

JOSENALDO SILVA MACÊDO

**INCIDÊNCIA DE *Helicobacter* spp. NA MUCOSA GÁSTRICA DE
GATOS EM RECIFE – PERNAMBUCO.**

RECIFE

2011

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA VETERINÁRIA**

JOSENALDO SILVA MACÊDO

**INCIDÊNCIA DE *Helicobacter* spp. NA MUCOSA GÁSTRICA DE GATOS EM
RECIFE - PERNAMBUCO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Veterinária do Departamento de Medicina Veterinária da Universidade Federal Rural de Pernambuco, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Ciência Veterinária.

Orientador:
Prof. Dr. Joaquim Evêncio Neto

Co-orientador:
Prof. Dr. Fábio de Souza Mendonça

RECIFE

2011

Ficha catalográfica

M141i Macêdo, Josenaldo Silva

Incidência de *Helicobacter spp.* em mucosa gástrica de gatos em Recife – Pernambuco / Josenaldo Silva Macedo. – 2011.

57 f.: il.

Orientador: Joaquim Evêncio Neto.

Dissertação (Mestrado em Ciência Veterinária) – Universidade Federal Rural d Pernambuco, Departamento de Medicina Veterinária, Recife, 2011.

Referências.

1. Helicobacteriose 2. Urease 3. Gastrite 4. Felinos

I. Evêncio Neto, Joaquim, orientador II. Título

CDD 636.8089607

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO

PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA VETERINÁRIA

**INCIDÊNCIA DE *Helicobacter* spp. NA MUCOSA GÁSTRICA DE
GATOS EM RECIFE – PERNAMBUCO**

Dissertação de Mestrado elaborada por

JOSENALDO SILVA MACÊDO

Aprovada em/...../.....

BANCA EXAMINADORA

Prof.Dr. JOAQUIM EVÊNCIO NETO - Presidente
Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal - UFRPE

Prof.Dr. ALESSANDRO CÉSAR JACINTO DA SILVA
Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal – UFRPE

Prof. Dr. FÁBIO DE SOUZA MENDONÇA
Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal – UFRPE

Profa. Dra. LIRIANE BARATELLA EVÊNCIO
Departamento de Histologia e Embriologia - UFPE

Peço licença a todos que me ajudaram neste trabalho e torceram por mim. Mas, dedico este trabalho aos meus pais Josená Elias Macêdo (in memoriam) e Irene Silva Macêdo (in memoriam). Espero ter dado a vocês, razões para que sintam 1/3 de orgulho de mim, equivalente a saudade que sinto de vocês.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a DEUS, aquele em que creio fielmente. Por sua presença em minha vida, não só nos momentos felizes como nos mais difíceis.

À Universidade Federal Rural de Pernambuco, por nos proporcionar a chance de aprendermos sempre mais em seus cursos.

Aos animais que possibilitaram a realização deste estudo.

Às minhas irmãs JOSIRENE SILVA MACÊDO E JOSINEIDE SILVA MACÊDO, pelo amor, carinho e apoio.

À minha tia MARIA JOSÉ DA SILVA JARDIM FERRAZ, que sempre me deu, apoio carinho e amor.

A todo os primos e primas que me apoiaram e torceram por mim.

Ao PROFESSOR DOUTOR JOAQUIM EVÊNCIO NETO, Professor Adjunto da Disciplina de Histologia Veterinária do Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal da Universidade Federal Rural de Pernambuco – UFRPE, pela oportunidade de participar deste Programa de Pós-Graduação em Ciência Veterinária, me orientando nesta pesquisa.

Ao CO-ORIENTADOR E PROFESSOR FÁBIO DE SOUZA MENDONÇA, Professor Adjunto da Disciplina de Histologia Veterinária do Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal da Universidade Federal Rural de Pernambuco – UFRPE, pela paciência e orientação na elaboração deste estudo.

Ao ELY JOÃO DOS SANTOS JÚNIOR, pelo companheirismo, apoio, paciência e compreensão nos momentos estressantes .

À minha amiga e irmã , ANDREA CRUZ, pelo seu respeito e sua amizade incondicional.

Ao Médico Veterinário JOÃO EMÍLIO CRUZ, pela sua amizade e ensinamentos em minha vida profissional.

A todos os amigos da Clínica Veterinária de Olinda, ANA LUÍSA MARINHO, CLÁUDIA CRUZ, CLEYTON CHARLES, ROBÉRIO SIQUEIRA, VANESSA MARQUES, IZILDO NETO E ALEXANDRE ARRUDA, pelo apoio e amizade.

Ao amigo e Professor MOACIR BEZERRA DE ANDRADE, pelo carinho, amizade e incentivo para iniciar o Mestrado em Ciência Veterinária.

Aos amigos e Médicos Veterinários MARCELO ALBUQUERQUE E MARCELE LAFAIETTE pela amizade e ajuda na coleta das amostras no início da pesquisa.

Aos queridos amigos, ARLAIN, LUÍS GONZAGA E ROGÉRIO BRAYNER pela força, carinho e amizade.

A amiga e Médica Veterinária ROMANA COSTA (GERMANA) pelo carinho e amizade verdadeira.

Aos Médicos Veterinários do CENTRO DE VIGILÂNCIA ANIMAL (CVA) DO RECIFE, JAEL DE MORAIS AMARAL, JOSÉ ANTÔNIO DA SILVA SANTOS E OZIR GILSON DE ARAÚJO pela ajuda no fornecimento das amostras para realização deste estudo.

Às amigas e alunas pós-graduandas, a ANA LIZIA, KEILA REGINA e as alunas da graduação da UFRPE, MARIA ÉDNA E RAQUEL FEITOSA, pela amizade e auxílio no processamento do material para elaboração deste estudo.

A todos os amigos e amigas que acreditaram e torceram por mim.

“A compaixão pelos animais está intimamente ligada a bondade de caráter, e que pode ser seguramente afirmado que quem é cruel com os animais não pode ser um bom homem”.

(Arthur Schopenhauer)

LISTA DE ABREVIATURAS

C - Carbono

CVA – Centro de Vigilância Ambiental

°C – Grau centígrado

DMFA – Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal

DNA – Deoxyribonucleic acid

ELISA – Enzyme Linked Immunosorbent Assay

FISH – Fluorescence in situ Hybridization

H. – *Helicobacter*

HCl – Ácido clorídrico

H.E. – Hematoxilina eosina

Hp – *Helicobacter pylori*

Hh – *Helicobacter heilmannii*

IgG – Imunoglobulina G

Kg – Quilograma

MALT – Mucosa-Associated Lymphoid Tissue

Mm - Milímetro

µm - Micrômetro

Obj. – Objetiva

PCR – Reação em Cadeia da Polimerase

PGE – Prostaglandina E

pH – Potencial hidrogeniônico

RNA – Ribonucleic acid

UFPE – Universidade Federal de Pernambuco

UFRPE – Universidade Federal Rural de Pernambuco

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	14
2 REVISÃO DE LITERATURA	15
2.1 <i>Helicobacter</i> spp.....	15
2.1.1 Cronologia da <i>Helicobacter</i> spp.....	15
2.1.2 Epidemiologia e transmissão da <i>Helicobacter</i> spp.....	17
2.2 CONSIDERAÇÕES ANATÔMICAS E FISIOLÓGICAS DO ESTÔMAGO.....	22
2.2.1 Barreira da mucosa gástrica.....	23
2.3 GASTRITE	24
2.3.1 Gastrite aguda.....	24
2.3.2 Gastrite crônica.....	25
2.4 DIAGNÓSTICO DA <i>Helicobacter</i> spp.....	27
2.4.1 Testes invasivos ou métodos diretos.....	27
2.4.2 Teste rápido da urease.....	28
2.4.3 Análise histológica.....	28
2.4.4 Citologia por raspagem.....	29
2.4.5 Isolamento em cultura bacteriana.....	29
2.4.6 Técnicas moleculares.....	29
2.4.7 Microscopia eletrônica.....	30
2.4.8 Testes não invasivos ou métodos indiretos.....	30
2.4.9 Testes sorológicos.....	30
2.4.10 Testes de medição da uréia.....	30
2.4.11 Medição de gastrina e pepsinogênio.....	31
REFERÊNCIAS	32
ARTIGO CIENTÍFICO	40
ABSTRACT	41
RESUMO	42
INTRODUÇÃO	42

MATERIAL E MÉTODOS.....	45
RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	46
CONCLUSÃO.....	49
ILUSTRAÇÕES.....	50
REFERÊNCIAS.....	51

1. INTRODUÇÃO

A bactéria *Helicobacter* coloniza o trato gastrointestinal superior especificamente o estômago, provocando lesões na mucosa gástrica, dando origem a gastrites, úlceras e com freqüência câncer (COUTO, 2001). *Helicobacter pylori* é reconhecida como a maior causa de gastrite crônica em humanos, podendo ser encontrada também em animais, enquanto que *H. felis* e *H. heilmannii* são as principais espiroquetas encontradas nos cães e gatos (NEIGER & SIMPSON, 2000). Outras espécies de *Helicobacter* foram identificadas no ser humano, sendo que a *Helicobacter heilmannii* (Hh), também encontrado em gatos, foi associado à gastrite (RODRIGUES & FIGUEIREDO, 1996), e ao linfoma MALT (Mucosa Associated Lymphoid Tissue) gástrico primário (MORGNER et al., 2000). Nessa associação, a erradicação da bactéria resultou no desaparecimento do linfoma gástrico; a infecção por Hh em seres humanos é bem menos freqüente do que a verificada com a Hp, sendo possível a concomitância de infecção por ambas as espécies de bactérias (RODRIGUES & FIGUEIREDO, 2000; TAMS, 2005).

Segundo Jenkins & Basset (1997), Neiger & Simpson (2000) e Gueneau et al. (2002), há relatos de infecção gástrica por espécies de *Helicobacter* em humanos, gatos, cães, ratos, suínos, bovinos, ferrets, raposas, felinos selvagens e primatas não-humanos (BIZZOZERO, 1893).

Estima-se que metade da população mundial esteja colonizada por este patógeno e que a maioria dela foi colonizada ainda na idade escolar, porém muitos indivíduos colonizados permanecem assintomáticos. A infecção pela bactéria tem correlação inversa com o padrão socioeconômico e nos países em desenvolvimento como o Brasil, a colonização do estômago humano por Hp é disseminada (SOUTO et al., 1998). A prevalência de animais portadores com essas bactérias se situa entre 70 e 100%, demonstrando a possibilidade dos animais de companhia servirem como reservatório para a transmissão de helicobactérias aos humanos (FLATAND, 2002; BOYANOVA et al, 2003).

Em pesquisas sobre a infecção por *Helicobacter* spp. no estômago de animais domésticos focam-se duas questões principais. A primeira prende-se com a possibilidade de estes animais estarem a transportar e transmitir agentes zoonóticos a humanos, sendo, com este objetivo, necessário designar a incidência e tipo de bactérias que colonizam os carnívoros domésticos. A segunda relaciona-se com uma perspectiva em Medicina Veterinária, visando a significância e importância clínica destes microrganismos em cães e gatos, bem como a sua

funcionalidade enquanto modelos animais da infecção por helicobactérias em humanos. Com isso, se torna necessário o estudo desta bactéria nos cães e gatos.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. *Helicobacter* spp.

2.1.1. Cronologia da *Helicobacter* spp.

O gênero *Helicobacter* é hoje amplamente reconhecido no mundo científico. A sua descoberta veio a alterar toda a dinâmica de patologia gástrica até então registrada. Rappin (1881) conduziu os primeiros estudos a cerca da observação de bactérias espiraladas em raspagens da mucosa gástrica, em cães. Seguiram-se outros estudos, realizados por Bizzozero (1893) e Salomon (1898), onde ratos de laboratório eram inoculados com tecido gástrico infectado, para reproduzir a infecção nesses animais (SOLNICK & SCHAUER, 2001; ERGINSOY & SOZMEN, 2006).

Na década de 50 a hipótese de que *Helicobacter* spp. estaria intrinsecamente relacionada com o desenvolvimento de úlceras pépticas em humanos, foi rejeitada por uma investigação introduzida por Ivy, Grossman & Bachrach (1950). Este agente bacteriano acabou por cair no esquecimento durante décadas e a sua manifestação ocasional no estômago dos mamíferos, foi considerada resultante da contaminação bacteriana alimentar (KUSTERS, VLIET, & KUIPERS, 2006).

A verdadeira pesquisa ao *Helicobacter* spp. no estômago iniciou-se com os trabalhos de Robin Warren. Este patologista, em 1979, mostrou grande interesse na classificação histopatológica de alterações gástricas e na pesquisa, através de colorações de prata (coloração de prata Warthin-Starry), de microrganismos espiralados adjacentes a mucosa gástrica. Um colaborador de Warren, Barry Marshall, demonstrou também grande interesse nos estudos até então realizados. Em 1982, conseguiram isolar agentes Gram-negativos em condições microaerófilas, de biopsias gástricas de 58 pessoas, das 100 positivas a presença de espiroquetas na análise histopatológica do estômago (WARREN, 2006). A investigação tornou-se pública em 1983, descrevendo microrganismos que se pensava ser do gênero

Campylobacter (WARREN, 2006), sendo ratificado em 1984 para o nome de *Campylobacter pyloridis* e mais tarde para *Campylobacter pylori* (GOODWIN et al., 1989). Foi apenas em 1989 que o conceito de um novo gênero bacteriano surgiu e estas bactérias passaram a ser denominadas *Helicobacter* spp. Apesar de se assemelharem ao gênero *Campylobacter*, características importantes como os flagelos e sequência do 16S rRNA eram bastante díspares (GOODWIN et al., 1989). Esta descoberta viria a laurear Warren e Marshall com um Nobel da Medicina ou Fisiologia em 2005, pela descoberta da *Helicobacter pylori* e seu papel em gastrites e em úlceras pépticas (WARREN, 2006).

