

## **HELICOBACTER PYLORI Y ORGANISMOS HELICOBACTER HEILMANNII-LIKE: ¿QUÉ ROL JUEGAN EN PERROS Y GATOS?**

### **HELICOBACTER PYLORI AND HELICOBACTER HEILMANNII-LIKE ORGANISMS: WHICH ROL HAVE THEY IN DOGS AND CATS?**

ALICIA VALDÉS O.<sup>1</sup>, MACARENA ASTUDILLO<sup>1</sup>

#### ABSTRACT

*Helicobacter pylori* infection is now recognised as a worldwide problem. It is the most common cause of chronic gastritis, and is strongly linked to peptic ulcer disease and gastric cancer in human patients. In animals, specially in dogs and cats it is still not completely understood. Otherwise, in recent reports there is a new group: *Helicobacter heilmannii*-like that has been detected in human, canine and feline gastric biopsies; and again it not clear its patologic rol in them. This article rewiews the literature trying to answer the question: Which rol have *H. pylori* and *H. heilmannii* -like in dogs and cats?

**KEY WORDS:** *Helicobacter*, *H. pylori*, *H. heilmannii*-like.

**PALABRAS CLAVE:** *Helicobacter*, *H. pylori*, *H. heilmannii*-like.

#### INTRODUCCIÓN

A fines del siglo XIX se detectó por primera vez la presencia de bacterias espirales en el estómago de animales domésticos, anulando la teoría de que éste era un órgano estéril. En 1881 se describieron organismos espirales gástricos en perros, y estas observaciones fueron confirmadas y complementadas tanto en perros como en otros mamíferos en 1893 (Strauss-Ayali y Simpson, 1999, Simpdo *et al.*, 2000). Estos estudios morfológicos aún asombran por la precisión y sofisticación de sus hallazgos, tomando en cuenta las limitaciones tecnológicas de la época (Fox, 1997).

En 1906, Krientz (citado por Mc Nulty *et al.*, 1989) describió organismos espirales en los contenidos gástricos (incluyendo vómitos) de un paciente con carcinoma gástrico. Doengens en 1939 fue el primero en describir organismos espirales en la mucosa gástrica humana, llegando a estar presentes en el 43% de biopsias *post mortem*.

En los años 70 y 80 se realizaron muchas investigaciones acerca de la clasificación histopatológica de

las gastritis, pero a pesar de esto, muy pocos trabajos mencionaron a las bacterias helicoidales (Mc Nulty *et al.*, 1989).

En 1975 se informó de la presencia de bacterias espirales gam-negativas en el 80% de los pacientes humanos con úlcera gástrica, pero sólo en 1983 se asoció la presencia de estos microorganismos al desarrollo de ellas (Smoot, 1996).

En septiembre de 1983, en el "Second Internacional Workshop on *Campylobacter* Infections" en Bruselas, Marshall y Warren describieron la fuerte asociación de estos "*Campylobacter*-like organism" (CLO) con gastritis y úlceras pépticas. Su trabajo fue recibido con gran interés y rápidamente se iniciaron diversas investigaciones a nivel mundial (Dubois, 1995).

Dos investigadores australianos encontraron estas bacterias en el 100% de los pacientes con úlceras duodenales, 80% de los pacientes con úlceras gástricas y 96% de los pacientes con gastritis crónica activa, en contraste de sólo 2/31 de los individuos controles (Dunn *et al.*, 1997).

Actualmente, *Helicobacter pylori* sería la bacteria más prevalente en los seres humanos, estimándose incluso que la mitad de la población humana estaría infectada con este patógeno. La mayoría de las infecciones se adquirirían durante la infancia y persistirían por décadas (Dunn *et al.*, 1997).

<sup>1</sup> Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias de la Universidad de Chile.

## GÉNERO HELICOBACTER

La nomenclatura de las bacterias del actual género *Helicobacter* ha sido inconsistente. Inicialmente fueron nombradas *Spirillum rappini* en honor al primer científico en describirlas (Dubois, 1995; Smoot, 1996). La sexta edición del manual de Sistemática Bacteriana de Bergey incluía 3 especies de *Spirillum* gástricas pertenecientes al género VI *Spirillum* de la Familia *Pseudomonaceae*; sin embargo, no reaparecieron en la siguiente edición del libro (Dunn *et al.*, 1997).

Salomón en 1986 (citado por Fox, 1997) fue el primero en describir 3 bacterias espirales morfológicamente distintas, presentes en la mucosa gástrica de perros y gatos. Se sugirió que estas bacterias estarían relacionadas al Orden *Spirochaete* en base a su morfología, con semejanza a *Treponema microdentium* y *Borrelia vincentii* (Jenkins y Basset, 1997).

En Australia, en 1988, se reportó por primera vez el aislamiento de bacterias helicoidales microaerofílicas, en perros y gatos (Fox, 1997; Jenkins y Basset, 1997). Posteriormente, estas bacterias fueron clasificadas como miembros del género *Helicobacter* y designadas *Helicobacter felis* (Paster *et al.*, 1991).

Desde la publicación de la secuencia completa del genoma de *H. pylori* (cepa 26695) por Tomb *et al.* (1997), una gran cantidad de información de la microbiología de este organismo ha podido comprobarse y en base a esta secuencia se han identificado otras especies de este género.

La especie más estudiada es *H. pylori*, y se le considera el prototipo de las bacterias con ubicación gástrica exclusiva (Dubois, 1995). Hasta el año 2003, se han descrito más de 30 organismos con características del Género *Helicobacter*. La mayoría de estos organismos, encontrados en perros y gatos, tienen forma espiral, tamaños entre los 0,5 a 10  $\mu\text{m}$  y no pueden distinguirse entre sí, por microscopía óptica simple (Neiger, 2003).

Los *Helicobacter* spp gástricos se pueden clasificar en 2 grandes grupos basado en diferencias morfológicas, rango de hospederos y patrón de colonización dentro del estómago. Estos dos grupos son: “*Helicobacter pylori*-like” y “*Helicobacter heilmannii*-like” (Eaton *et al.*, 1996).

El primer grupo de los organismos “*Helicobacter pylori*-like” incluye a las especies: *H. pylori*, *H. acinonyx*, *H. nemestrinae* y *H. mustelae*. Estos organismos se caracterizan morfológicamente por ser de pequeño tamaño (aproximadamente 5  $\mu\text{m}$  de longitud), tener uno o dos espirales y comúnmente

un flagelo unipolar. Colonizan el mucus gástrico y la superficie epitelial, pero no penetran profundamente dentro de las glándulas gástricas (Fox y Lee, 1997).

El segundo grupo de *Helicobacter* spp gástricos corresponde a los organismos “*Helicobacter heilmannii*-like”, representadas por *H. felis*, *H. heilmannii* y *H. bizzozeronii*. Este grupo de bacterias son de mayor longitud que *H. pylori* (aproximadamente 10  $\mu\text{m}$ ) con más hélices, más firmemente enrolladas y a veces con fibrillas periplásmicas que envuelven al organismo en una membrana externa. Estas bacterias “*Helicobacter heilmannii*-like”, a diferencia de los organismos “*Helicobacter pylori*-like”, son capaces de colonizar profundamente las glándulas gástricas y a veces se les ubica dentro de las células parietales, así como también en el mucus gástrico (Eaton, 1999).

*Helicobacter felis*, *H. bizzozeronii*, *H. salomonis*, *H. bilis*, *Flexispira rappini* y *H. heilmannii* han sido descritos en estómagos de perros. *H. felis*, *H. pame-tensis*, *H. pylori*, *H. bizzozeronii*, *H. salomonis* y *H. heilmannii* se han descrito en el estómago de gatos (Gitnick, 1997).

