylori* by acetohydroxamic acid. *J Clin Pathol.*1991; 44:695-7.
- ²³² Muñoz L, Carmolingo M, Hernández R, Giono S, Ramón G, Muñoz O, Torres J. Immune and proliferative cellular responses to *Helicobacter pylori* infection in the gastric mucosa of Mexican children. *Helicobacter.*2007; 12:224-30.

-
- ²³³ Mendez-Sánchez N, Pichardo R, González J, Sánchez H, Moreno M, Barquera F, Estevez HO, Uribe M. Lack of association between *Helicobacter pylori* and gallstone disease. *J Clin Gastroenterol.*2001; 32:138-41.
- ²³⁴ Pirarat N, Makbunsri T, Sukkamon S, Amornchailertrat S, Rungsipipat A, Sunyasootcharce B. The relationship between pathological gastric changes and *Helicobacter* spp. in dogs. *Thai J Vet Med.*2003; 33:73-80.
- ²³⁵ Marshall B. *Helicobacter* pioneers. Firsthand accounts from the scientists who discovered *Helicobacters* 1892-1982. Ed Blackwell. Australia. 2002:131-2.
- ²³⁶ Genta RM, Huberman RM, Graham DY. The gastric cardia in *Helicobacter pylori* infection. *Hum Pathol.*1994; 25:915-9.
- ²³⁷ Genta RM, Robason GO, Grahma DY. Simultaneous visualization of *Helicobacter pylori* and gastric morphology: a new stain. *Hum Pathol.*1994; 25:221-6.
- ²³⁸ Kolbjørnsen O, Press CM, Moore PF, Landsverk T. Lymphoid follicles in the gastric mucosa of dogs. Distribution and lymphocyte phenotypes. *Vet Immunol Immunopathol.*1994; 40:299-12.
- ²³⁹ Zaitoun AM. The prevalence of lymphoid follicles in *Helicobacter pylori* associated gastritis in patients with ulcers and non-ulcer dyspepsia. *J Clin Pathol.*1995; 48:325-9.
- ²⁴⁰ Genta RM, Hamner HW. The significance of lymphoid follicles in the interpretation of gastric biopsy specimens. *Arch Pathol Lab Med.*1994; 118:740-3.
- ²⁴¹ Simpsom KW, Strauss-Ayali D, Scanziani E, Straubinger R, McDonough PL, Straubinger AF, Chang YF, domeneghine C, Arebi N. *Helicobacter felis* infection is associated with lymphoid follicular hyperplasia and mild gastritis but normal gastric secretory function in cats. *Infect Immun.*2000; 68:779-90.
- ²⁴² Jacob W, Stolte M, Valentin A, Schroder HD. Demonstration of *Helicobacter pylori*-like organisms in the gastric mucosa of captive exotic carnivores. *J Comp Pathol.*1997; 116:21-33.
- ²⁴³ Reindel JF, Fitzgerald AL, Breider MA. An epizootic of lymphoplasmacytic gastritis attributed to *Helicobacter pylori* infection in cynomolgus monkeys (*Macaca fascicularis*). *Vet Pathol.*1999; 36:1-13.