O interesse nestes agentes patogênicos cresceu exponencialmente após estas investigações surpreendentes e cada vez mais se aproximou do fundamento de que o *H. pylori* está associado ao desencadeamento de muitos mecanismos patogênicos no estômago, incluindo úlceras pépticas, gastrite crônica, linfoma associado ao tecido linfóide da mucosa gástrica (MALToma) e adenocarcinoma (DUNN, COHEN, & BLASER, 1997; KUSTERS et al., 2006). Em 1994, um consenso foi publicado pelo “National Institutes of Health”, recomendando o uso de terapêutica anti-microbiana em pacientes com úlceras pépticas, infectados com *H. pylori* (SOLNICK & SCHAUER, 2001). No mesmo ano, a “International Agency for Cancer Research”, apoiada pela Organização Mundial de Saúde, declarou o *H. pylori* como um agente carcinogênico da classe I (DUNN, et al., 1997; SOLNICK & SCHAUER, 2001).

Novas espécies de *Helicobacter* spp. foram entretanto investigadas, em diferentes espécies de mamíferos, nomeadamente gatos, cães, furões, suínos, chitas e outros primatas (NEIGER et al., 1998). A espécie *Helicobacter mustelae* foi isolada pouco tempo após o isolamento de *H. pylori*, em furões, (FOX et al. 1986; SOLNICK & SCHAUER, 2001). A *Helicobacter felis* foi a primeira espécie a ser identificada em gatos (LEE et al., 1988), sendo seguido pela *Helicobacter heilmannii* (anteriormente denominada por *Gastrospirillum hominis*, um agente espiralado diferente da *H. pylori*, apontado também como colonizador do estômago humano e associado a gastrite) (HEILMANN & BORCHARD, 1991). Subsequentemente, uma nova espécie *Helicobacter bizzozeronii* foi observada em cães, sendo muito semelhante a *H. heilmannii* (HANNINEN et al., 1996).

Hoje em dia, outras espécies são reconhecidas, bem como se sabe que existem espécies da *Helicobacter* spp. com predominância no fígado e intestino (espécies

enterohepáticas) e espécies de *Helicobacter* spp. no estômago (espécies gástricas) (KUSTERS et al., 2006).

2.1.2. Epidemiologia e Transmissão da *Helicobacter* spp.

As espécies de *Helicobacter* são bactérias gram-negativas, microaerófilas, móveis, espirais e multiflageladas, sendo capazes de se multiplicar no estômago apesar de sua secreção ácida, graças à importante atividade da enzima urease. A produção de amônia por esta enzima, a partir da hidrólise da uréia, neutraliza a acidez do meio (GEMI, 2001; GUENEAL et al., 2002).

O conhecimento sobre espiroquetas gástricas cresceu consideravelmente no campo da Medicina Humana e Medicina Veterinária. Até o ano de 2000, já haviam sido identificadas e descritas 31 espécies de *Helicobacter* spp. (NEIGER & SIMPSON, 2000) e em 2008, compreendiam cerca de 38 espécies classificadas taxonômicamente e outras ainda sob investigação. Grande parte destas bactérias pertencentes ao gênero *Helicobacter* mostrou estar associada à patologia gástrica ou enterohepática (HARBOUR & SUTTON, 2008).

A maioria dos estudos em humanos demonstrou que a infecção ocorre durante a infância, sobretudo nos países mais desfavorecidos, porém muitos indivíduos permanecem assintomáticos (DUNN et al., 1997; BROWN, 2000; KUSTERS et al., 2006). A incidência da *H. pylori* em crianças foi calculada em 3 % a 10 % por ano, nos países subdesenvolvidos, e estimada em 1 % por ano, nos países mais ricos e 12 % a 15 % de infecção em crianças até 10 anos, respectivamente (ERNST & GOLD, 2000).

Diversos fatores de risco foram identificados na infecção por *H. pylori*. O consumo de tabaco e álcool foi implicado como um fator associado à elevada prevalência da bactéria, mas outros estudos mais conclusivos desacreditaram essa hipótese. Uma adequada alimentação, a base de frutos e vegetais (ricos em Vitamina C) provou originar uma maior proteção contra a infecção, contrariamente a uma alimentação descuidada, preparada sobre condições higiênicas precárias. Sobretudo, práticas higiênicas inadequadas, baixas classes sociais e elevadas densidades populacionais, acusaram uma relação com elevada prevalência da infecção (BROWN, 2000).

Quanto ao modo como a *H. pylori* é transmitido mantém-se ainda incerto. A transmissão iatrogênica, através do uso de endoscópio, é o único mecanismo oficialmente provado, embora seja pouco frequente e não tão comum nos dias atuais, uma vez que a

importância dos cuidados higiênicos e de assepsia do endoscópio receberam particular atenção no manejo pré-cirúrgico (DUNN et al., 1997; BROWN, 2000). A forma mais provável de transmissão acredita-se ser a via oral-oral ou fecal-oral. Esta última foi proposta num estudo em que se cultivou *Helicobacter* spp. das fezes de furões, provando uma nova via de transmissão (FOX et al., 1992). Transmissão através de recursos de água pode ocorrer da contaminação fecal desta, em países onde existe um deficiente tratamento de águas. Crê-se que o humano prevalece como hospedeiro reservatório do *H. pylori*, sendo a sua transmissão a partir de outros animais pouco fundamentada, apesar de já ter sido identificada em outras espécies animais, como felinos e em ovelhas (BROWN, 2000).

Outra espécie identificada em pessoas é a *Helicobacter heilmannii* (DUNN et al., 1997). Contudo a sua prevalência, modos de transmissão e patogenicidade não estão completamente esclarecidos. Heilmann & Borchard (1991), na sua descoberta de espiroquetas gástricas não *H. pylori*, estabeleceram uma prevalência de 0 % a 25 % de microrganismos *Gastrospirillum hominis*, futuramente designados *H. heilmannii*, na observação de biópsias do antro gástrico. Mais tarde, tornou-se claro que *H. heilmannii* não representa uma só espécie, mas antes compõe um complexo grupo de espécies das quais se distinguem *Candidatus Helicobacter suis* (De GROOTE et al., 1999a), identificado no estômago de suínos, correspondente ao *H. heilmannii* tipo 1 (O'ROURK et al., 2004), e microrganismos espiralados observados na mucosa gástrica dos carnívoros domésticos e humanos, designados por *Candidatus Helicobacter heilmannii*, correspondente ao *H. heilmannii* tipo 2 (O'ROURKE et al., 2004) e filogeneticamente muito similares a *H. felis* (LEE et al., 1988), *H. bizzozeronii* (HANNINEN et al., 1996), *H. salomonis* (JALAVA et al., 1997) e o recentemente descrito *H. cynogastricus* (BULCK et al., 2006).

A maior parte dos organismos tipo *Helicobacter* spp. em cães e gatos são espiroquetas grandes (0,5 x 5 – 10 μ m), não distinguíveis por microscopia óptica (NEIGER & SIMPSON, 2000). Em gatos estão descritas as seguintes espécies gástricas: *H. felis*, *H. pamatensis*, *H. pylori* e *H. heilmannii* (NEIGER et al., 1998; JALAVA et al., 1998; HANDT et al., 1994).

H. felis foi a primeira bactéria espiralada a ser isolada com sucesso no gato (LEE et al., 1988) Os resultados das análises histopatológicas da mucosa gástrica, demonstraram que esta bactéria residia, principalmente, na camada superficial de muco, no lúmen das glândulas gástricas ou inoculando os canalículos das células parietais. A sua estrutura era semelhante a uma forma de saca-rolhas, com parede Gram-negativa, múltiplos flagelos localizados

bipolarmente e fibrilas periplasmáticas, em números pares, ao longo do seu comprimento. A presença de fibrilas periplasmáticas é uma das características que permitiu a distinção entre outras espécies de *Helicobacter* spp., porém foi mais tarde identificada a sua perda quando em cultura *in vitro* (EATON et al., 1996).

Foram identificados por microscopia eletrônica microrganismos sem fibrilas periplasmáticas, logo distinto do *H. felis*, com características de *Helicobacter heilmannii*, uma bactéria ainda não isolada, mas frequentemente encontrada em outros animais, sendo este achado suportado por outros estudos contemporâneos (OTTO et al., 1994; SCANZIANI et al., 2001; STRAUSS-AYALI et al., 2001). Pensa-se que estes microrganismos sejam dos mais prevalentes nos carnívoros domésticos (NEIGER et al., 1998), mas a distinção dos diferentes subtipos que alberga continua incerta. Num estudo, a sua prevalência foi de 38 %, sendo a mais elevada entre os diversos microrganismos encontrados (STRAUSS-AYALI et al., 2001).

Helicobacter pamatensis foi isolada por Neiger et al., (1998), desconhecendo-se a sua epidemiologia e patogenia em gatos. *H. pylori* tem dado origem a teorias controversas sobre a sua capacidade como agente zoonótico em felinos. Alguns trabalhos de investigação estiveram aptos para provar a sua existência em gatos (HANDT et al., 1994; FOX et al., 1995; HANDT et al., 1995; SCANZIANI et al., 2001), mas outros não reconheceram a infecção nestes animais domésticos (NEIGER et al., 1998; JALAVA et al., 1998; NORRIS et al., 1999).

Os carnívoros domésticos, para além de serem susceptíveis a um maior número de espécies de *Helicobacter* spp. que os humanos, apresentam co-infecções no seu estômago (SCANZIANI et al., 2001; STRUSS-AYALI, et al., 2001; TAKEMURA, CAMARGO, & BRACARENSE, 2007), sendo mais comum em gatos uma flora mista de *H. felis* e *H. heilmannii* (STRUSS-AYALI et al., 2001).

A localização dos microrganismos é relatada de modo igual para o fundo, corpo e antro (ERGINSOY & SOZMEN, 2006; TAKEMURA, CAMARGO, & BRACARENSE, 2007). No entanto, existem estudos que indicaram nichos preferenciais para os microrganismos, apesar não serem consistentes nos dados que apresentam, já que evidenciam diferentes padrões de colonização personalizada, na mucosa fúndica e corpo (OTTO et al., 1994; SCANZIANI et al., 2001) ou no antro (HANDT et al., 1994). Os diferentes moldes de colonização no estômago não estão completamente esclarecidos, mas de certo que são influenciados por diversos fatores, como o tipo e número de amostras que se colhem para

análise histopatológica, fatores intrínsecos ao hospedeiro, fatores relacionados com a espécie ou as espécies colonizantes e a própria resposta inflamatória da mucosa gástrica nas suas diferentes zonas. Histologicamente, os microrganismos tendem a alojar-se, principalmente, na camada de muco gástrico, mas são também observados nas criptas gástricas ou nas glândulas gástricas e nos canalículos das células parietais (HERMANNNS et al., 1995).

A prevalência de microrganismos gástricos tipo *Helicobacter* foi calculada em 86% em gatos (OTTO et al., 1994), 90 a 100% em gatos domésticos clinicamente saudáveis (JALAVA et al., 1998; NEIGER et al., 1998; NORRIS et al., 1999) e em 57 a 76 % em gatos (HERMANNNS et al., 1995) com vômito recorrente.

Em termos epidemiológicos, as condições higio-sanitárias em que os animais domésticos se encontram e habitam é um fator importante, tal como nos humanos, sendo essa teoria suportada pelo fato de maiores prevalências serem registradas em animais provenientes de canis, do que em animais provenientes de lares domésticos particulares (EATON et al., 1996). Considera-se também que a prevalência possa variar com a idade, sendo menor para animais mais jovens (OTTO et al., 1994), embora seja ainda uma teoria incerta e contraditória (NEIGER et al., 1998). Por outro lado, as diferentes densidades bacterianas encontradas entre animais clinicamente doentes e sãos (HERMANNNS et al., 1995), podem sugerir que o estado clínico dos pacientes é relevante na manutenção de uma infecção persistente por *Helicobacter* spp.

A prevalência advém também do tipo de teste diagnóstico utilizado. Estudos que utilizam diversos testes, incluindo exames de elevada sensibilidade, como o PCR, obtêm menores valores no cálculo da prevalência (EATON et al., 1996; NEIGER et al., 1998), do que aqueles que recorrem apenas a um tipo de teste diagnóstico.

Os diferentes estudos de prevalências estimaram que 100% dos cães (STRAUSS-AYALI et al., 1999), 67 a 100 % dos cães domésticos clinicamente saudáveis (EATON et al., 1996; JALAVA et al., 1998), 100 % dos Beagles gnotobióticos (EATON et al., 1996; STRAUSS-AYALI et al., 1999) e 61 a 95 % dos cães (HEMANNNS et al., 1995) com vômito recorrente estavam infectados com espécies de *Helicobacter* spp. gástricas. Epidemiologicamente e ecologicamente, o modelo de doença é similar ao encontrado nos felinos, desenvolvendo-se sobre as mesmas condições acima apontadas.

Diversas espécies de *Helicobacter* têm sido apontadas como causadoras de gastrite em cães e gatos (TORTORA et al., 2000; FOX, 2003; JOHNSON et al., 2008), porém, alguns autores referem a presença dessa bactéria em animais saudáveis também, perfazendo assim uma infecção sub clínica (STURGESS, 2001; DENOVO, 2005; JOHNSON; SHERDING & BRIGHT, 2008).