Las bacterias “*H. heilmannii*-like” tienen un rango más amplio de hospederos. A modo de ejemplo, *H. felis* coloniza especies tan dispares como gatos, ratones y hurones (Fox *et al.*, 1991; Lee *et al.*, 1992).

En la naturaleza, gatos, perros, cerdos, carnívoros salvajes y muchas especies de primates no humanos están casi universalmente colonizados por bacterias gástricas del género *Helicobacter* (Hermanns *et al.*, 1995; Lee *et al.*, 1992; Otto *et al.*, 1994). Debido a la alta prevalencia de la infección natural, la evaluación del rol patógeno de estas bacterias es difícil. Estudios en enfermedades gástricas de perros y gatos, implicando bacterias del grupo “*H. heilmannii*-like”, han adolecido de grupos controles (individuos no infectados), alterando con ello la interpretación de la asociación de estas bacterias con la enfermedad (Eaton *et al.*, 1996; Hermanns *et al.*, 1995; Otto *et al.*, 1994).

## MICROBIOLOGÍA DEL GÉNERO HELICOBACTER

Las bacterias del género *Helicobacter* de ubicación gástrica exclusiva son organismos microaerofílicos, de forma espiral, gram-negativos y que producen la enzima ureasa (Fox y Lee, 1997).

La característica bioquímica fundamental de *H. pylori* es la producción de ureasa, enzima citosólica

de peso molecular cercano a los 500 kDa. Ureasa hidroliza la urea en el medio ácido gástrico, originando un medio alcalino que protege al microorganismo hasta su localización entre la superficie epitelial y el moco que la recubre (Fox *et al.*, 1995). Las especies bacterianas de ubicación hepática e intestinal no sobreviven en el medio ambiente gástrico por su incapacidad de sintetizar ureasa (Dubois, 1995; Fox *et al.*, 1996a; Monath *et al.*, 1998).

Los *Helicobacter* gástricos se desarrollan mejor en un ambiente neutro o levemente alcalino (pH 7 a 8) y a temperaturas entre 33° y 40°C. Sin embargo, se han detectado bacterias *Helicobacter* al interior de las células parietales (productoras de ácido clorhídrico), lo que sugiere alta resistencia a pH ácido (Gao y Moore, 1996; Gitnick, 1997).

Los *Helicobacter* gástricos también producen enzimas del tipo proteasas y lipasas, lo que les permite obtener nutrientes, reducir la viscosidad del mucus gástrico, y facilitar su movimiento flagelar (Smoot, 1996).

La capacidad de *H. pylori* para diseminarse, a través del mucus viscoso que cubre la mucosa gástrica, se debe a la presencia de 5 a 6 flagelos unipolares. Estas unidades son esenciales para la colonización, y sus filamentos están compuestos por 2 proteínas diferentes: proteína FlaA y proteína FlaB. Además, los filamentos flagelares están recubiertos de una doble capa de fosfolípidos, que los protegerían de la acidez gástrica, evitando su depolimerización (Corti *et al.*, 2002).

## PATOGÉNESIS

La patogénesis de *H. pylori* puede describirse en 3 etapas (McGee y Mobley, 1999):

- a) Entrada y colonización en la mucosa gástrica.
- b) Evasión del sistema inmune específico y no específicos.
- c) Multiplicación, generación de daño tisular y transmisión a un nuevo hospedero susceptible o diseminación a un tejido vecino.

Si bien, *H. pylori* es ácido-sensible, puede sobrevivir en el ambiente ácido del estómago si existe urea, debido a que produce ureasa, la cual hidroliza la urea en amoníaco. El amoníaco proporciona tiempo para que *Helicobacter* atraviese la capa de mucus y colonice la superficie epitelial (McGee y Mobley, 1999).

El tejido gástrico se daña directamente por el amonio generado por la bacteria y, en forma indirecta, por

la estimulación de la respuesta inflamatoria inducida por la propia ureasa, incluido el reclutamiento de neutrófilos (Corti *et al.*, 2002).

Se reconoce la participación de una citotoxina vacuolizante (codificada por el gen *VacA*) semejante a la citotoxina de *Neisseria gonorrhoeae*, que induce la vacuolización en células epiteliales gástricas primarias (Montecucco y Rappuoli, 2001).

En la actualidad, se acepta que la gastritis crónica atrófica tipo B y la úlcera duodenal de los humanos, es causada en el 90% de los casos por *H. pylori*. También, se ha descrito una estrecha asociación entre este microorganismo y el linfoma del tejido linfoide asociado a mucosa (MALT) (Corti *et al.*, 2002). En otros procesos patógenos como el adenocarcinoma gástrico, el nexo de causalidad está menos establecido: se calcula que el riesgo atribuible al *H. pylori* para el desarrollo de cáncer gástrico se encuentra entre el 35 a 60%, de tal forma que la Organización Mundial de la Salud ha clasificado a esta bacteria dentro de la categoría I, que se considera un factor carcinogénico probado (Dubois, 1995; Corti *et al.*, 2002).

Otro de los posibles mecanismos de carcinogénesis observado en sujetos infectados por *H. pylori*, es el aumento del grado de proliferación celular condicionado por un incremento en la producción de factor de crecimiento epidérmico, con relación a factores liberados por el germen y a la situación de hipergastrinemia secundaria, que remite tras la erradicación bacteriana. El aumento en la velocidad de replicación celular podría aumentar la posibilidad de mutaciones “espontáneas”, algunas de las cuales podrían incorporarse de forma permanente al ciclo celular (Montecucco y Rappuoli, 2001).

## EPIDEMIOLOGÍA

El ser humano sería el hospedero natural para *H. pylori* y se postula que esta bacteria se ha adaptado en forma activa al nicho ecológico del estómago humano. Debido al aislamiento de *Helicobacter* desde heces de pacientes humanos y animales, se ha sugerido una vía de transmisión fecal-oral (Twedt, 1996).

El fracaso en aislar *H. pylori* de reservorios animales no humanos sugiere que el contacto directo persona a persona sería el modo de transmisión más probable para este microorganismo (Fox *et al.*, 1996b; Twedt, 1996).

La prevalencia de *Helicobacter* en pacientes humanos difiere marcadamente entre grupos étnicos y clases socioeconómicas en los distintos países.

Aproximadamente el 50% de los individuos adultos de países industrializados y más del 90% de los adultos de países en desarrollo estarían infectados con esta bacteria (Smoot, 1996).

En los países en vías de desarrollo, el inicio de la infección ocurriría entre los 2 a 8 años de edad, mientras que en los países desarrollados, *Helicobacter* es poco común en niños, y afecta al 20% de la población menor de 40 años, y alrededor del 50% de los adultos mayores de 60 años de edad (Gitnick, 1997; Monath *et al.*, 1998).

En un estudio realizado por Tindberg *et al.*, 2001, en Suiza, concluyeron que la niñez sería el periodo de infección con *H. pylori*, y está estrechamente asociado al origen y nivel socioeconómico de la madre, más que del padre.

En 1992 se publicó por primera vez el aislamiento de *H. pylori* desde excrementos humanos (Thomas *et al.*, 1992). A pesar de la evidencia del pasaje de *H. pylori* a través del tracto digestivo, la bacteria no estaría bien adaptada a este tránsito. Varios investigadores han informado de los efectos letales de la bilis sobre la bacteria, por lo que se cree que la sobrevivencia de *H. pylori* después de transitar por intestino es poco probable (Otto *et al.*, 1994; Fox y Lee, 1997).