A transmissão de *Helicobacter* spp. entre indivíduos da mesma espécie ou de espécies diferentes é desconhecida. Tendo como base o modelo humano, pondera-se que as vias oral-oral e fecal-oral constituam as duas principais formas de transmissão deste microrganismo. Em canídeos o padrão de infecção é semelhante ao dos gatos, tendo sido descritas as seguintes espécies no estômago de cães: *H. felis* (EATON et al., 1996; JALAVA et al., 1998; SIMPSON et al., 1999), *H. bizzozeronii* (HANNINEN et al., 1996; JALAVA et al., 1998), *H. solomonis* (JALAVA et al., 1997; JALAVA et al., 1998), “*Flexispira rappini*” (EATON et al., 1996; JALAVA et al., 1998), *H. bilis* (EATON et al., 1996), *H. heilmannii* (NEIGER et al., 1998) e recentemente o *H. cynogastricus* (BULCK et al., 2006).

As infecções mistas são habituais, tal como nos felinos, sendo mais comuns floras mistas de *H. bizzozeronii* e *H. heilmannii* (JALAVA et al., 1998).

Outros animais domésticos foram alvo de estudo, provando ser hospedeiros de microrganismo do gênero *Helicobacter*. Em 1986 relataram-se abortos em ovelhas devido a uma bactéria isolada dos fetos abortados, e classificada, na altura como *Flexispira rappini* (HARBOUR & SUTTON, 2008). Trabalhos mais recentes detectaram este microrganismo em outros animais, descortinando-se a sua relação filogenética próxima do gênero *Helicobacter*, sendo tentadora a sua inclusão no grupo como *Helicobacter rappini* (DEWHIRST et al., 2000). Os suínos suscitaram interesse no mundo científico e no campo de Saúde Pública, assim que surgiram como potenciais transmissores de espiroquetas aos humanos. A espécie mais prevalente nestes animais é a *Candidatus Helicobacter suis* (De GROOTE et al., 1999a), espécie muito semelhante ao *Helicobacter heilmannii*, classificado anteriormente como um subtipo desta, a *Helicobacter heilmannii* tipo 1. No bovino e nos equinos foram descritas espécies de *Helicobacter* spp., a *Helicobacter bovis* (De GROOTE et al., 1999b) e *H. equorum* (MOYAERT et al., 2007), respectivamente. A descoberta de *Helicobacter pullorum* em aves extrapolou o espectro de ação, até então conhecido apenas para mamíferos (STANLEY et al., 1994).

Entre animais silvestres, também existem relatos de bactérias helicoidais, começando nos furões. O primórdio de investigações em animais, após a descoberta da *H. pylori* (FOX et al., 1988). Assim, é seguro afirmar que múltiplas espécies animais são infectadas e que a *Helicobacter* spp. é uma bactéria ubiqüitaria (HARBOUR & SUTTON, 2008).

2.2. Considerações anatômicas e fisiológicas do estômago

O estômago é uma dilatação do tubo digestivo anatomicamente constituído por diferentes regiões, a saber: cárdica, fúndica, corpo, antro e pilórica. A região cárdica é responsável pela passagem de água e alimento para o interior do estômago, e por meio do seu esfíncter impede o refluxo gastro-esofágico. A região fúndica e o corpo têm por função o armazenamento do conteúdo alimentar, com capacidade de dilatação e manutenção da pressão intra gástrica constante, enquanto o antro realiza a digestão mecânica dos alimentos sólidos. A região pilórica é uma válvula muscular que limita as dimensões das partículas que passam para o duodeno e previne o fluxo gastroduodenal (WILLARD, 1997).

Em toda extensão do estômago, o plano estrutural é constituído por uma mucosa, uma submucosa, uma muscular e uma serosa. A mucosa é o revestimento epitelial do estômago composta de células epiteliais, lâmina própria (constituída por fibras colágenas, elásticas e reticulares), músculos da mucosa e glândulas que se abrem para o lúmen (STINSON & CALHOUN, 1982). A lâmina própria da mucosa do estômago contém células do sistema imunológico, células migratórias do sangue e células fixas do tecido conjuntivo. Este tecido tem as propriedades do tecido linfóide difuso, devido a presença de numerosos linfócitos (ROSS & ROMRELL, 1993). Na região cárdica, estas glândulas produzem muco com finalidade de tamponamento e lubrificação. Na região fúndica e no corpo as glândulas contém células parietais, que possuem canalículos secretores de ácido clorídrico (HCl) que se abrem diretamente para a luz da glândula, células principais que são tipicamente produtoras de enzima e secretam pepsinogênio, renina e lipase gástrica: células produtoras de muco e células argentafins ou endócrinas (BANKS, 1992; ROSS & ROMRELL, 1993; WILLARD, 1997).

No antro e nas proximidades do piloro, as glândulas secretam grande quantidade de muco contando também com expressivo número de células endócrinas, principalmente células

G responsáveis pela produção de gastrina, que é uma potente estimuladora da secreção ácida (ROSS & ROMRELL, 1993; WILLARD, 1997).

A secreção de ácido clorídrico é estimulada pela acetilcolina (das vias neurócrinas), gastrina (função das células G) e histamina (de nervos, mastócitos e células endócrinas) (WILLARD, 1997).

2.2.1. Barreira da mucosa gástrica

O estômago está bem protegido dos efeitos danosos de ácido gástrico, pepsina, ácidos biliares e outras enzimas digestivas por componentes físico-químicos complexos conhecidos como barreira da mucosa gástrica. O componente mais superficial, é uma fina camada de muco-bicarbonato secretado pelas células epiteliais gástricas que funciona como um lubrificante contra lesões mecânicas de partículas abrasivas, enquanto que o gel de glicoproteínas (mucinas) basal se adere à mucosa e aprisiona o bicarbonato secretado pelas células epiteliais para manter o pH da mucosa acima de 6. Esta última camada forma uma barreira eletro-química para impedir a difusão retrógrada de íons hidrogênio do ácido luminal e pepsina para o epitélio (DENOVO, 2005; TAMS, 2005; MITCHELL et al., 2006).

Outra característica importante da barreira mucosa gástrica é a capacidade das células epiteliais de repararem contínua e rapidamente pequenos danos no tecido. Portanto, quando ocorre uma lesão superficial na mucosa, as células na margem dessa área migram sobre o defeito dentro de poucas horas para evitar lesões mais profundas da mucosa (DENOVO, 2005).

Uma densa rede de capilares da submucosa fornece oxigênio e nutrientes para as necessidades metabólicas altas de secreção de muco e bicarbonato, e para a rápida renovação celular (DENOVO, 2005). A exposição do epitélio gástrico ao ácido resulta em hiperemia reativa, e essa resposta hiperêmica reflete um mecanismo de defesa vascular no qual o fluxo sanguíneo aumentado fornece bicarbonato plasmático e remove produtos nocivos como o ácido que é difundido de modo retrógrado, além de mediadores inflamatórios (TAMS, 2005).

Entretanto, provavelmente um dos componentes mais importantes na barreira mucosa gástrica sejam as prostaglandinas. A mucosa do trato gastrointestinal é capaz de sintetizar diversas delas, sobretudo a PGE₂, PGE_α e prostaciclina, as quais aumentam a secreção de muco e bicarbonato, regulam o fluxo sanguíneo e estimulam uma série de eventos como o crescimento das células epiteliais. O processo de transporte celular, a síntese de

macromoléculas e dos fosfolipídeos ativos de superfície, estabilizam lisossomos teciduais e inibem a secreção do ácido clorídrico. O efeito coletivo desses eventos é aumentar a redistribuição celular rapidamente para evitar a lesão da superfície da mucosa e a progressão da profundidade da lesão em direção à submucosa (DENOVO, 2005; TAMS, 2005; MITCHELL et al.,2006). As prostaglandinas também modulam a atividade de muitos imunócitos, incluindo macrófagos e mastócitos. Juntamente com diversas citocinas e o óxido nítrico, parecem desempenhar papéis decisivos na regulação da resposta imune, quando a mucosa está inflamada (TAMS, 2005).

2.3. Gastrite

Gastrite é um processo inflamatório da mucosa gástrica em decorrência de uma agressão que pode ser de origem alimentar, infecciosa, farmacológica ou sistêmica (STURGESS, 2001). Apresenta-se primeiramente com hiperemia da mucosa gástrica podendo evoluir para lesões mais profundas até atingir a submucosa. Assim o vômito é o primeiro sinal observado nos pacientes com doença gástrica, entretanto, o diagnóstico da enfermidade destes pacientes torna-se um desafio devido ao fato de doenças não gástricas também cursarem com este mesmo sinal (DENOVO, 2005). Desta maneira a classificação de gastrites em agudas e crônicas, está de acordo com a duração dos sinais clínicos que varia de forma proporcional a evolução das lesões da mucosa gastrointestinal (STURGESS, 2001; TAMS, 2005).

A gastrite crônica e aguda é uma doença comum nos cães e gatos; sendo a crônica classificada com base nas características histológicas, como o tipo de infiltrado inflamatório e a presença de fibrose, atrofia ou hipertrofia da mucosa. A aguda, geralmente é uma afecção auto limitada e suave que raramente justifica a confirmação com biópsia; seu diagnóstico clínico é feito quando ocorre vômito agudo sem causa aparente (BIRCHARD et al., 1998).

2.3.1. Gastrite aguda

A gastrite aguda provavelmente é a causa mais comum de vômito em cães e gatos e é causada por vários fatores que resultam em lesão e inflamação da mucosa gástrica. A ingestão de alimentos contaminados, intolerância ou alergias alimentares são muito frequentes, assim como a ingestão de material estranho, agentes químicos, plantas irritantes

ou fármacos podem levar a infecção, mas também algumas infecções virais e parasitárias desenvolvem gastrite aguda nesses animais (DENOVO, 2005). Segundo Johnson, Sherding & Bright (2008), a infecção bacteriana por *Helicobacter* spp. dificilmente resulta em gastrite aguda, entretanto em alguns animais esse agente etiológico está associado à causa da doença.

Macroscopicamente, há edema e hiperemia moderados, ocasionalmente com hemorragia (gastrite erosiva hemorrágica aguda). Microscopicamente, neutrófilos invadem o epitélio, com desfacelamento do epitélio de superfície, gerando erosão (MITCHELL et.al., 2006).

2.3.2. Gastrite crônica

Acredita-se que a exposição repetida a antígenos alimentares, fármacos, químicos, toxinas ou agentes infecciosos inicia uma resposta alérgica ou imunomediada que, por fim, leva a gastrite crônica (TILLEY & SMITH, 2003; DENOVO, 2005).

Existem várias apresentações de gastrite crônica, com frequência, o tipo celular ou formação histológica predominante pode identificar a doença, assim temos as gastrites linfocítica-plasmocítica, eosinofílica, granulomatosa ou atrófica, sendo os tipos linfocítica-plasmocítica e atrófica os mais envolvidos em casos de infecção por *Helicobacter* spp..(TILLEY & SMITH, 2003; WILLARD, 2006).

A gastrite linfocítica-plasmocítica pode ser uma reação imunológica e/ou inflamatória a uma variedade de antígenos, inclusive os microrganismos *Helicobacter* spp.podem ser os responsáveis por tal reação em alguns animais, especialmente nos felinos (WILLARD, 2006). Este tipo de gastrite é caracterizada pela presença de infiltrado de linfócitos e/ou plasmócitos na lâmina própria do estômago, menos comumente os infiltrados se estendem para as camadas submucosa e muscular da mucosa (TILLEY & SMITH, 2003).

A gastrite atrófica é uma afecção rara de etiologia desconhecida que ocorre em cães idosos, associada com perda na capacidade secretora gástrica (STURGESS, 2001). No homem ela pode ocorrer com uma infecção por *Helicobacter* spp. na qual se associa com o aumento no risco de neoplasia gástrica. A afecção pode representar o estágio final de uma gastrite crônica. No entanto, é possível que se trate de uma doença imunomediada, pois a afecção pode ser produzida, experimentalmente, com a imunização de cães contra suas próprias secreções gástricas (TWEDT & MAGNE, 1986). Pode-se desenvolver a falta de produção de ácido, e esta predispor ao super crescimento bacteriano. A falha nos mecanismos

de retroalimentação negativa resulta na elevação da gastrina plasmática e pode ocorrer ulceração gástrica (STURGESS, 2001). Gastrite atrófica também pode resultar do uso prolongado de inibidores poderosos de secreção e ácido gástrico, tal como o omeprazol. Dessa forma, o efeito ácido-supressor do inibidor da bomba de prótons, causa o aumento de secreção de gastrina, por falta do “feedback” negativo do ácido sobre as células secretoras de gastrina no antro pilórico (DENOVO, 2005).

A gastrite crônica parece ocorrer frequentemente em cães e gatos, entretanto, sua prevalência real é desconhecida (DENOVO, 2005). O aumento da utilização do endoscópio na Medicina Veterinária proporcionou um significativo aumento do diagnóstico dessa afecção, de forma geral, as causas de gastrite crônica são semelhantes às daquelas da gastrite aguda, em particular a infecção com a bactéria gástrica espiral *Helicobacter* spp., que parece ser uma causa comum de gastrite crônica em cães e gatos (DENOVO, 2005; TAMS, 2005).

Em muitos casos a inflamação gástrica é confirmada por biópsia, mas a causa específica pode não ser identificada. Nessas circunstâncias, os achados histológicos, embora não específicos, podem indicar um diagnóstico etiológico e ajudar nas decisões terapêuticas e prognósticas; no caso de uma infecção por *Helicobacter* spp. o tipo histológico predominante possivelmente será linfocítico-plasmático, e em alguns casos encontram-se nódulos linfóides também (ISRAEL et.al, 2001).

A gastrite crônica é caracterizada clinicamente por episódios intermitentes de vômito às vezes com episódios agudos, que não respondem ao tratamento sintomático. O vômito crônico é definido com um vômito intermitente ou persistente que falhou em responder à terapia sintomática e tem ocorrido por mais de 3 semanas (STURGESS, 2001). Na afecção, a frequência do vômito pode variar de uma vez por semana a várias vezes por dia (WILLARD, 2006). Outros sinais inespecíficos incluem inapetência, anorexia, perda de peso e dor abdominal. Hematêmese e melena ocorrem se há erosão úlcera gástrica, ou neoplasias estiverem presentes, e nesse caso, o vômito pode apresentar-se com flocos de sangue ou com sangue digerido, ao qual é chamado de “borra de café” (STURGESS, 2001; TILLEY & SMITH, 2003). Esses animais poderão apresentar mucosas pálidas em casos de anemia por perda sanguínea crônica nas úlceras (TILLEY & SMITH, 2003). A diarreia é incomum, a menos que o paciente tenha doença inflamatória intestinal concomitante (STURGESS, 2001).

Não é incomum que animais com vômito crônico apresentem pouca ou nenhuma alteração na mucosa gástrica em uma biópsia, enquanto que outros animais que não estão

vomitando exibem evidências histológicas de danos na mucosa (TWEDT & MAGNE, 1986). A razão para essa disparidade entre alterações clínicas e histológicas permanece obscura (STURGESS, 2001). Entretanto, segundo Mitchell et al., (2006), na gastrite crônica, ocorre a presença de alterações inflamatórias, mucosas crônicas que ao fim podem levar à atrofia da mucosa e a neoplasia intestinal, sendo que esta condição constitui uma base para a displasia e daí para o carcinoma.

Macroscopicamente, a gastrite crônica exibe uma mucosa avermelhada, mole de textura grosseira. Histologicamente, infiltrado linfocitário e de células plasmáticas na lâmina própria, infiltrados neutrofílicos-intra-epiteliais, alteração regenerativa das células colunares da superfície, atrofia variável das glândulas da mucosa, metaplasia do epitélio tipo intestinal e displasia em alguns casos de gastrite crônica de longa duração (MITCHELL et al., 2006).

2.4. Diagnóstico da *Helicobacter* spp.

O diagnóstico da infecção por organismos semelhantes ao *Helicobacter* pode ser feito pro métodos invasivos e não invasivos. Os métodos invasivos requerem a realização de endoscopia para a coleta de fragmentos de mucosa gástrica e incluem teste rápido de uréase, citologia, histopatologia, cultura e reação em cadeia polimerase (PCR). Os métodos não invasivos detectam a presença de *Helicobacter* indiretamente, e compreendem o teste respiratório com ureia marcada e sorologia. Em Medicina Veterinária, os métodos invasivos são os mais comumente utilizados (STRAUSS-AYALI & SIMPSON, 1999; VELÁZQUES & FEIRTAG, 1999; HAHN et al., 2000).

2.4.1. Testes Invasivos ou Métodos Diretos

A sua designação provém da recorrência a meios invasivos para coleta de amostras, por gastroscopia ou laparotomia. Porém, permitem uma observação direta dos microrganismos e como tal, mais fidedigna. Durante a realização de endoscopia, alterações macroscópicas podem ser observadas, porém é difícil definir um padrão específico de infecção por *Helicobacter* spp. Se a infecção for severa, pode ser observada mucosa fúndica hiperêmica e/ou edematosa, as pregas do antro podem estar hipertróficas e a sua mucosa

hiperêmica e podem ocorrer pequenos nódulos na mucosa gástrica (LECOINDRE et al., 2000).

2.4.2. Teste Rápido da Urease

É constituído por um meio rico em ureia, ligado a um indicador de pH, o vermelho fenol. A presença de urease quebra o princípio ativo do meio, criando uma alteração de pH por formação de amônia, ou seja ocorre uma alteração de cor perceptível a olho nu para magenta. Para além das *Helicobacter* spp. gástricas, outras bactérias produzem esta enzima (por exemplo *Proteus* spp., em animais coprofágicos), conduzindo a resultados falso-positivos. Falsos-negativos podem resultar de uma amostra ocasional sem a bactéria ou com *Helicobacter* spp. que não produza urease, sendo no entanto raro (NEIGER & SIMPSON, 2000), uma vez que a sua sensibilidade está estimada em cerca de 70 a 90 %, ou seja, são necessários cerca de 10⁴ microrganismos para levar a resultados positivos (NEIGER et al., 1998).

Este teste tem maior utilização em Medicina Humana, tendo sido apontado como um método eficaz para detectar a presença de *H. pylori* e a sua densidade de colonização, já que a rapidez com que se altera a cor é proporcional ao número de bactérias (NEIGER & SIMPSON, 2000). Para além disso, é um teste prático com vários kits rápidos disponíveis no mercado. Estes kits contém uma combinação de ureia e um indicador de pH. Outra forma de realizar o teste é preparar tubos com ureia a 10% em água destilada e vermelho de fenol com indicador de pH. A mudança para a cor rosa indica resultado positivo, e o tempo decorrido até a alteração da cor está diretamente relacionado á concentração de bactérias presentes no fragmento (FOX et al., 1995; SIMPSON & BURROWS, 1997). Segundo Hann et al., (2000), o teste da urease para a detecção de helicobactérias, apresenta sensibilidade de 80 a 90%. A presença de outros microorganismos produtores de urease (*Proteus mirabilis*, *Pseudomonas aeruginosa*) pode gerar resultados falsos positivos, e resultados falsos negativos podem ocorrer quando o número de bactérias *Helicobacter* é pequeno (HAPPONEN et al., 1996 a). Por isso o exame histológico por meio de biopsias gástricas é recomendado para o diagnóstico definitivo (HAHN et al., 2000).

2.4.3. Análise Histopatológica

A maior parte das análises histopatológicas demonstram inflamação ligeira a moderada, principalmente localizada no antro (HERMANNNS et al., 1995), com infiltração por

linfócitos e plasmócitos. Gastrite folicular parece também ser um padrão comum em gatos infectados (OTTO et al., 1994; HERMANNNS et al., 1995). Durante algum tempo a presença destes folículos foi considerada um achado normal em gatos, mas tendo em conta que em humanos representam um foco de inflamação responsiva a antígenos locais, este critério sofreu uma revisão (LECOINDRE et al., 2000).

Existem colorações especiais para realçar microrganismos tipo *Helicobacter spp.* Quando há uma baixa densidade de colonização, designadamente colorações de prata, como a coloração de Warthin-Starry (EATON et al., 1996; NEIGER et al., 1998; LECOINDRE et al., 2000), de Giemsa (HERMANNNS et al., 1995) ou azul de toluideno (NEIGER & SIMPSON, 2000). Tem elevada sensibilidade e especificidade, mas podem ocorrer falsos negativos, devido a distribuição heterogênea do microrganismo, por essa razão devem ser recolhidas amostras do corpo, fundo e antro (LECOINDRE et al., 2000).

2.4.4. Citologia por raspagem

A citologia é um método sensível, pouco invasivo, de procedimento fácil e permite rápido diagnóstico. As helicobactérias podem ser visualizadas facilmente através da coloração pelo Gram (CUSTODIO et al., 2005). Contudo, peca por não permitir a avaliação de lesões de gastrite (NEIGER & SIMPSON, 2000).

2.4.5. Isolamento em cultura bacteriana

Devido as exigências especiais dos organismos, a cultura de *Helicobacter spp.* é difícil e sua sensibilidade é baixa (15,4% - 51%) quando comparada com outros métodos diagnósticos (HAPPONEN et al., 1996 a; STRAUSS AYALI & SIMPSON, 1999). Por essa razão, o seu isolamento em cultura bacteriana sempre foi difícil de alcançar (JALAVA et al., 1998). Uma das causas desse impedimento é explicada pelas condições microaerofílicas que o seu crescimento exige (5% de oxigênio, 10% de dióxido de carbono e 85 de nitrogênio) (LECOINDRE et al., 2000). Microrganismos não cultiváveis integram o grupo *H. heilmannii* (NORRIS et al., 1999).

2.4.6. Técnicas moleculares

A reação em cadeia da polimerase (PCR) de DNA extraído de biopsias gástricas ou fluido gástrico tem sido um diagnóstico muito valioso nos estudos realizados sobre esta bactéria, permitindo a identificação e diferenciação das diversas espécies (EATON et al.,

1996; NEIGER et al., 1998; STRAUSS-AYALI et al., 1999). Os “primers” usados derivam na maioria dos casos do gene de urease ou da sequência 16S rRNA. Estudos mais avançados demonstraram a importância de técnicas moleculares como FISH (“Fluorescence In Situ Hybridization”), na detecção de *Helicobacter* spp. no tecido gástrico, com elevada sensibilidade e especificidade (JERGENS et al., 2009).

2.4.7. Microscopia Eletrônica

A microscopia eletrônica permite a distinção de alguns tipos morfológicos de *Helicobacter* spp. (EATON et al., 1996; HANNINEN et al., 1996). Porém, existem estudos que comprovam as perdas das características morfológicas típicas da *H. felis* quando “in vitro” (EATON et al., 1996; JALAVA et al., 1998).

2.4.8. Testes não Invasivos ou Métodos Indiretos

Este tipo de análise consegue contornar a necessidade de meios como a endoscopia na avaliação do sucesso terapêutico de determinados protocolos, tendo as suas limitações quanto ao tipo de resultados e conclusões que deles se podem retirar (EATON et al., 1996).

2.4.9. Testes sorológicos

O “Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay” ou, mais conhecido, ELISA é usado extensivamente em Medicina Humana e em estudos epidemiológicos. No mercado estão disponíveis kits rápidos de ELISA formulados com antígenos de *H. pylori* que detectam IgG do soro sanguíneo. A aplicação destes testes nos animais domésticos é de certa forma limitada, uma vez que podem albergar diferentes espécies de *Helicobacter* spp. iguais na resposta imunológica que desencadeiam (EATON et al., 1996; JALAVA et al., 1998).

2.4.10. Testes de Medição da Ureia

A ureia pode ser medida no volume expiratório e no soro sanguíneo (FRY et al., 2005), com isótopos do carbono 12, como ^{13}C ou ^{14}C . A amônia contendo estes isótopos, e que é clivada pela urease bacteriana, e absorvida para a circulação sanguínea e depois exalada pela respiração. A medição do cálculo entre $^{12}\text{CO}_2$ e $^{13}\text{CO}_2$ é feita por espectrofotometria de massa (NEIGER & SIMPSON, 2000). Este teste foi já utilizado em gatos (NEIGER et al., 1998) e em cães. Uma vez que este teste é uma técnica não invasiva, é um bom método de documentar o sucesso de erradicação terapêutica em animais e humanos. O uso de anti-ácidos pode diminuir a atividade de urease da *Helicobacter* spp., assim como densidades bacterianas

baixas podem persistir durante muito tempo, não sendo detectável através deste teste a produção de urease (NEIGER & SIMPSON,2000).

2.4.11. Medição de gastrina e pepsinogênio

Os baixos níveis de gastrina e pepsinogênio podem constituir indicadores eficazes da doença atrófica (SIPPONEN et al., 2002). O cálculo Pepsinogênio A:Pepsinogênio C demonstrou, todavia, uma maior eficácia como marcador bioquímico da gastrite crônica atrófica, predominantemente aquela que se instala no corpo gástrico (BROUTET et al., 2003).

A combinação de testes sorológicos para detecção de *H. pylori*, medição do cálculo Pepsinogênio A :Pepsinogênio B e medição do nível sérico de gastrina, propõe um bom método de diagnóstico, com precisão similar a da análise histopatológica, e de maior sensibilidade do que quando usados individualmente. Neste âmbito, o uso destes marcadores bioquímicos constituiu um avanço importante no diagnóstico de lesões histopatológicas causadas por infecção por *H. pylori*, sem recorrência a métodos invasivos (STORSKRUBB et al., 2008).

REFERÊNCIAS

BANKS, J. W. Sistema Digestivo I: canal alimentar. In:_____. **Histologia veterinária aplicada**. 2. Ed. São Paulo: Manole, 1992. p. 546- 556.

BIRCHARD, S. J. et al. **Manual Saunders: clínica de pequenos animais**. 2. ed. São Paulo: Roca, p. 226-229, 1998.

BOYANOVA, L. et al. Inhibition of *Helicobacter pylori* growth in vitro by Bulgarian propolis: preliminary report. **Journal of Medical Microbiology**, London, v. 52 ,n. 5, p. 417-419, 2003.

BROUTET, N. et al. Pepsinogen A, pepsinogen C, and gasrin as markers of atrophic chronic gastritis in European dyspeptics. **British Journal of Cancer**, London , v. 88, p. 1239-1247, 2003.

BROUWN, L. M. *Helicobacter pylori*: epidemiology and routes of transmission. **Epidemiologic Reviews** , Oxford, v .22, n. 2, p. 283-297, 2000.

BULCK, K. V. et al. *Helicobacter cynogastricus* sp. nov., isolated from the canine gastric mucosa. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, USA, v. 56, p. 1559-1564, 2006.