Otra vía de transmisión propuesta es la oral-oral, basada en la detección de *Helicobacter* en placa dental y contenidos gástricos de pacientes humanos; además de ser posible su cultivo desde saliva (Smoot, 1996). Existiría una vía iatrogénica explicada por una inadecuada desinfección de equipos de endoscopia (Smoot, 1996; Gitnick, 1997).

*Helicobacter pylori* fue identificado en aguas superficiales usando técnicas inmunológicas (Hegarty y Baker, 1998, citado por Strauss-Ayalí y Simpson, 1999) y por Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) en agua potable en Suiza (Hulten *et al.*, 1998). De acuerdo a los resultados de este último estudio, la bacteria sobreviviría por 48 horas en agua potable.

Los animales podrían actuar como reservorios de *H. pylori*, sin embargo numerosos trabajos no han logrado comprobar esto (Handt *et al.*, 1994; Mitchell, 1999; Neiger y Simpson, 2000, Neiger, 2003). De hecho, se ha sugerido que las mascotas domésticas podrían ser potenciales reservorios de *H. pylori*, especialmente en el caso de los gatos (Handt *et al.*, 1994). Sin embargo, a través de la técnica de secuenciación de ADNr 16S se demostraron diferencias entre bacterias espirales caninas y *H. pylori*, las que actualmente se denominan *H. felis* y *H. heilmannii* (Heilmann y Borchard, 1991; Handt *et al.*, 1995).

En animales se han propuesto rutas de transmisión similares a humanos; además de considerarse a perros y gatos eventuales reservorios de estas bacterias (Fox *et al.*, 1996b; Fox, 1997; Neiger, 2003).

*Helicobacter* ha sido aislada en animales sanos tan jóvenes como perros de 2 meses de edad y en animales viejos de hasta 11 años (Yamasaki *et al.*, 1998). Experimentalmente, se ha comprobado que existiría transmisión de *Helicobacter* gástricos de las madres a cachorros, durante el periodo de lactancia, a través de contacto oral-oral y fecal-oral (Twedt, 1996).

*Helicobacter pylori* ha sido cultivado a partir de mucosa gástrica de gatos naturalmente infectados, y las lesiones encontradas son semejantes a las descritas en humanos (Fox *et al.*, 1995). Así Fox *et al.* (1995) inocularon experimentalmente 4 gatos libres de patógenos con *H. pylori*, para posteriormente monitorear la infección por 7 meses a través de cultivos gástricos, PCR y biopsias gástricas seriadas. Finalmente, a la necropsia de los individuos se determinó que todos los gatos desarrollaron gastritis multifocal, con infiltración linfocitaria y múltiples nodulaciones linfoides, especialmente en el área del antro gástrico. Las bacterias se ubicaron en toda la mucosa gástrica, especialmente a nivel de las criptas glandulares del antro.

Dieterich *et al.*, 1998, comunican que en dos gatos, en estrecho contacto con un hombre con gastritis por *H. heilmanni*, se detectó la presencia de bacterias con morfología semejante. A través de técnicas de PCR, estos autores demostraron que en esta persona existían tres cepas distintas de *H. heilmanni*, que todas a su vez presentaban concordancia genética con las cepas detectadas en los gatos analizados. El estudio concluyó que existiría la posibilidad de transmisión de esta bacteria, entre personas y sus mascotas.

En perros, *Helicobacter* gástricos son altamente prevalentes, publicándose informes que varían entre 61 a 82% de infección en perros que consultan por vómitos (Hermanns *et al.*, 1995), 67% a 86% en perros mascotas sanos (Eaton *et al.*, 1992; Eaton *et al.*, 1996) y 100% en perros experimentales de la raza Beagle o de sociedades protectoras de animales (Henry *et al.*, 1987; Eaton *et al.*, 1992; Eaton *et al.*, 1996).

En las biopsias gástricas de perros, frecuentemente se observan especies del género *Helicobacter*, distintos de *H. pylori* (Henry *et al.*, 1987; Hermanns *et al.*, 1995; Eaton *et al.*, 1996; Fox y Lee, 1997; Yamasaki *et al.*, 1998). Las caracterizaciones fenotípicas y genotípicas han sido limitadas y generalmente las investigaciones se orientan a correlacionar la presen-

cia de anomalías gástricas con la presencia de una población de organismos espirales, denominada como organismos "Helicobacter-like" (HLO's) o "Gastrospirillum-like" (GLO's) (Neiger, 2003).

Los estudios han sido poco concluyentes (Hermanns *et al.*, 1995 y Eaton *et al.*, 1996) o de resultados conflictivos (Lee *et al.*, 1988; Yamasaki *et al.*, 1998). Las investigaciones más recientes indican que en los estómagos caninos se encontrarían presentes 3 especies: *H. felis*, *H. bizzoeronii* y *H. salomonis* (Paster *et al.*, 1991; Hanninen *et al.*, 1996; Jalava *et al.*, 1997). Las tres especies han sido fácilmente cultivables.

En 1999, Cattoli *et al.* intentaron determinar cuál de estas especies era más prevalente en la mucosa gástrica de perros. Al obtener una biopsia por vía endoscópica o *post mortem*, estómagos de 25 perros con signos de gastritis (10) y sanos (15), determinaron que 23/25 individuos (92%) fueron positivos a bacterias *Helicobacter*, mediante microscopía óptica. Sólo en 5/23 individuos positivos, se tuvo éxito al cultivo bacteriano (2 de individuos con signos de gastritis y 3 de individuos sanos). Estos aislados bacterianos fueron posteriormente analizados a través de microscopía electrónica, pruebas bioquímicas, PCR y secuenciación del ADNr 16S. *H. felis* fue identificada en 4 muestras y *H. bizzoeronii* en una muestra (paciente con signos de gastritis). Sólo el análisis con PCR y microscopía electrónica fue capaz de diferenciar entre las 2 especies bacterianas.

Distintos grupos de investigadores norteamericanos han detectado infección en un rango de 41-60% en gatos clínicamente sanos y 57-76% en gatos con vómitos crónicos. En perros sanos, los valores alcanzan a 67-86% de perros sanos, 74 a 80% en perros con vómitos y el 100% de perros de laboratorio de raza Beagle (Simpson, 1998; Neiger, 2003).

Yamasaki *et al.* (1998) informan que de 77 perros sanos, 60% y 80% de perros menores de 1 año y mayores de 5 años, respectivamente, resultaron infectados con *Helicobacter*. En 43 gatos, este mismo estudio determinó una prevalencia cercana al 60% en menores a un año de edad, sin observar incremento en este porcentaje a edades superiores.

#### DIAGNÓSTICO DE LA INFECCIÓN POR BACTERIAS *HELICOBACTER SPP.*

Desde el primer cultivo exitoso de *H. pylori* en 1984, variadas pruebas diagnósticas se han desarrollado para

determinar la infección en los pacientes sospechosos (Westblom y Bhatt, 1999).

Un gran número de pruebas diagnósticas invasivas y no invasivas pueden ser utilizadas para confirmar la presencia de bacterias *Helicobacter* gástrico en humanos (Gitnick, 1997).

Pruebas invasivas son aquellas que requieren de la técnica endoscópica e incluyen la extracción de muestras de mucosa gástrica, las cuales pueden ser sometidas a prueba rápida de ureasa y/o examen histopatológico para la detección bacteriana y de las lesiones asociadas (Sutton, 1998).

Dentro de las pruebas no invasivas destacan la prueba del aliento urémico y la detección serológica de anticuerpos (Sutton, 1998).