CUSTODIO, R. et al. Identificação de *Helicobacter pylori* pela citologia do escovado gástrico: comparação com o método histológico. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Brasília, v. 38, n. 4, p. 322-325, 2005.

De GROOTE, D. et al. Phylogenetic characterization of "*Candidatus Helicobacter bovis*" , a new gastric *Helicobacter* in cattle. **International Journal of Systematic Bacteriology**, New Jersey, v. 49, p. 1707-1715, 1999b.

De GROOTE. et al. "*Candidatus Helicobacter suis*", a gastric helicobacter from pigs, and its phylogenetic relatedness to other gastrospirilla. **International Journal of Systematic Bacteriology**, New Jersey. v. 49, p. 1769-1777, 1999a.

DeNOVO, R. C. Diseases of the Stomach. In: Tams, T. R.. **Handbook of Small Animal Gastroenterology**, Philadelphia: Elsevier, 2005. Cap. 5, p. 159-194..

DEWHIRST, F. E. et al. "*Flexispira rappini*" strains represent at least 10 *Helicobacter* taxa. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, USA, v. 50, p. 1781–1787. 2000.

DUNN, B. E.; COHEN, H. e BLASER, M. J. *Helicobacter pylori*. **Clinical Microbiology Reviews**, Washington, v. 10, n. 9 p. 720-741, 1997.

EATON, K. A. et al. Prevalence and Varieties of *Helicobacter* Species in Dogs from Random Sources and Pet Dogs: animal and public health implications. **Journal of Clinical Microbiology**, Washington, v. 34, n. 12, p. 3165-3170, 1996.

ERGINSOY, S. D., e SOZMEN, M. Gastric *Helicobacter*-like Organisms in Stray Cats. **Acta Veterinaria. Brno**, Czech Republic, v. 75, n. 20 p. 91-98, 2006.

ERNST, P. B., e GOLD, B. D. The disease spectrum of *Helicobacter pylori*: the immunopathogenesis of gastroduodenal ulcer and gastric cancer. **Annual Review Microbiology**, USA , v. 54, p. 615–40, 2000.

FOX, J. G. et al. *Helicobacter pylori* induced gastritis in the domestic cat. **Infection and Immunity**, Washington, v. 63, n.7, p. 2674-2681, 1995.

FOX, J. G. et al. *Campylobacter pylori* associated gastritis and immune response in a population at increased risk of gastric carcinoma. **American Journal of Gastroenterology**, USA, v. 89, p. 775– 781, 1986.

FOX, J. et al.. *Helicobcater canis* Isolated From a Dog Liver with Multifocal Necrotizing Hepatitis. **Journal of Clinical Microbiology**, Washington, v. 34, p. 2479-2482, 1996. Suplemento 10.

FOX, J. G. et al. *Helicobacter mustelae* Isolation from Feces of Ferrets: evidence to support fecal-oral transmission of a gastric *Helicobacter*. **Infection and Immunity**, Washington, v. 63,n. 60,p. 606-611, 1992. Suplemento 2.

FOX, J. G. et al. *Campylobacter pylori* subsp. *mustelae* subsp. nov. Isolated from Gastric Mucosa of Ferrets (*Mustela putorius furo*), and an Emended Description of *Campylobacter pylori*. **International Journal of Systematic Bacteriology**, New Jersey, v. 38, n. 62, p. 367-370, 1988. Suplemento 4.

FRY, L. C. et al. Comparison of ¹³C- urea blood test for the diagnosis of *Helicobacter pylori* infection. **Acta of Gastroenterology Latinoamerican**, Argentina, v .35, n. 4, p. 225-229, 2005.

GEMI. Consensusur *Helicobacter*. **Prat. Méd.Chir. Anim. Comp.**, Paris, v. 36, n. 4, p. 361-364, 2001.

GUENEAU, P. Are goats naturally resistant to gastric *Helicobacter* infection? **Veterinary Microbiology**, Geneva, v. 84, n. 1-2, p. 115-121, 2002.

GOODWIN, C. S. et al. Transfer of *Campylobacter pylori* and *Campylobacter mustelae* to *Helicobacter* gen. nov. as *Helicobacter pylori* comb. nov. and *Helicobacter mustelae* com. nov., Respectively. **International Journal of Systematic Bacteriology**, New Jersey, v. 39, n. 4, p. 397-405, 1989.

HANDT, L. K. et al. *Helicobacter pylori* Isolated from the Domestic Cat: public health implications. **Infection and Immunity**, Washington, v. 62. n. 6, p. 2367-2374, 1994.

HANDT, L. K. et al. Characterization of Feline *Helicobacter pylori* Strains and Associated Gastritis in a Colony of Domestic Cats. **Journal of Clinical Microbiology**, Washington, v. 33, p. 2280-2289, 1995.

HAHN, M. et al. Noninvasive teste as a substitute for histology in the diagnosis of *Helicobacter pylori* infection. **Gastrointestinal Endoscopy**, New York, v. 52, n. 1, p. 20-26, 2000.

HANNINEN, M.-L. et al. Culture and Characteristics of *Helicobacter bizzozeronii*, a New Canine Gastric *Helicobacter* sp. **International Journal of Systematic Bacteriology**, New Jersey, v. 46, n. 1, p. 160-166, 1996.

HAPPONEN, I. et al. Comparison of diagnostic methods for detecting gastric *Helicobacter*-like organisms in dogs and cats. **Journal of Comparative Pathology**, USA, v. 115, n. 2, p. 117-127, 1996 a.

HAPPONEN, I. et al. Occurrence and topographical mapping of gastric *Helicobacter* – like organisms and their association with histological changes in apparently healthy dogs and cats. **Zentralblatt fur Veterinarmedizin**, German, v. 43, n. 5, p. 305-315, 1996 b.

HARBOUR, S., e SUTTON, P. Immunogenicity and pathogenicity of *Helicobacter* infections of veterinary animals. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, USA, v. 122, n. 48, p. 191-203, 2008.

HEILMANN, K. L., e BORCHARD, F. Gastritis due to spiral shaped bacteria other than *Helicobacter pylori*: clinical, histological, and ultrastructural findings. **Gut**, London, v. 37, n. 14, p. 137-140, 1991.

HERMANNNS, W. et al. Helicobacter-like Organisms: histopathological examination of gastric biopsies from dogs and cats. **Journal of Comparative Pathology**, USA, v. 112, n. 112, p. 307-318, 1995.

ISRAEL, D. A., e PEEK, R. M. Review Article: pathogenesis of *Helicobacter pylori* induced gastric inflammation. **Alimentary Pharmacology Therapeutics**, USA, v. 15, p. 1271-1290, 2001.

JALAVA, K et al. *Helicobacter solomonis* sp. nov., a Canine Gastric *Helicobacter* sp. Related to *Helicobacter felis* and *Helicobacter bizzozeronii*. **International Journal of Systematic Bacteriology**, New Jersey, v. 47, n.4, p. 975-982, 1997.

JALAVA, K et al. Isolation and Identification of *Helicobacter* spp. from Canine and Feline Gastric Mucosa. **Applied and Environmental Microbiology**, USA, v. 64 , p. 3998-4006, 1998.

JERGENS, A. E. et al. Fluorescence In Situ Hybridization Confirms Clearance of Visible *Helicobacter* spp. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, USA, v. 23, p. 16-23, 2009.

JOHNSON, S. E.; SHERDING, R. G.; BRIGHT, R. M. Doenças do estômago. In: BIRCHARD, S. J.; SHERDING, R. G. **Manual saunders: clínica de pequenos animais**. 3. ed. São Paulo: Roca, 2008. Cap. 67, p. 681-707.

KUSTERS, J. G., VLIET, A. H. e KUIPERS, E. J. Pathogenesis of *Helicobacter pylori* Infection. **Clinical Microbiology Reviews**, Washington, v. 19 n.3, p. 449-490, 2006.

LECOINDRE, P. et al. Gastric *Helicobacters* in Cats. **Journal of Feline Medicine and Surgery**, Amsterdam, v. 2, p. 19-27, 2000.

LEE, A. et al. Isolation of a Spiral-Shaped Bacterium from the Cat Stomach. **Infection and Immunity**, Washington, v. 56, n. 11, p. 2843-2850, 1988.

MITCHEL, R. N. et al. O trato gastrointestinal. In: Robbins & Cotran: **fundamentos de Helicobacter patologia**. 7. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2006. Cap.17, p.425-462.

MORGNER, A. et al. *Helicobacter heilmannii*- associated primary gastric low-grade MALT lymphoma: complete remission after curing the infection. **Gastroenterology**, Maryland, v. 8, n. 118, p. 821, 2000.

MOYAERT, H. et al. *Helicobacter equorum* sp. nov., a urease-negative species isolated from horse faeces. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, New Jersey, v.57, p.213–218, 2007.

NEIGER, R., e SIMPSON, K. W. *Helicobacter* Infection in Dogs and Cats: facts and fiction. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, USA, v. 14, p. 125-133, 2000.

NEIGER, R. et al. Detection and Prevalence of *Helicobacter* Infection in Pets. **Journal of Clinical Microbiology**, Washington, v. 36 ,p. 634-637, 1998.

NORRIS, C. R.. et al. Healthy Cats Are Commonly with "*Helicobacter heilmannii*" that Is associated with minimal gastritis. **Journal of Clinical Microbiology**, Washington, v.37, n. 1, p. 189-194, 1999.

O'ROURKE, J. L. et al. Description of "*Candidatus Helicobacter heilmannii*" based on DNA sequence analysis of 16S rRNA and urease genes. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, New Jersey, v. 54, p. 2203–2211, 2004.

OTTO, G. et al. Animal and public health implications of gastric colonization of cats by *Helicobacter*-Like organisms. **Journal of Clinical Microbiology**, Washington, v. 32, n. 4, p. 1043-1049, 1994.

RANDIN, M. J. et al. *Helicobacter pylori* Gastric Infection in Gnotobiotic Beagle Dogs. **Infection and Immunity**, Washington, v. 58, n.8, p. 2606-2612, 1990.

ROSS. M. H.; ROMRELL, L. J. Sistema Digestivo II: esôfago, estômago e intestino. In: Histologia, texto e atlas. 2. ed. São Paulo: editora panamericana, 1993. Cap. 16, p. 199.

ROSSI, G., et al. A Conventional beagle dog model for acute and chronic infection with *Helicobacter pylori*. **Infection and Immunity**, Washington, v. 67, n. 6, p. 3112-3120, 1999.

SCANZIANI, E. et al. Histological and immunohistochemical detection of different *Helicobacter* species in the gastric mucosa of cats. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, USA, v. 13, p. 3-12, 2001.

SIMPSON, K. W.; BURROWS, C. F. Gastrites, úlceras y helicobacterias en humanos, perros y gatos. **Waltam Focus**, USA, v. 7, n. 3, p. 2-6, 1997.

SIMPSON, K. W. et al. *Helicobacter felis* in dogs: effect on gastric structure and function. **Veterinary Pathology**, USA , v. 36, p. 237-248, 1999.

SIPPONEN, P. et al. Serum levels of amidated gastrin-17 and pepsinogen I in atrophic gastritis: an observational case control study. **Scandinavian Journal of Gastroenterology**, New York, v. 37, p. 785-791, 2002.

SOLNICK, J. V., e SCHAUER, D. B. Emergence of diverse helicobacter species in the pathogenesis of gastric and enterohepatic diseases. **Clinical Microbiology Reviews**, Washington, v. 14, n. 1, p. 59-97, 2001.

STANLEY, J. et al. *Helicobacter pullorum* sp. nov. - genotype and phenotype of a new species isolated from poultry and from human patients with gastroenteritis. **Veterinary Microbiology**, USA, v. 140, p. 3441- 3449, 1994.

STINSON, A.W.; CALHOUN, M. L. Sistema digestivo, In: DELLMANN, H. T.; BROWN, E. M. **Histologia veterinária**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p. 164-211, 1982.

STORSKRUBB, T. et al. Serum biomarkers provide an accurate method for diagnosis of atrophic gastritis in a general population: the kalixanda study. **Scandinavian Journal of Gastroenterology**, New York, v. 43, p. 1448-1455, 2008.

STRAUSS-AYALI, D. et al. *Helicobacter* spp. infection in cats: evaluation of the humoral immune response and prevalence of gastric *Helicobacter* spp. **Veterinary Microbiology**, USA, v. 79, p. 253-265, 2001.

STRAUSS-AYALI, D. et al. Serological discrimination of dogs infected with gastric *Helicobacter* spp. and uninfected dogs. **Journal of Clinical Microbiology**, Washington, v.37, n. 5, p. 1280-1287, 1999.

STURGERSS, C. P. Doenças do trato alimentar. In: DUNN, J. K.(Ed). **Tratado de medicina de pequenos animais**. São Paulo: Roca, 2001. Cap. 36, p. 367-443.

TAKEMURA, L. S., CAMARGO, P. L., e BRACARENSE, A. P. Detecção e Efeitos de *Helicobacter spp.* em Gatos. **Acta Scientiae Veterinariae**, Porto Alegre, v. 35, n. 2, p. 497-499, 2007.

TAMS, T.R. Gastroenterologia de pequenos animais. Tradução Angela Bacic et al. São Paulo: Rocca, 2005.

TILLEY, L. P.; SMITH, F. W.K. J. Consulta veterinária em 5 mi.: espécies canina e felina. 2 ed. Barueri: Manole, 2003.

TORTORA, G. J.; FUNKE, B. R.; CASE, C. L. Doenças microbianas do sistema digestivo. In: _____. Microbiologia. 6. ed. Porto Alegre: Artmed, 2000. Cap. 25, p. 658-691.

TWED, D. C.; MAGNE, M. L. Chronic gastritis. In: KIRK, R. W. (Ed). **Current veterinary therapy IX**. Philadelphia: W. B. Saunders, 1986. p. 207-241.

VELÁZQUEZ, M.; FEIRTAG, J. M. *Helicobacter pylori*: characteristics, pathogenicity, detection methods and mode of transmission implicating foods and water. **International Journal of Food Microbiology**, USA, v. 53, p. 95-104, 1999.

WARREN, J. R. *Helicobacter*: the ease and difficulty of a new discovery. **ChemMedChem**, German, ,v. 1, p. 672-685, 2006.

WILLARD, M. D. Afecções do estômago. In: ETTINGER, S. J.; FELDMAN, E.C. **Tratado de Medicina Interna Veterinária**. São Paulo: Manole, 1997. V. 2, p. 1583-1595.

WILLARD, M. D. Distúrbios do sistema digestivo. In: NELSON, R. W. e COUTO, C. G. *Medicina interna de pequenos animais*. SILVA, A. S. et al. Tradução Fernando Nascimento. 3. ed. Rio de Janeiro: Elsevier Editora Ltda, 2006. Cap.103, p. 335-454.

ARTIGO

Incidência de *Helicobacter* spp. na mucosa gástrica de gatos em Recife - Pernambuco

ABSTRACT –[Incidence of *Helicobacter* spp. in gastric mucosa of cats in Recife - Pernambuco]

The present work was designed to investigate the incidence of the bacterium *Helicobacter* spp. In cats from the Recife city, Pernambuco State. The stomach samples were collected from 119 cats, without distinction between race or age, being 56 males and 63 females originated from the Environmental Survey Center (CVA), captured in the city of Recife.. The urease quick test and the histopathological examination using both the Hematoxilin-Eosin (HE) and Giemsa stains were performed. The urease quick test showed that 83,92% of the male (47/56) and 80,95% of the female (51/63) samples were positive for *Helicobacter*, with a total of 82,35% (98/119) of the population being positive. The Giemsa analysis demonstrated that in 73,21% of the males (41/56) and 74,60% of the females (47/63) samples the *Helicobacter* spp. Bacteria was found, and the total positive sample in the tested population was 73,94% (88/119). During the analysis performed using the HE stain, was observed that 59,66% (71/119) of the samples showed histopathological alterations, such as: lymphoplasmocitic infiltration with a lymphoid folliculum, microabscess, necrosis, hypotrophy, and in 40,34% of the samples(48/119) no alterations were observed. Since the *Helicobacter* spp. Microorganisms are able to cause gastric inflammation in cats, having showed , the research studies concerning the clinical importance and elucidate the gastric neoplastic genesis in these animals. It could conclude that cats originated from Recife city, Pernambuco state, shows high incidence of helicobacteriosis.

KEY WORDS: Helicobacteriosis, urease, gastritis, bacterium, cats.

RESUMO

O presente trabalho foi delineado para investigar a incidência da bactéria *Helicobacter* spp. em gatos oriundos da cidade do Recife do estado de Pernambuco. As amostras de estômagos analisadas, foram coletados de 119 gatos sem raça definida e idade, sendo 56 machos e 63 fêmeas provenientes do Centro de Vigilância Ambiental (CVA), capturados na cidade do Recife. Foram realizados para pesquisa de *Helicobacter* spp., os métodos de teste rápido da urease, o exame histopatológico corado pela técnica hematoxilina-eosina (HE) e pelo método de coloração Giemsa. As análises pelo teste rápido da urease mostraram que em 83,92% das amostras dos machos (47/56) e em 80,95% das amostras das fêmeas (51/63), foi detectada reação positiva para *Helicobacter*, sendo 82,35% (98/119) na totalidade das amostras. As análises pelo método de coloração pelo Giemsa mostraram que em 73,21% das amostras dos machos (41/56) e em 74,60% das amostras das fêmeas (47/63), foi encontrada a bactéria *Helicobacter* spp. , sendo 73,94% (88/119) na totalidade das amostras. Na análise das amostras coradas pela técnica de coloração hematoxilina-eosina (HE), verificou-se que em 59,66% das amostras (71/119) apresentaram alterações histopatológicas como: infiltrado linfoplasmocitário com folículo linfóide, microabcesso, necrose, hipotrofia; e em 40,34% das amostras (48/119) não apresentaram alterações histológicas. Dessa forma, os microorganismos do gênero *Helicobacter* spp. são capazes de gerar inflamação gástrica no gato, sendo necessário cada vez mais aprofundar as pesquisas a respeito da importância clínica e da gênese de neoplasias gástricas nesses animais. Concluiu-se neste trabalho que gatos oriundos da cidade do Recife, estado de Pernambuco apresentam alta incidência de helicobacteriose.

PALAVRAS CHAVE: Helicobacteriose, urease, gastrite, bactéria, felinos,

INTRODUÇÃO

Bactérias do gênero *Helicobacter* têm sido observadas desde o final do século XIX (BIZZOZERO, 1893), infectando o estômago de humanos e espécies animais como cães, gatos, furões, suínos, algumas espécies de macacos (HERMANN et al., 1995), tigres e onça parda (CATTOLI et al. 2000). Foi primeiramente classificada como *Campylobacter* spp. por WARREN e MARSHALL em 1983, estabelecendo-se taxonomicamente como *Helicobacter* spp. em 1989, baseado nas características morfológicas (OWEN, 1998).

A importância dessa bactéria tem sido detectada na patogenia da gastrite, da úlcera gástrica e duodenal (BLASER, 1990; COVER; BLASER 1995; QUEIROZ et al., 1998) e mais recentemente como agente indutor do carcinoma gástrico no ser humano (MORGNER et al., 2000b; CASTRO et al., 2003). Vários estudos têm demonstrado correlação entre a presença de *Hp* no homem e outras doenças, como trombocitopenia auto-imune, nefropatia membranosa, polineuropatias imunes agudas, doença cardíaca isquêmica (GASBARRINII; FRANCESCHI, 1999), carcinoma hepático (AVENAUD et al., 2000), colangite esclerosante primária e cirrose biliar primária (NILSON et al., 2000), e também em doença coronariana (DANESH et al., 1999).

A sua prevalência difere sobretudo com a área geográfica, com a idade, com a raça e com o estado sócio econômico. De acordo com a área geográfica, a infecção mostrou ser mais prevalente em países subdesenvolvidos, numa taxa igual ou superior a 70 % de infecção, em oposição aos países industrializados, onde 40% das pessoas ou menos estão infectadas. A infecção pela bactéria tem correlação inversa com o padrão sócio-econômico e nos países em desenvolvimento como o Brasil, a colonização do estômago humano pela *Helicobacter pylori* é disseminada (VALLE; BIZINELLI 1993; COELHO et al., 1995; SOUTO et al., 1998) . A prevalência de animais portadores com essas bactérias se situa entre 70 e 100%, demonstrando a possibilidade dos animais de companhia servirem como reservatório para a transmissão de helicobactérias aos humanos (BOYANOVA et al., 2003). A maioria dos estudos demonstrou que a infecção ocorre durante a infância, sobretudo nos países mais desfavorecidos, porém muitos indivíduos permanecem assintomáticos (DUNN et al., 1997; BROWN, 2000; KUSTERS et al., 2006). A incidência do *H. pylori* em crianças foi calculada em 3 % a 10 % por ano, nos países subdesenvolvidos, e estimada em 1 % por ano, nos países mais ricos, com mais de 70 % e 12 % a 15 % de infecção em crianças até 10 anos, respectivamente (ERNST; GOLD, 2000).

A forma exata pela qual ocorre a transmissão desta *helicobacteriose* é desconhecida. O isolamento de *Hp* em saliva, placa dentária e nas fezes reforça a hipótese de transmissão oro-oral ou oro-fecal. Alguns relatos mostram disseminação da bactéria por meio de equipamentos gastrointestinais contaminados (LANGENBERG et al., 1990; WILLIAMS, 1999). Outras espécies de *Helicobacter* foram identificadas no ser humano. A *Helicobacter heilmannii* (*Hh*) foi associada à gastrite (RODRIGUES et al., 1996; HONSOVA et al., 1999, MENTION et al., 1999; YAMAMOTO et al., 1999; CALES et al., 2000; SVEC et al., 2000) e ao linfoma MALT gástrico primário (MORGNER et al., 2000a; FOSCHINI et al., 1999). Nessa associação, a erradicação da bactéria resultou no desaparecimento do linfoma gástrico (MORGNER et al., 2000a). A infecção

por *Hh* em seres humanos é bem menos freqüente do que a verificada com a *Hp*, sendo possível a concomitância de infecção por ambas as espécies de bactérias (RODRIGUES et al., 1996; FOSCHINI et al. 1999).

A prevalência de microrganismos gástricos tipo *Helicobacter* foi calculada em 86% em gatos (OTTO et al., 1994), 90 a 100% em gatos domésticos clinicamente saudáveis (JALAVA et al., 1998; NEIGER et al., 1998; NORRIS et al., 1999; MARKS, 1999) e em 57 a 76 % em gatos (HERMANNNS et al., 1995) com vômito recorrente.

A bactéria *Helicobacter* coloniza o trato gastrointestinal superior, especificamente o estômago, provocando lesões na mucosa gástrica, dando origem a gastrite, úlceras e câncer (COUTO, 2001). A inflamação do estômago é essencialmente um distúrbio de seu revestimento mucoso. Habitualmente, a gastrite é do tipo catarral ou hemorrágica, mas quando associada à infecção por *Helicobacter*, é considerada gastrite linfocítica (JONES 2000; COUTO, 2001).

Clinicamente nos gatos a gastrite caracteriza-se por episódios intermitentes de vômito, às vezes com episódios agudos, que não responderam ao tratamento sintomático. Outros sinais não específicos incluem inapetência, anorexia, perda de peso e dor abdominal. Hematêmese e melena ocorrem se erosão e ulceração gástrica ou neoplasia estiverem presentes. A diarréia é incomum, a menos que o paciente tenha doença inflamatória intestinal (TAMS, 2005).

Em termos epidemiológicos, as condições higio-sanitárias em que os animais domésticos se encontram e habitam é um fator importante, tal como nos humanos, sendo essa teoria suportada pelo fato de maiores prevalências serem registadas em animais provenientes de canis, do que em animais provenientes de lares domésticos particulares (EATON et al., 1996). Considera-se também que a prevalência possa variar com a idade, sendo menor para animais mais jovens (OTTO et al., 1994), embora seja ainda uma teoria incerta e contraditória (NEIGER et al., 1998). Por outro lado, as diferentes densidades bacterianas encontradas entre animais clinicamente doentes e sãos, podem sugerir que o estado clínico dos pacientes é relevante na manutenção de uma infecção persistente por *Helicobacter* spp. (HERMANNNS et al., 1995).

Na pesquisa de *Helicobacter* spp. no estômago de animais domésticos focaram-se duas questões principais. A primeira prende-se com a possibilidade destes animais estarem a transportar e transmitir agentes zoonóticos a humanos (RANDIN et al., 1990; HANDT et al., 1994; OTTO et al., 1994; HANDT et al., 1995; FOX et al., 1995), sendo, com este objetivo, necessário designar a prevalência e tipo de bactérias que colonizam os carnívoros domésticos.

A segunda relaciona-se com uma perspectiva em medicina veterinária, visando a significância e importância clínica destes microrganismos em cães e gatos, bem como a sua funcionalidade enquanto modelos animais da infecção por helicobactérias em humanos (RANDIN et al., 1990; FOX et al., 1995; HANDT et al., 1995).

O objetivo deste trabalho é relatar a incidência de infecção por *Helicobacter* spp em mucosa gástrica de gatos da cidade de Recife do Estado de Pernambuco. Também são relatados os achados de necropsia e histopatológicos associados à essa infecção.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados 119 gatos sem raça definida, adultos, sendo 56 machos e 63 fêmeas, provenientes do Centro de Vigilância Ambiental (CVA) da cidade de Recife. Os animais foram sedados com xilazina a 2% e anestesiado com ketamina 22mg/Kg por via intravenosa e em seguida eutanasiados com aplicação de cloreto de potássio a 10% por via intravenosa. Em seguida foram imediatamente necropsiados.

Ao exame macroscópico do sistema estômago analisou-se a integridade da mucosa observando-se coloração, presença de lesões pré-ulcerativas e/ou ulcerativas, alterações circulatórias, presença de parasitas e outras alterações de superfície. Em seguida coletaram-se fragmentos de estômago de cada animal para a realização do teste rápido de urease e exame histopatológico.

Para a realização do teste de urease utilizou-se kit comercial (Renylab Química e Farmacêutica Ltda), para detecção de *H. pylori*, contendo ureia e vermelho fenol. Fragmentos do estômago foram imersos em solução reagente e incubados em temperatura ambiente. O teste foi considerado positivo quando a solução adquiria tonalidade rosa, indicando presença da bactéria devido à liberação de amônia. A reação foi considerada positiva quando a viragem do indicador ocorreu entre 2 e 120 minutos, sendo fortemente positiva quando a viragem do indicador ocorreu entre 2 e 30 minutos. Quando a viragem do indicador ocorreu até 120 minutos a reação foi considerada fracamente positiva e após 120 minutos as reações foram consideradas negativas.