Inicialmente, todos los procedimientos fueron invasivos (endoscopías y biopsias de mucosa). A pesar de que la combinación de histología, cultivo y/o test rápido de ureasa pueden considerarse las pruebas definitivas ("Gold Standard"), ellas son laboriosas y de alto costo (Westblom y Bhatt, 1999).

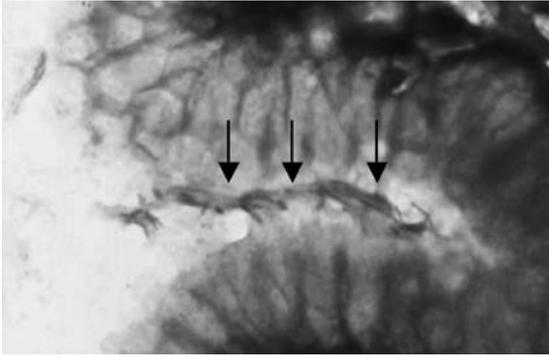
Las pruebas no invasivas requieren muestras más fáciles de obtener y menor costo económico, pero tienen la desventaja de medir indirectamente la presencia de *H. pylori*. Esto puede ser una limitante en su utilización, especialmente en el caso de haberse realizado previamente tratamientos antibióticos, los que afectan los resultados de la serología y la prueba del aliento urémico (Westblom y Bhatt, 1999).

El análisis histopatológico de biopsias gástricas aún se considera como la prueba definitiva para el diagnóstico de la infección por *H. pylori*. Además de la visualización del microorganismo, la histopatología puede entregar importante información acerca de los tejidos afectados y el grado de inflamación existente (Heilmann y Borchard, 1991).

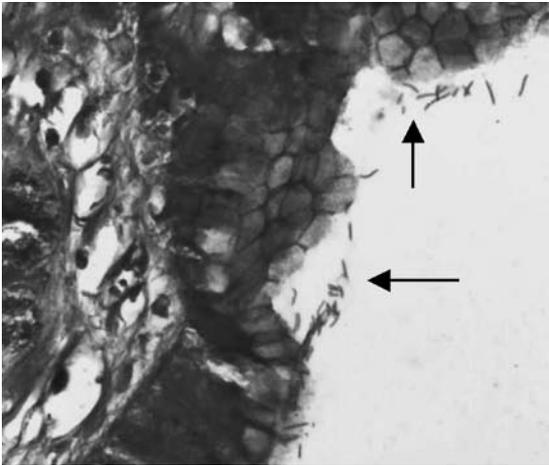
La tinción de Warthin-Starry o tinción plata, fue recomendada inicialmente por Warren y Marshall en 1983 (citado por Dunn *et al.*, 1997). Es excelente en la visualización de la bacteria, pero consume mucho tiempo y su costo es elevado.

Las tinciones no argénticas más comúnmente utilizadas son la tinción Giemsa (Fotografía 1), Gram (Fotografía 2) y la tinción Hematoxilina-eosina (Corti *et al.*, 2002). La presencia de la bacteria se evidencia en cortes de mucosa gástrica, y en general estas tinciones presentan alta sensibilidad y especificidad (Heilmann y Borchard, 1991; Hermanns *et al.*, 1995; Happonenn *et al.*, 1996; Corti *et al.*, 2002).

A pesar de la gran variedad de tinciones utilizadas a lo largo de estos años, la tinción Giemsa aún permanece como la de elección para el diagnóstico



Fotografía 1: Presencia de *Helicobacter* spp. en el lumen, y sobre la mucosa (flechas negras) de biopsia gástrica de un perro. Tinción Giemsa, 1000X (Valdés, 2007).



Fotografía 2: Presencia de abundante cantidad de *Helicobacter* spp. en lumen gástrico canino (flechas negras). Tinción Gram modificada, 400X (Valdés, 2007).

de rutina, por su simplicidad y bajo costo (Westblom y Bhatt, 1999).

La microscopía directa con tinción de Gram modificada es una técnica diagnóstica rápida y simple para biopsias gástricas. La sensibilidad de este método está entre 88 a 95%, con una especificidad cercana al 100%, comparado con el estudio histológico empleando tinción plata (Montgomery *et al.*, 1988 citado por Malferheiner, 1994; Parsonnet *et al.*, 1988 citado por Malferheiner, 1994).

El examen histopatológico, tiene la desventaja de requerir una técnica diagnóstica costosa e invasiva como es la endoscopia. Sin embargo, tiene la ventaja de permitir realizar simultáneamente el diagnóstico bacteriano y además informar de la severidad de la gastritis y de la posible presencia de metaplasia intestinal y atrofia. Es importante recordar que el examen histopatológico es altamente dependiente de

la experiencia y acuciosidad del patólogo (Westblom y Bhatt, 1999).

El diagnóstico de *Helicobacter* en animales se realiza a través de la detección de la bacteria en la mucosa gástrica. Sin embargo, la diferenciación entre *H. heilmanni*, *H. pylori* y *H. felis*, sólo es posible a través de microscopía electrónica u otras pruebas como PCR (Happonenn *et al.*, 1996, Strauss-Ayali y Simpson, 1999).

La detección de *H. heilmanni* a través de microscopía electrónica tendría una sensibilidad menor que la prueba de ureasa o la histología tradicional con tinción plata o Giemsa. Esto podría deberse a que el área de superficie investigada por microscopía electrónica es muy pequeña, que *H. heilmanni* es menos prolífica en biopsias humanas o, que está distribuida más espaciadamente en la mucosa gástrica en comparación a *H. pylori* (Happonenn *et al.*, 1996, Strauss-Ayali y Simpson, 1999).

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

## CULTIVO

El desarrollo de *Helicobacter in vitro* es muy exigente y necesita de condiciones especiales de cultivo para ser exitoso. Dentro de estas condiciones se incluyen: atmósfera microaerófila (oxígeno al 5-7%) con alto nivel de humedad, temperatura de incubación de 37 °C y un medio de cultivo rico en nutrientes. También se requiere adicionar hidrógeno atmosférico y algunos estimulantes del crecimiento para ciertas especies de *Helicobacter* (Westblom y Bhatt, 1999).

A pesar que el cultivo de *H. pylori* no es la forma más sensible de diagnóstico (90% de sensibilidad comparado con el examen histopatológico), es altamente específico y es esencial para seleccionar la terapia, basada en las pruebas de susceptibilidad antimicrobiana (Malfertheiner, 1994).

En el aislamiento de *Helicobacter* gástricos se han utilizado varios medios de cultivo, de tipo selectivo

y no selectivo. El más usado es el agar *Brucella* cerebro-corazón y agar soya tripticasa, todos suplementados con 5% a 10% de sangre (Westblom y Bhatt, 1999). Independientemente del medio utilizado, es recomendable el uso de un medio selectivo y otro no selectivo (Strauss-Ayali y Simpson, 1999).

*Helicobacter pylori* es una bacteria de crecimiento lento en todos los medios de cultivo, demorando entre 2 a 7 días para dar un cultivo positivo. La identificación se realiza a través de la tipificación morfológica en tinciones Gram, así como sus reacciones bioquímicas específicas (Breed *et al.*, 1948).

El cultivo de *Helicobacter*, a partir de muestras frescas de mucosa gástrica, no es una técnica recomendada como prueba diagnóstica rutinaria. El cultivo se evalúa a los 3 días y si no existe desarrollo se recomienda evaluar las placas hasta 14 días después de su siembra, antes de dar como negativa una muestra (Monath, 1998).