Fragmentos de estômago foram fixados em formol a 10% tamponado com fosfato a 4% por 24 horas, convenientemente desidratados em concentrações crescentes de álcool etílico, diafinizados pelo xilol e impregnados pela parafina líquida em estufa regulada à

temperatura de 60 °C, segundo a metodologia preconizada por MICHALANY (1980). Na seqüência, os blocos foram cortados em micrótomo do tipo *Minot*, ajustado para 4 µm. Os cortes assim obtidos foram transferidos para lâminas histológicas e, em seguida, mantidas em estufa regulada à temperatura de 46°C, durante 24 horas, para secagem e colagem. Quatro lâminas foram preparadas de cada animal e coradas por hematoxilina e eosina (H.E) (BARROS; MARQUES, 2003) e pela técnica de coloração do Giemsa (NELSON; COUTO, 2006) para posterior descrição morfológica. Para este fim foi utilizado um microscópio de luz, da marca CARL ZEISS, com objetivas variando de 4 a 400 X.

Para a análise morfológica, a mucosa gástrica foi avaliada quanto à presença de infiltração inflamatória, degenerações glandular e, número de aglomerados linfóides. As alterações morfológicas podem ser classificadas de acordo com a natureza quantitativa e qualitativa. As alterações de natureza quantitativa incluem: infiltrado inflamatório linfoplasmocitário na lâmina própria com ou sem formação de folículos; presença de neutrófilos em torno dos colos glandulares e foveólas; perda dos componentes próprios da mucosa com rarefação e afastamento das glândulas e alargamento das foveólas. As alterações de natureza qualitativa incluem: epitélio superficial foveolar podendo apresentar alterações degenerativas; edema e congestão; displasia; erosões; folículos linfóides; fibrose da lâmina própria e proliferação vascular e metaplasia pseudo-antral (BOGLIOLO, 2006).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Em particular a infecção pela *Helicobacter* spp parece ser uma causa comum de gastrite crônica em cães e gatos. Em felinos os sinais clínicos da gastrite crônica consistem em episódios intermitentes de vômito, anorexia, perda de peso e dor abdominal. Os achados de necropsia relatados no presente trabalho são importantes para o diagnóstico presuntivo da doença. A confirmação diagnóstica dos casos aqui relatados foi baseada nos resultados do teste de urease, lesões macroscópicas características da enfermidade e principalmente na observação de bactérias helicoidais tipo *Helicobacter* similares aos descritos em outros casos de infecção por *Helicobacter* spp. em felinos.

Macroscopicamente das 119 amostras de estômago, 51 amostras (42,86%) não apresentaram alterações macroscópicas e 68 amostras (57,14%) apresentaram alterações

macroscópicas que consistiam em hiperemia de mucosa (28,58%), úlceras (5,88%) (Figura A), hemorragia petequiral (2,52%), hipertrofia (9,24%) e atrofia (10,92%) de pregas gástricas (Figura B).

De acordo com MITCHELL et al., (2006), macroscopicamente na gastrite crônica por *Helicobacter* spp visualiza-se edema, hiperemia moderada a acentuada, podendo ainda apresentar hemorragia (gastrite erosiva hemorrágica aguda) e úlceras. Foi observado que 68 amostras (57,14%), apresentaram uma ou mais alterações macroscópicas na mucosa gástrica tais como hiperêmia, úlceras, áreas hemorrágicas, hipertrofia e atrofia de pregas gástricas.

As alterações mais frequentes observadas ao exame histopatológico em cortes corados pelo método hematoxilina eosina (HE), foram infiltrados de células linfoplasmocitárias, distribuídas na maioria das amostras de forma difusa. Estes infiltrados foram encontrados em 71 (59,66%) amostras, onde 44 amostras (36,98%) apresentaram apenas infiltrado linfoplasmocitário, 13 amostras (10,92%) apresentaram infiltrado linfoplasmocitário difuso com folículos linfóides (Figura C), 6 amostras (5,04%) continham infiltrado linfoplasmocitário difuso com presença folículos linfóides, microabcessos e necrose (Figura D), 6 amostras (5,04%) apresentaram infiltrado linfoplasmocitário com hipotrofia epitelial, 1 amostra (0,84%) apresentou infiltrado linfoplasmocitário com hipotrofia de epitélio e presença de neutrófilos e 1 amostra (0,84%) apresentou infiltrado linfoplasmocitário com microabcesso e metaplasia epitelial (Figura E).

Em um estudo, observou-se um infiltrado inflamatório mononuclear discreto, assim com fibrose da lâmina própria e degeneração glandular. Dos animais infectados, 51% dos cães e 61% dos gatos apresentaram nódulos linfóides, e apenas 13% dos cães e 17% dos gatos tinham erosão do epitélio gástrico. Verificou-se aumento da proliferação celular em ambas as espécies estudadas (TAKEMURA, 2007) A atrofia glandular, a fibrose e os infiltrados linfocíticos são característicos das gastrites, principalmente daquelas que são originadas por *H. pylori*. São, além disso, consideradas como lesões comuns de um processo de infecção, em que existe um desaparecimento progressivo de bactérias e degradação da função gástrica (TUCCI et al., 2001). As lesões observadas neste estudo enquadram-se neste padrão histológico.

Lesões neoplásicas estão também relacionadas com a infecção por *Helicobacter* spp., e particularmente com atrofia do fundo gástrico, estimando-se um risco 4,5 vezes mais elevado de ocorrerem carcinomas nestes casos (TUCCI et al., 2001). Os MALTomas foram também relacionados com gastrite atrófica (HIYAMA et al., 2001). Esses tipos de alterações

não foram identificadas nas amostras do estudo. No entanto, alterações como infiltração linfoplasmocitária foram identificadas. A formação de linfomas gastrointestinais surgem de processos que geram tecido linfóide associado a mucosa (MALT), que alberga as células precursoras dos linfomas e que, progressivamente, se transforma em células malignas (MORGNER et al., 2000 a). Assim sendo, e apesar de neoplasias gástricas como o linfoma serem raras em animais, é de alguma relevância investigar a possibilidade de desenvolvimento de MALTomas em gatos com este tipo de lesões histopatológicas.

Na análise das amostras pelo teste rápido da urease, 98 amostras (82,35%) apresentaram resultados positivos e 21 amostras (17,65%) apresentaram resultados negativos. A reação foi fortemente positiva em 100% das amostras positivas para este teste.

Histologicamente, em 73,95% das amostras coradas por Giemsa, foram observadas bactérias helicoidais medindo entre 5 e 12 mm de comprimento, arrançadas isoladamente ou formando aglomerados no lúmen das glândulas gástricas, na camada de muco superficial ou no interior das fossetas gástricas (Figura F). O exame microscópico pelo método de coloração Giemsa revelou *Helicobacter* spp em 88 amostras (73,95%) do total de 119 amostras analisadas. Das 98 amostras (82,35%) positivas ao teste rápido de urease, 10 amostras (8,40%) não foi confirmada a presença de *Helicobacter* spp no exame histopatológico pelo método de coloração Giemsa, corroborando com NEIGER ; SIMPSON (2000), que relataram que resultados falso-negativos podem resultar de uma amostra ocasional sem a bactéria ou com *Helicobacter* spp. que não produza urease, sendo no entanto raro, uma vez que sua sensibilidade está estimada em cerca de 70 a 90%, ou seja, são necessários cerca de 104 microrganismos para levar a resultados positivos.

O teste da urease é preconizado para a confirmação do diagnóstico em casos de helicobacteriose (MARSHAL; WARREN, 1983; EATON et al., 1996; CASTELLOTE et al., 2001). A técnica é sensível e específica já que todas as espécies de *Helicobacter* que habitam o estômago são produtoras de urease, apresentando-se, portanto, capazes de degradar a uréia em amônia, com conseqüente mudança do pH da solução e mudança da tonalidade do meio de inoculação (MARSHAL; WARREN, 1983; EATON et al., 1996; CASTELLOTE et al., 2001).

De acordo com ARAÚJO (2002), alguns autores não recomendam a utilização do teste da urease como único método para diagnóstico de *Helicobacter*, devido a baixa especificidade. Outros pesquisadores não observaram diferença entre a confiabilidade desse teste e a coloração pela Prata. Além de considerarem os custos e a praticidade de tais testes, julgaram necessário realizar métodos de diagnóstico adicionais quando o teste da urease for positivo. Neste estudo, além da realização do teste da urease foram realizados como

diagnósticos adicionais os exames histopatológicos de coloração pelo método Giemsa e coloração pela técnica da hematoxilina eosina.

Utilizando-se do teste da urease e do exame histopatológico pelo método de coloração Giemsa para análise das amostras gástricas dos gatos, obteve-se um elevado resultado positivo em ambos os testes. Este resultado coincide com os relatados na literatura, em que a colonização pela helicobacteriose, foi calculada em 86% em gatos (OTTO et al., 1994), 41 a 100% em gatos domésticos clinicamente saudáveis (NEIGER et al., 1998; JALAVA et al., 1998; NORRIS et al., 1999; NEIGER; SIMPSON, 2000) e em 57 a 100 % em gatos com vômito recorrente (HERMANNNS et al., 1995; HWUANG et al., 2002; SIMPSON 2009).

CONCLUSÃO

De acordo com os dados aqui apresentados, é permitido concluir que gatos oriundos da cidade de Recife, Pernambuco apresentam alta incidência de infecção por *Helicobacter* spp. Quanto às alterações histopatológicas mais freqüentes na mucosa gástrica de gatos são infiltrado de células linfoplasmocitárias distribuídas de forma difusa.

ILUSTRAÇÕES

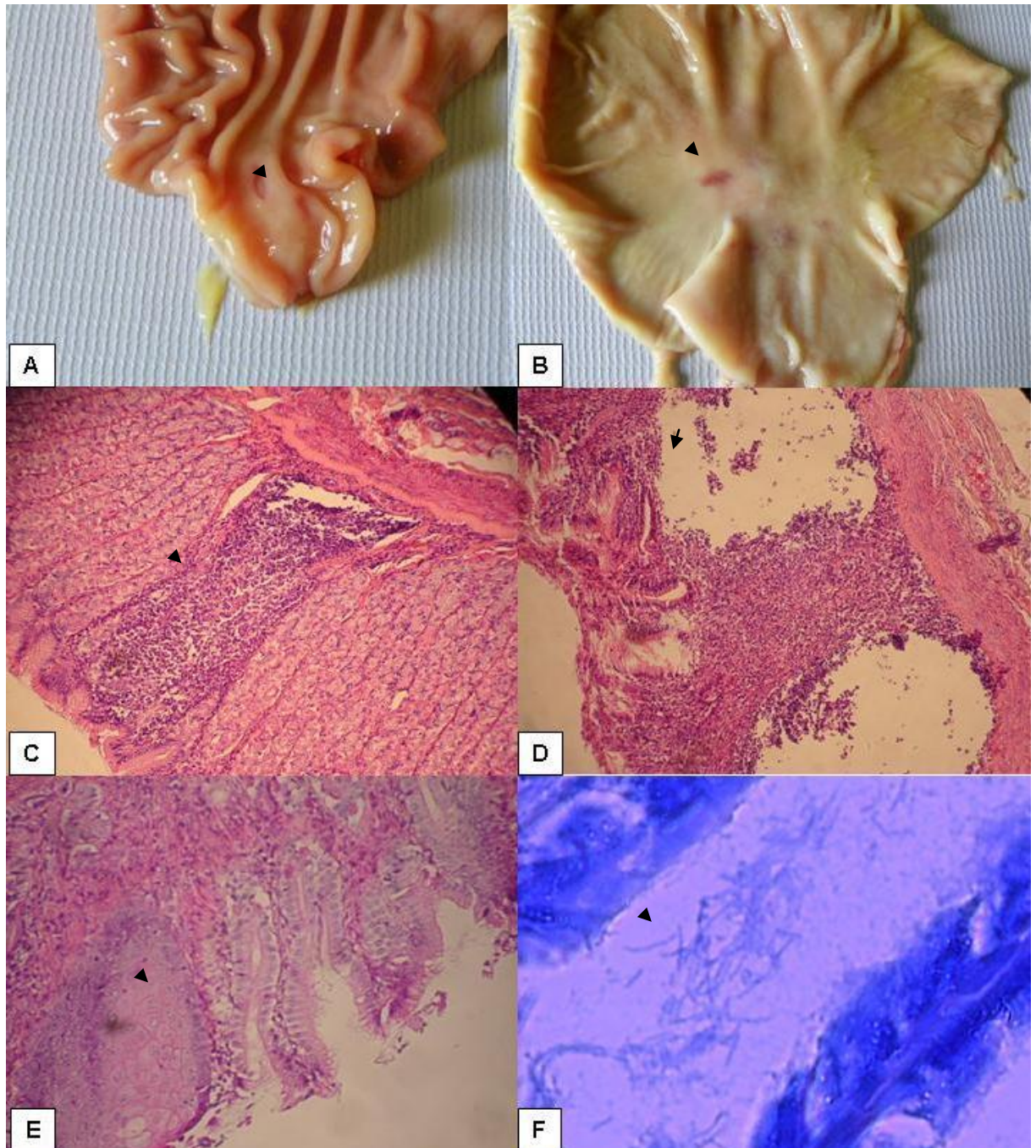


Fig. 1. Em A observar úlcera com halo hiperêmico medindo 0,2 x 0,5 cm na região pilórica de felino com reação de uréase fortemente positiva para *Helicobacter* spp. Em B, observar áreas de hemorragia e atrofia de pregas gástricas em gato com infecção por *Helicobacter* spp. C, fotomicrografias da mucosa gástrica com presença de folículo linfóide reativo Coloração HE, Obj. 20X. D, fotomicrografias da mucosa gástrica com presença de infiltrado inflamatório difuso e microabscessos Coloração HE, Obj. 10X.. E, fotomicrografias da mucosa gástrica com infiltrado linfoplasmocitário difuso e metaplasia epitelial. Coloração HE, Obj. 10X.. F, fotomicrografias da mucosa gástrica mostrando bactérias helicoidais medindo 9 mm na mucosa gástrica pilórica. Coloração Giemsa. Obj. 100X..

REFERÊNCIAS

- ARAÚJO, I. C. *Helicobacter* spp em gatos domésticos (*Felis catus*): utilização de diferentes testes de diagnóstico e correlação com achados histopatológicos na mucosa gástrica. 2002. Dissertação (Mestrado em cirurgia e clínica veterinária) - Universidade Federal Fluminense, Niterói..
- AVENAUD P. et al. Detection of *Helicobacter* species in the liver of patients with and without primary liver carcinoma. **American Cancer Society**, US, v. 89, p. 1431, 2000.
- BARROS, C. S. L.; MARQUES, G. H. F. **Procedimentos para diagnóstico das doenças do sistema nervoso central de bovinos**. Brasília: Departamento de Defesa Animal, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, p. 50, 2003.
- BIZZOZERO, G. Sulla presenza di batteri nelle ghiandole gastriche del cane (in itlaian). **Atti della Reale Accademia delle Scienze di Torino**, v. 28, p. 249, 1893.
- BLASER, M. J. *Helicobacter pylori* and the pathogenesis of gastroduodenal inflammation. **Journal Infectious Diseases**, Oxford, v. 33, p. 626, 1990.
- BOGLIOLO, L. Patologia. 7.ed Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006.
- BOYANOVA, L. et al.; G. Inhibition of *Helicobacter pylori* growth in vitro by Bulgarian propolis: preliminary report. **Journal of Medical Microbiology**, London, v.52 , n. 5, p. 417-419, 2003.
- BROWN, L. M. *Helicobacter pylori*: epidemiology and routes of transmission. **Epidemiologic Review**. Oxford, v. 22, n. 97, p.283, 2000.
- CALES, V. et al. *Helicobacter heilmannii ulceronecrotic* acute gastritis: five cases reports. **Anatomical Pathology**, USA, v. 20, n. 5, p.612, 2000.

CASTELLOTE, J. et al. Rapid uréase test: effect of preimmersion of biopsy forceps in formalin. **Gastrointestinal Endoscopy**, New York , v. 53, n. 6, p. 744, 2001.

CASTRO, L.P. et al. *Helicobacter pylori* e afecções associadas. **Jornal Brasileiro de gastroenterologia**, Rio de Janeiro, v. 2, n. 3, p. 19-30, 2003.

CATTOLI, G. et al. Isolation of *Helicobacter felis* from dogs in Italy. In : Newell, .DG. (Ed.). **Campylobacters, Helicobacters and related organisms**. New York: Plenum Press, 1996, p. 341.

COELHO, L.G.V. et al. Factors involved in reinfection by *H. pylori* in Brazil. **Gut**, London, v. 37, n. 1, p. 71, 1995.

COVER, T. L.; BLASER, M. J. *Helicobacter pylori*: a bacterial cause of gastritis, peptic ulcer disease, and gastric cancer . **AMS News**, USA, v. 61, n. 5, p. 61, 1995

COUTO, C. G.; NELSON, R. W. *Medicina Interna de pequenos animais*. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2001. p. 332 – 335.

DANESH, J. et al. *Helicobacter pylori* infection and early onset myocardial infarctin: case-control and sibling pairs study. **Br Med Journal**, Santa Catarina, v. 30, n. 62, p. 1157, 1999.

DUNN, B. E., COHEN, H., e BLASER, M. J. *Helicobacter pylori*. **Clinical Microbiology Reviews**, Washington, v. 10, p. 720-741, 1997.

EATON, K. A. et al. Prevalence and varieties of *Helicobacter species* in dogs from random sources and pet dogs: animal and public health implications. **Journal of Clinical Microbiology**, Washington, v. 34, n. 70, p. 3165, 1996.

ERNST, P. B., e GOLD, B. D. The disease spectrum of *Helicobacter pylori*: the immunopathogenesis of gastroduodenal ulcer and gastric cancer. **Annual Review Microbiology**, USA ,v. 54, p. 615–40, 2000.

FOSCHINI, M. P. et al. *Helicobacter heilmannii*: anatomo-clinical study of 14 news cases. **Pathologica**, Scandinavica, v.91, n. 24, p.18-24, 1999.

FOX, J. G. et al. *Helicobacter pylori* induced gastritis in the domestic cat. **Infection and Immunity**, Washington, v. 63, n.7, p. 2674-2681, 1995.

GASBARRINI, A.; FRANCESCHI, F. Autoimmune diseases and *Helicobacter pylori* infection. **Biomed Pharmacother**, France, v. 53, n. 6, p. 223, 1999.

HANDT, L. K. et al. *Helicobacter pylori* Isolated from the Domestic Cat: public health implications. **Infection and Immunity**, Washington, v. 62. n. 6, p. 2367-2374, 1994.

HANDT, L. K. et al. Characterization of Feline *Helicobacter pylori* Strains and Associated Gastritis in a Colony of Domestic Cats. **Journal of Clinical Microbiology**, Washington, v. 33, p. 2280-2289, 1995.

HERMANNNS, W. et al. Helicobacter-like Organisms: histopathological examination of gastric biopsies from dogs and cats. **Journal of Comparative Pathology**, USA, v. 112, n. 112, p. 307-318, 1995.

HIYAMA, T. et al. B-Cell monoclonality in *Helicobacter pylori*-associated chronic atrophic gastritis. **Virchows Archives** , London, v. 438, p. 232-237, 2001.

HWANG, C. Y.; HAN, H. R.; YOUN, H. Y. Prevalence and clinical characterization of gastric helicobacter species infection of dogs and cats in Korea . **Journal of Veterinary Science**, Seoul, v. 3, n. 34, p. 1233, 2002.

JALAVA, K. Isolation and Identification of *Helicobacter sp.* from canine and feline gastric mucosa. **Applied Environmental Microbiology**, Washington, v.64, n. 6, p. 3998-4006, 1998.

JONES, T. C.; HUNT, R. D.; KING, N. W. **Patologia veterinária**, 6^a ed. Barueri, SP: Monolli, 2000. p. 442-444.

KUSTERS, J. G., VLIET, A. H., e KUIPERS, E. J. Pathogenesis of *Helicobacter pylori* Infection. **Clinical Microbiology Reviews**, Washington, v. 19, n. 3, p. 449-490, 2006.

LNGENBERG, W. et al. Patient-to-patient transmission of *Campylobacter pylori* infection by fiberoptic gastroduodenoscopy and biopsy. **Journal Infectious Diseases**. Oxford, v. 11, n. 6, p. 161-507, 1990.

LECHAGO, J. Classificação de lâs gastritis crônicas: después de Houston 94. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PATOLOGIA, 23., 1999, Curitiba. **Anais...Curitiba: Koogan**, 1999.

MARSHAL, B. J.; WARREN, J. R. Unidentified curved bacilli of gastric epithelium in active chronic gastritis. **Lancet**, United Kington, v. 1, n. 5, p. 1273, 1983.

MENDONÇA, A. L. C.; MENESES, A. C. O.; CHAPADEIRO, E. Sensibilidade e especificidade de alterações histológicas da mucosa gástrica antral para o diagnóstico do *Helicobacter pylori*. **Jornal Brasileiro de Patologia**, Rio de Janeiro, v. 35, n. 125, p. 32, 1999.

MENTION, K. et al. Characteristics and prevalence of *Helicobacter heilmannii* infection in children undergoing upper gastrointestinal endoscopy. **Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition, Philadelphia**, v. 29 ,n. 53, p. 533, 1999.

MISRA, S. P. et al. Diagnosing *Helicobacter pylori* by imprint cytology: can the same biopsy be used for histology? **Diagnostic Cytopathology**, Chicago, v. 18, n. 2, p. 330, 1997.

MICHALANY, J. Técnica histológica em anatomia patológica. 1. ed. Pedagógica e Universitária, p. 277, 1980.

MITCHEL, R. N. et al. O trato gastrointestinal. In: Robbins, Cotran. **Fundamentos de patologia**. 7. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2006. Cap. 17, p. 425-462.

MORAIS, M. et al. Comparisson between invasive tests for the diagnosis of *Helicobacter pylori* infections. **Arquivo de Gastroenterologia**, São Paulo, v. 34, n. 11, p. 207, 1997.

MORGNER, A. et al. *Helicobacter heilmannii*- associated primary gastric low-grade MALT lymphoma: complete remission after curing the infection. **Gastroenterology**, Maryland, v. 8, n. 118, p. 821, 2000 a.

MORGNER, A. Malignant tumors of the stomach. Gastric mucosa-associated lymphoid tissue lymphoma and *Helicobacter pylori*. **Gastroenterology Clinics of North America**, USA, v. 29, p. 593-607, 2000 b.

NEIGER, R. A. Detection and prevalence of *Helicobacter* infection in pet cats. **Journal of Clinical Microbiology**, Washington, v. 36, n. 3, p. 634-637, 1998.

NEIGER, R.; SIMPSON, K. W. *Helicobacter* infection in dogs and cats: facts and fiction. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, USA, v. 14, n. 33, p. 125, 2000.

NELSON, R.W.; COUTO, C. G. **Medicina interna de pequenos animais**. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara, Koogan, 2001. p. 332 – 335.

NILSON, H. O. et al. Identification of *Helicobacter pylori* and other *Helicobacter* species by PCR, hybridization, and partial DNA sequencing in human liver samples from patients with primary sclerosing cholangitis or primary biliary cirrhosis. **Journal of Clinical Microbiology**, Washington, v. 38, n. 6, p. 1072, 2000.

NORRIS, C. R. Healthy Cats Are Commonly with "*Helicobacter heilmannii*" That Is Associated with Minimal Gastritis **Journal of Clinical Microbiology**, Washington, v.37, n. 1, p. 189-194, 1999.

OTTO, G. et al. Animal and public health implications of gastric colonization of cats by *Helicobacter* like organisms. **Journal of Clinical Microbiology**, Washington, v. 32, n. 4, p. 1043-1049, 1994.

OWEN, R.J. *Helicobacter* species classification and identification. **British Medical Bulletin**, London, v. 54, n. 1, p. 17-30, 1998.

QUEIROZ, D. M. M. et al. CagA-positive *Helicobacter pylori* and risk for developing gastric carcinoma in Brazil. **International Journal of Cancer**, California, v. 9, p. 78-135, 1998.

RANDIN, M. J. et al. *Helicobacter pylori* gastric infection in gnotobiotic Beagle dogs. **Infection and Immunity**, Washington, v. 58, p. 2606 – 2612, 1990.

RODRIGUES, M. A. M. Gastrite crônica associada a infecção pelo “*Gastrospirillum hominis*”. **Gastroenterologia Endoscopia Diagnóstica**, São Paulo, v. 15, n. 3, p. 141, 1996.

SOUTO, F. J. D.; FONTES, C. J. F.; ROCHA, G. A.; OLIVEIRA, A. M. R.; MENDES, E. N.; QUEIROZ, D. M. M. Q.; Prevalence of *Helicobacter pylori* Infection in a rural área of the State of Mato Grosso, Brazil. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, v.4, p. 93-171,1998.

SVEC, A.; KORDAS, P.; PAVLIS, Z.; NOVOTNY, J. High Prevalence of *Helicobacter heilmannii*- associated gastritis in a small, predominantly rural area: further evidence in support of a zoonosis? **Scandinavian Journal Gastroenterology**, v. 35. P. 925-928, 2000..

TAMS, T.R. *Gastroenterologia de pequenos animais*; tradução Angela Bacic et al. São Paulo: Rocca, 2005

TAKEMURA, L. S. *Helicobacter* spp **gástrico em cães e gatos**: relação entre espécies infectantes, alterações histológicas e proliferação celular. 2007. Dissertação (Mestrado em Ciência Agrária) Faculdade de Ciências Médicas, Londrina, 2007.

TROUILLET, A. V. P. et al. *Helicobacter* sp e seus **métodos diagnósticos em gatos**. In: CONGRESSO INTERNACIONAL DE MEDICINA FELINA, 2.,2001, Rio de Janeiro. **Anais...**Rio de Janeiro: Koogan, 2002. p. 13-14.

TUCCI, A. et al. *Helicobacter pylori* infection and gastric function with fundic atrophic gastritis. **Digestive Diseases and Sciences**, Usa, v. 46, p. 1573-1583, 2001.

VALLE, C.; BIZINELL, S. L.; Prevalência do *Helicobacter pylori* em pacientes submetidos a endoscopia digestiva alta. **Revista Médica do Paraná**, Curitiba, v. 50, p. 17-20, 1993.

WARREN, J.; MARSHALL, B. Unidentified curved bacilli on gastric epithelium in active chronic gastritis. **Lancet**, United Kingdom , v. 1, p. 1273, 1983.

WILLIAMS, C. L. *Helicobacter pylori* and endoscopy. **Journal Hospital Infection**, London, v. 8, p. 263, 1999.

YAMAMOTO, T. et al. *Helicobacter heilmannii* associated erosive gastritis. **Internal Medicine**, USA, v. 3, n. 38, p. 240, 1999.