Jalava *et al.*, 1998, cultivaron biopsias de mucosa gástrica de 95 perros y 22 gatos. Resultaron positivos el 51% de los perros y 13,65% de los gatos. Las principales dificultades detectadas por ellos fueron el aislamiento primario, y la identificación de especies. A pesar de contar con un gran panel de pruebas bioquímicas y pruebas de tolerancia no pudieron diferenciar entre especies muy relacionadas como *H. bizzozeronii*, *H. felis* y *H. salomonis*.

Yamasaki *et al.*, 1998, no tuvieron desarrollo bacteriano al cultivar muestras de biopsia gástricas (fondo y píloro) de perros y gatos positivos histológicamente a la infección por *Helicobacter*.

*Helicobacter heilmanni* es una de las bacterias más frecuentemente detectadas mediante PCR en estómago de perros y gatos. Sin embargo, hasta el momento no ha sido posible su cultivo en medios artificiales. *Helicobacter felis* es cultivable, pero difícil de aislar debido, probablemente, al escaso número de bacterias que logra colonizar la mucosa gástrica de perros y gatos (Simpson, 1998).

### PRUEBA RÁPIDA DE UREASA

Debido a que los *Helicobacter* gástricos producen abundante cantidad de ureasa, se desarrollaron pruebas rápidas para detectar la enzima directamente en muestras de biopsia (Gitnick, 1997).

Estas pruebas contienen rojo fenol como indicador de pH y urea como sustrato. En la medida que la enzima bacteriana hidroliza la urea, el pH aumenta y ocurre un cambio de coloración. Se considera como

resultado positivo todo cambio de color que ocurra dentro de algunos minutos o varias horas, incluso 24 horas (Corti *et al.*, 2002).

Se describen resultados falsos positivos por la existencia de otros microorganismos productores de ureasa (estreptococos y estafilococos). Los resultados falsos negativos se deberían a un bajo número de *Helicobacter*, o cuando se realiza el análisis con una muestra (Corti *et al.*, 2002)

Varias pruebas comerciales ("kits") están disponibles actualmente, y todas requieren de una biopsia de mucosa gástrica, un sustrato de urea y un marcador sensible al pH. En general, presentan una sensibilidad entre 88-92% y una especificidad entre 99 a 100%, comparadas con la determinación de la bacteria a través de histopatología (Dunn *et al.*, 1997; Gitnick, 1997; Sutton, 1998).

En un estudio desarrollado por investigadores japoneses, el 100% de los caninos y felinos infectados por *Helicobacter* (diagnóstico histológico de mucosa gástrica), obtuvo resultados positivos en la prueba de ureasa (Yamasaki *et al.*, 1998).

### REACCIÓN DE POLIMERASA EN CADENA (PCR)

Este es un poderoso método para la detección de un bajo número de bacterias desde material clínico y no requiere que la bacteria esté viable. La precisión de esta técnica varía ampliamente debido a: la elección de partidores ("primers") y ADN objetivo, preparación de la muestra, densidad bacteriana y factores relacionados al procedimiento mismo del PCR (Dunn *et al.*, 1997).

La ventaja es su capacidad de diagnosticar *H. pylori* de forma no invasiva, ya que puede detectar ADN de esta bacteria desde fluidos no gástricos, como saliva. En un estudio, la sensibilidad para detectar *H. pylori* en la saliva de pacientes humanos fue de 84%, comparado con el examen histopatológico de las biopsias gástricas. Para explicar la observación de individuos positivos en el PCR de saliva, en ausencia de la bacteria en estómago, estos autores postulan que la cavidad oral sería el lugar de entrada de la infección bacteriana, y que la colonización del estómago no sería una consecuencia necesaria de la infección oral (Dunn *et al.*, 1997).

A pesar de lo anterior, métodos de PCR bien diseñados son superiores a otros métodos en términos de sensibilidad y menor invasividad, cuando se detectan *Helicobacter* desde saliva, placa dental,

secreciones gástricas y excrementos (Westblom y Bhatt, 1999).

El rol patógeno de *H. pylori* en perros y gatos aún no está completamente dilucidado. Algunos estudios vinculan la presencia de *Helicobacter pylori* en estómagos de perros y especialmente de gatos, con cuadros de gastritis.

#### ORGANISMOS *HELICOBACTER HEILMANNII*-LIKE

*Helicobacter heilmannii* es el nombre propuesto para una bacteria móvil de 4 a 10 µm de largo, de forma espiral con 3 a 8 hélices o giros, poseedora de hasta 14 flagelos uni o bipolares, sin filamentos periplásmicos, y que se encuentra en el 0,2 a 4% de los estómagos de pacientes humanos con gastritis (Andersen *et al.*, 1999).

Estas bacterias fueron descritas inicialmente como *Gastrospirillum hominis*, y fueron reclasificadas después de una secuenciación de ADN (ADNr) 16S, determinándose que pertenecían al género *Helicobacter*, y proponiéndose el nombre *Helicobacter heilmannii* (Groote *et al.*, 2005). Al igual que *Helicobacter pylori*, *Helicobacter heilmannii* también se asocia a gastritis y ulceración duodenal en pacientes humanos (Monno *et al.*, 2006; Joo *et al.*, 2007), e incluso con adenocarcinoma gástrico y linfoma gástrico asociado a tejido linfóide de mucosa (Yang *et al.*, 1995; citado por De Groote *et al.*, 2005).

Solnick (2003) en sus estudios en la mucosa gástrica de animales reveló que eran colonizados por microorganismos distintos a *H. pylori*. La bacteria más comúnmente observada es una de forma helicoidal con 3 a 8 giros de su hélice (Henry *et al.*, 1987). Lee *et al.*, 1988 reportaron la presencia de estas bacterias más grandes, en un pequeño número de pacientes humanos con signos gastrointestinales. Esta bacteria se relacionó con ‘*Gastrospirillum hominis*’ (McNulty *et al.*, 1989), adicionando más confusión al gran número de nombres históricos que han sido usados para describirlas.

Un estudio filogenético de 2 de estas bacterias helicoidales aisladas en pacientes humanos determinó que ellas estaban más cercanamente relacionadas con *Helicobacter felis* (Solnick, 2003).

El cultivo de *H. heilmannii* no se ha realizado hasta la fecha y su diagnóstico usualmente se basa en su morfología espiral (comparada con *H. pylori*) en biopsias teñidas con tinción plata (Priestnall *et al.*, 2004). Sin embargo, una variedad de organismos

espirales como *H. felis*, *H. salomonis* y *H. bizzozeronii* son indistinguibles de *H. heilmannii* a la microscopía óptica, sin contar que *H. pylori* en cultivo *in vitro* puede adoptar una morfología idéntica a *H. heilmannii*. Por todo esto, las técnicas genéticas como PCR, análisis de secuencias de productos de PCR y la hibridación fluorescente *in situ* (FISH) con sondas específicas, se requerirían para realizar una identificación definitiva (Trebesius *et al.*, 2001).

Debido a que los organismos ‘*Helicobacter heilmannii*’ son muy difíciles de cultivar *in vitro*, se han utilizado técnicas de PCR, específicamente basadas en la secuenciación de ADN ribosomal 16S, identificándose 2 tipos de ‘*H. heilmannii*’ (Baele *et al.*, 2004). El tipo 1 estaría relacionado a los organismos ‘*Helicobacter-like*’ porcinos, llamados ‘*Candidatus Helicobacter suis*’, los cuales hasta la fecha no han sido cultivables. Los organismos ‘*H. heilmannii* tipo 2’ estarían altamente relacionados con las 3 especies de *Helicobacter* aisladas de perros y gatos: *H. felis*, *H. bizzozeronii* y *H. salomonis*. Este ‘*Helicobacter heilmannii* tipo 2’ fue aislado por primera vez de mucosa gástrica humana en 1999 por Andersen *et al.*

El nombre ‘*Helicobacter heilmannii*’ fue propuesto en honor al patólogo alemán Konrad Heilmann, quien publicó un importante estudio describiendo estas bacterias en pacientes humanos (Heilmann y Borchard, 1991). Sin embargo, el análisis de las secuencias génicas de ARNr 16S derivadas desde clones de cada paciente, mostraron que no fueron idénticas (96,6% de similaridad) y debido a esto pasaron a llamarse ‘*H. heilmannii*’ tipo uno (clon G1A1 desde el paciente 1) y el tipo dos (clon G2A9 del paciente 2).

Potencialmente, todos los gatos y perros estarían naturalmente colonizados por diferentes especies de *Helicobacter*, incluyendo *Helicobacter bizzozeronii*, *H. salomonis* y *H. felis*. Estudios taxonómicos polifásicos han mostrado que *H. felis*, *H. bizzozeronii* y *H. salomonis* serían, tanto fenotípica como filogenéticamente, semejantes, lo que hace muy difícil su diferenciación y corresponderían a los organismos conocidos como ‘*Helicobacter heilmannii-like*’, grupo de organismos que se presentaría mayoritariamente en perros (O’Rourke *et al.*, 2004). A pesar que el análisis de la secuencia genética del ARNr 16S es una herramienta filogenética de extraordinaria utilidad, en esta instancia no es suficientemente sensible para discriminar entre estas especies. Por ejemplo, *H. felis*, *H. bizzozeronii*, *H. salomonis* y el ‘*H. heilmannii*’ tipo 2 comparten más del 98% de la

secuencia génica ARNr 16S (Hanninen *et al.*, 1996; Jalava *et al.*, 1997; Paster *et al.*, 1991).

En humanos las prevalencias reportadas a nivel mundial son: 0,1% en Italia, 0,25% en Alemania, 0,25% en Bélgica, 3,2% en el sur de China, y 6,2% en Tailandia. El 80% de estos cuadros sería provocado por *H. heilmannii* tipo 1, el cual se piensa sería adquirido desde perros, gatos y cerdos (Corti *et al.*, 2002).

Generalmente, la infección por *H. heilmannii* se asocia a gastritis leve, sin embargo se han reportado casos de úlceras duodenales, lesiones agudas de la mucosa gástrica y carcinoma gástrico. Además se ha asociado la infección de *H. heilmannii* a linfoma de la mucosa gástrica asociado a tejido linfóide (MALT) de carácter leve a moderado, tanto en pacientes humanos y animales (Corti *et al.*, 2002).

En Inglaterra, Chisholm y Owen (2003) describieron un método por PCR para ser aplicado a pacientes humanos y que detecta todas las especies que componen el grupo "*Helicobacter heilmannii*-like" y a *H. pylori*, a través de la identificación de una secuencia ADNr 16S y del gen *Vac A*, respectivamente.

Mientras la infección con organismos "*H. heilmannii*-like" es rara en pacientes humanos, es común en animales domésticos, y el contacto con gatos, perros y cerdos ha sido correlacionado con un mayor riesgo de infección con *H. heilmannii* en las personas. Stolte *et al.*, (1997) encontraron un 70% de pacientes infectados que tenían contacto con 1 o más animales, en comparación con un 37% en la población sana (citado por Baele *et al.*, 2004).

## SITUACIÓN NACIONAL

De acuerdo a estudios nacionales publicados entre 1985 y 1995, la infección por *Helicobacter pylori* es muy frecuente en pacientes con una amplia gama de condiciones gastrointestinales, incluyendo adultos (43-92%) y niños (6-100%). Los niveles de anticuerpos del tipo IgG específicos alcanzan valores de 100% en pacientes con úlceras duodenales, 86% en pacientes con gastritis y 75% en pacientes asintomáticos (Figueroa *et al.*, 1997).

Un estudio realizado por médicos de la Universidad de Chile y de la Universidad de Maryland determinó niveles séricos de IgG específicos contra *Helicobacter* en 1.815 pacientes menores de 35 años de edad. Los niveles de seropositividad detectados superaron el 60% de los pacientes evaluados. Además, este estudio correlacionó positivamente los

altos niveles de IgG de los pacientes, con su bajo nivel socioeconómico e ingesta de vegetales crudos, probablemente regados con aguas contaminadas (Hopkins *et al.*, 1993).

En medicina veterinaria se han realizado 3 estudios descriptivos de la presencia de bacterias del género *Helicobacter* en mucosa gástrica de caninos y felinos sanos, con y sin signos de patología digestiva. Sin embargo, ninguno de estos trabajos pudo determinar la o las especies de *Helicobacter* presentes en el estómago de los individuos evaluados (Paz, 2002; Jara, 2003; Valdés, 2007).

En la actualidad, y por primera vez en Chile, se está realizando en la Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias de la Universidad de Chile una investigación para determinar la presencia de bacterias *H. pylori* y organismos *H. heilmannii*-like en la mucosa gástrica de perros sanos y enfermos. La técnica diagnóstica utilizada en este trabajo experimental es PCR y utiliza 2 secuencias génicas específicas: gen *Vac A* para la detección de *Helicobacter pylori* y una secuencia ARNr 16S para el grupo *Helicobacter heilmannii*-like.

Hoy en día, aún no existen suficientes evidencias que permitan aclarar el rol patógeno de las bacterias del género *Helicobacter*, especialmente *H. pylori* y *H. heilmannii*-like en perros y gatos. A pesar del gran número de trabajos realizados con este objetivo, de los cuales una parte importante aparece mencionada en esta revisión, es muy probable que en la medida que las futuras investigaciones incluyan pruebas diagnósticas más sensibles y específicas, se logrará dar respuesta a la pregunta que plantea esta revisión. Un ejemplo de esto es que por mucho tiempo se dio por hecho que las bacterias espirales presentes en los estómagos de estos animales, eran *H. pylori*. Sin embargo, a través del método de PCR, se ha comprobado que predominantemente corresponderían a bacterias *H. heilmannii*-like, e incluso que estarían presentes en un alto porcentaje en perros y gatos sanos, tanto clínica como histológicamente.

## REFERENCIAS

- ANDERSEN, L.; BOYE, K.; HOLCK, S.; NORGAARD, A.; ELSBORG, L. 1999. Characterization of a culturable "*Gastrosipillum hominis*" (*Helicobacter heilmannii*) strain isolated from human gastric mucosa. *Journal of Clinical Microbiology* 37: 1069-1076.
- BAELE, M.; VAN DEN BULCK, K.; DECOSTERE, A.; VANDAMME, P.; HÄNNINEN, M-L.; DUCATILLE, R.; HAESBROUCK, F. 2004. Multiple PCR Assay for differentiation of *Helicobacter*

- felis*, *H. bizzozeronii*, and *H. salomonis*. Journal of Clinical Microbiology 42(3): 1115-1122.
- CATTOLI, G.; VAN VUGT, R.; ZANONI, R.; SANGUINETTI, V.; CHIOCCHETTI, R.; GUALTIERI, M.; VANDENBROUCKE-GRAULS, C.; GAASTRA, W.; KUSTERS, J. 1999. Occurrence and characterization of gastric *Helicobacter spp.* in naturally infected dogs. Veterinary Microbiology 70(3-4):239-250.
- CHISHOLM, S.; OWEN, R. 2003. Development and application of a novel screening PCR assay for direct detection of "*Helicobacter heilmannii*"-like organisms in human gastric biopsies in Southeast England. Diagn. Microbiol. Infect. Dis 46: 1-7.
- CORTI, R.; AMÉNDOLA, R.; DOWECK, J.; SCHENONE, L. CÁMARA, M. 2002. *Helicobacter pylori*: puesta al día. In: Temas de Infectología clínica. Stambouljan, D. McGraw-Hill Interamericana. P. 41-62.
- DE GROOTE, D.; VAN DOORN, L.; VAN DEN BULCK; K.; VANDAMME, P.; VIETH, M.; STOLTE, M.; DEBONGNIE, J.; BURETTE, A.; HAESBROUCK, F.; DUCATELLE, R. 2005. Detection of Non-Pylori *Helicobacter* Species In "*Helicobacter Heilmannii*"-Infected Humans. *Helicobacter* 10(5): 398-406.
- DIETERICH, C.; WIESEL, P.; NEIGER, R.; BLUN, A.; CORTHESTHEULAZ, I. 1998. Presence of multiple "*Helicobacter heilmanni*" strains in an individual suffering from ulcers and in his two cats. J. Clin. Microbiol. 36(5): 1366-1370.
- DOENGES, J. 1939. Spirochaetes in gastric glands of Macacus reshus and humans without definitive history of related disease. Arch. Pathol. 27: 469-477.
- DUBOIS, A. 1995. Spiral bacteria in human stomach: The gastric *Helicobacters*. Emerging Infectious Diseases 1(3): 79-83.
- DUNN, B.; COHEN, H.; BLASER, M. 1997. *Helicobacter pylori*. Clin Microbiol. Rev. 10(4) 720-741.
- EATON, K. PAOLA, J.; JOHNSON, S. 1992. Gastritis associated with gastric bacteria in asymptomatic random source dogs. Vet. Pathol 29: 454, 457.
- EATON, K.; DEWHIRST, F.; PASTER, B.; TZELLAS, N.; COLEMAN, B.; PAOLA, J.; SHERDING, R. 1996. Prevalence and varieties of *Helicobacter* species in dogs from random sources and pet dogs: Animal and Public Health Implications. J. Clin. Microbiol. 34(12): 3165 - 3170.
- EATON, K. 1999. Animal models of *Helicobacter* gastritis. In: Currents Topics in Microbiology and Immunology. Nº 241 "Gastrointestinal Disease and *Helicobacter pylori*: Pathophysiology, diagnosis and treatment". Eds. Westblom, Czinn, Nedrud. Springer. R.W Compans, Atlanta/Georgia. P. 123-154.
- FIGUEROA, G.; ACUÑA, R.; TRONCOSO, M.; PORTELL, D.; TOLEDO, M.; VALENZUELA, J. 1997. *Helicobacter pylori* infection in Chile. Clin. Infect. Dis. 25(5): 983-989.
- FOX, J. 1997. *Helicobacter*-associated gastric disease in ferrets, dogs and cats. In: Kirk R. (ed): Current Veterinary Therapy XII. Philadelphia. WB Saunders. P. 720-723.
- FOX, J.; LEE, A.; OTTO, G.; TAYLOR, N. MURPHY, J. 1991. *Helicobacter felis* gastritis in Gnotobiotic Rats: an Animal Model of *Helicobacter pylori* gastritis. Infect. Immun. 59(3): 785-791.
- FOX, J.; BATCHELDER, M.; MARINI, R.; YAN, L.; HANDT, L.; LI, X.; SHAMES, B.; HAYWARD, A.; CAMPBELL, J.; MURPHY, J. 1995. *Helicobacter pylori* - induced gastritis in the domestic cat. Infect. Immun. 63(7): 2674-2681.
- FOX, J. DROLET, R.; HIGGINS, R.; MESSIER, S.; YAN, L.; COLEMAN, B.; PARTER, B.; DEWHIRST, F. 1996a. *Helicobacter canis* isolated from a dog liver with multifocal necrotizing hepatitis. J. Clin. Microbiol. 34(10): 2479-2482.
- FOX, J.; PERKINS, S.; YAN, L.; SHEN, Z.; ATTARDO, L.; PAPPO, J. 1996b. Local immune response in *Helicobacter pylori*-infected cats and identification of *Helicobacter pylori* in saliva, gastric fluid, and feces. Immun. 88(3): 400-406.
- FOX, J.; LEE, A. 1997. The role of *Helicobacter* species in newly recognized gastrointestinal tract diseases of animals. Lab. Anim. Sci. 47(3): 222-255.
- GAO, S. y MOORE, P. 1996. Molecular Approaches to the Identification of Unculturable Infectious Agents. Emer. Infect. Dis. 2(3): 159-167.
- GITNICK, G. 1997. Diagnosis and management of peptic ulcer disease. Second edition. Professional Communications Inc. Fullfilment Center. Caddo, OK. USA. 63 pp.
- HANDT, L.; FOX, J.; DEWHIRST, F.; FRASER, G.; PASTER, B.; YAN, L.; ROZMIAREK, H.; RUFO, R.; STALIS, I. 1994. *Helicobacter pylori* isolated from a domestic cat: Public Health Implications. Infect. Immun. 62(6): 2367-2374.
- HANDT, L.; FOX, J.; STALIS, I.; RUFO, R.; LEE, G.; LINN, J.; LI, X. KLEANTHOUS, H. 1995. Characterization of feline *Helicobacter pylori* Strains and Associated Gastritis in a Colony of Domestic Cats. J. Clin. Microbiol. 33: 2280-2289.
- HANNINEN, M-L.; HAPPONEN, I.; JALAVA, K. 1996. Culture and characteristics of *Helicobacter bizzozeronii*, a new canine gastric *Helicobacter sp.* Inter. J. Sys. Bact. 46(1): 160-166.
- HAPPONEN, I.; SAARI, S.; CASTREN, L.; TYNI, O.; HANNINEN, M-L.; WESTERMARCK, E. 1996. Comparison of diagnostic methods for detecting gastric *Helicobacter*-like organisms in dogs and cats. J. Comp. Path. 115(2): 117-127.
- HEGARTY, D y BAKER, L. 1998. Citado por STRAUSS-AYALI, D.; SIMPSON, K. 1999. Gastric *Helicobacter* infection in Dogs. Vet. Clin. North Am. 29(2): 397-414.
- HEILMANN, K.; BORCHARD, F. 1991. Gastritis due to spiral shaped bacteria other than *Helicobacter pylori*: clinical, histological and ultrastructural findings. Gut 32: 137- 140.
- HENRY, G.; LONG, H.; BURNS, J.; CHARBONNEAU, D. 1987. Gastric spirilliosis in Beagles. Am. J. Vet. Res. 48(5): 831-836.
- HERMANN, W.; KREGEL, K.; BREUER, W.; LECHNER, J. 1995. *Helicobacter*-like organisms: histopathological examination of gastric biopsies from dogs and cats. J. Comp. Pathol. 112(3): 307-318.
- HOPKINS, R.; VIAL, P.; FERRECCIO, C.; OVALLE, J.; PRADO, P.; SOTOMAYOR, V.; RUSSELL, R.; WASSERMAN, S.; MORRIS, J. 1993. Seroprevalence of *Helicobacter pylori* in Chile: vegetables may serve as one route of transmission. J. Infect. Dis. 168 (1):222- 226.
- HULTEN, K.; ENROTH, H.; NYSTROM, T.; ENGSTRAND, L. 1998. Presence of *Helicobacter* species DNA in Swedish water. J. Appl. Microbiol. 85(3): 282-286.
- JARA, M. 2003. Determinación histológica de la presencia de bacterias curvo-espiriladas tipo *Helicobacter spp.* en estómago, intestinos, hígado y vesicular biliar de perros (*Canis familiaris*) de la ciudad de Valdivia, Chile". Memoria de título para optar al título de Médico Veterinario. Universidad Austral de Chile. Facultad de Ciencias Veterinarias. Instituto de Patología Animal. 48 pp.
- JALAVA, K.; KAARTINEN, M.; UTRIAINEN, M.; HAPPONEN, I.; HANNINEN, M-L. 1997. *Helicobacter salomonis sp. nov.* A canine gastric *Helicobacter sp.* related to *Helicobacter felis* and *Helicobacter bizzozeronii*. Inter. J. Sys. Bacteriol. 47(4): 975-982.
- JALAVA, K.; ON, S.; VANDAMME, P.; HAPPONEN, I.; SUKURA, A.; HANNINEN, M-L. 1998. Isolation and identification of

- Helicobacter spp.* from canine and feline gastric mucosa. *Appl. Env. Microbiol* 64(10): 3998-4006.
- JENKINS, C.; BASSET, J. 1997. *Helicobacter* infection. *Comp. 19*(3): 267-279.
- JOO, M.; KWAK, J.; CHANG, S.; KIM, H.; CHI, J.; KIM, K.; YANG, J.; LEE J.; MOON, Y.; KIM, K. 2007. *Helicobacter heilmannii*-associated Gastritis: Clinicopathologic findings and comparison with *Helicobacter pylori*-associated gastritis. *Journal of Korean Medicine and Science*. 22: 63-69.
- LEE A, HAZELL SL, O'ROURKE J, KOUPRACH S. 1988. Isolation of a spiral-shaped bacterium from the cat stomach. *Infect. Immun.* 56(11): 2843-2850.
- LEE, A.; KRAKOWKA, S.; FOX, J.; OTTO, G.; EATON, K.; MURPHY, J. 1992. Role of *Helicobacter felis* in chronic canine gastritis. *Vet. Pathol.* 29(6): 487-494.
- LEIB, M. 2003. Chronic Vomiting in Dogs and Cats: A practical diagnostic approach and the potential role of *Helicobacter*. *In: Proceedings of the Atlantic Coast Veterinary Conference*. 304-306.
- MALFERHEINER, P. 1994. Diagnosis of *Helicobacter pylori* infection. *In: Helicobacter pylori: its role in gastrointestinal disease*. Edited by ATR Axon. The Centre for Digestive Diseases. Leeds, UK. Science Press Ltd, 70 pp.
- MCGEE, D.; MOBLEY, H. 1999. Mechanisms of *Helicobacter pylori* infection: bacterial factors. *In: Currents Topics in Microbiology and Immunology*. N° 241 "Gastroduodenal Disease and *Helicobacter pylori*: Pathophysiology, diagnosis and treatment". Eds. Westblom, Czinn, Nedrud. Springer. R.W Company, Atlanta/Georgia. P. 155-180.
- MC NULTY, C.; DENT, J.; CURRY, A.; UFF, J.; FORD, G.; GEAR, M.; WILKINSON, S. 1989. New spiral bacterium in the gastric mucosa. *J. Clin. Pathol.* 42: 585-591.
- MITCHELL, H. 1999. The Epidemiology of *Helicobacter pylori*. *In: Currents Topics in Microbiology and Immunology*. N° 241 "Gastroduodenal Disease and *Helicobacter pylori*: Pathophysiology, diagnosis and treatment". Eds. Westblom, Czinn, Nedrud. Springer. R.W Company, Atlanta/Georgia. Pp. 11-30.
- MONATH, T.; LEE, C.; ERMAK, T.; MYERS, G.; WELTZIN, R.; GIANASCA, P.; THOMAS, W.; SOMAN, G.; BHAGAT, H.; ACKERMAN, S. y KLEANTHOUS, H. 1998. The search for vaccines against *Helicobacter pylori*. *Infect. Med.* 15(8): 534-546.
- MONNO, R.; MARGIOTTA, M.; IERARDI, E.; DE GIGLIO, I.; FUMAROLA, L.; BURATTINI, O.; DI LEO, A.; PISANI, A.; PANELLA, C.; FRANCAVILLA, A. 2005. *Helicobacter heilmannii* infection of the antrum and duodenal bulb. Case report. *Clinical Microbiology Newsletter* 28 (5): 37-40.
- MONTECUCCO, C. y RAPPUOLI, R. 2001. Living Dangerously: How *Helicobacter pylori* survives in the human stomach. *Nature Reviews. Molec. Cel. Biol.* 2: 457-466.
- MONTGOMERY E.; MARTIN, D.; PEURA, D. 1988. Rapid diagnosis of *Campylobacter pylori* by Gram's stain. *A. J. Clin. Pathol* 90: 606-611. Citado por MALFERHEINER, P. 1994. Diagnosis of *Helicobacter pylori* infection. *In: Helicobacter pylori: its role in gastrointestinal disease*. Edited by ATR Axon. The Centre for Digestive Diseases. Leeds, UK. Science Press Ltd, 70 pp.
- NEIGER, R. 2003. *Helicobacter* infection in dogs and cats. *Waltham Focus*. 13(1): 10-14.
- NEIGER, R.; SIMPSON, K. 2000. *Helicobacter* Infection in dogs and cats: facts and fiction. *J. Vet. Intern. Med.* 14: 125-133.
- O'ROURKE, J.; SOLNICK, J.; NEILAN, B.; SEIDEL, K.; HAYTER, R.; HANSEN, L.; LEE, A. 2004. Description of "*Candidatus Helicobacter heilmannii*" based on DNA sequence analysis of 16S rRNA and urease genes. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 54: 2203- 2211.
- OTTO, G., HAZELL, S.H., FOX, J.G., HOWLETT, C.R., MURPHY, J.C., O'ROURKE, J.L. and LEE, A. 1994. Animal and public health implications of gastric colonization of cats by *Helicobacter*-like organisms. *J. Clin. Microbiol.* 32:1043-1049.
- PARSONNET, J.; WELCH, K.; COMPTON, C. 1988. Simple Microbiological detection of *Campylobacter pylori*. *J. Clin. Microbiol.* 26:948-951. Citado por MALFERHEINER, P. 1994. Diagnosis of *Helicobacter pylori* infection. *In: Helicobacter pylori: its role in gastrointestinal disease*. Edited by ATR Axon. The Centre for Digestive Diseases. Leeds, UK. Science Press Ltd, 70 pp.
- PASTER, B.; LEE, A.; FOX, J.; DEWHIRST, F.; TORDOFF, L.; FRASER, J.; O'ROURKE, J.; TAYLOR, N.; FERRERO, R. 1991. Phylogeny of *Helicobacter felis* sp. nov.; *Helicobacter mustelae*, and related bacteria. *Inter J. Syst. Bacteriol.* 41(1): 31-38.
- PAZ, V. 2002. Determinación de la presencia de *Helicobacter sp.* en perros (*Canis familiaris*) de Valdivia, a través de biopsia gástrica obtenida por endoscopia. Memoria de título. Médico Veterinario. Universidad Austral de Chile. Facultad de Ciencias Veterinarias. Instituto de Ciencias Clínicas Veterinarias. 38 pp.
- PRIESTNALL, S.; WIINBERG, B.; SPOHR, A.; NEUHAUS, B.; KUFFER, M.; WIEDMANN, M.; SIMPSON, K. 2004. Evaluation of *Helicobacter heilmannii* subtypes in the gastric mucosae of cats and dogs. *Journal of Clinical Microbiology* 42(5): 2144-2151.
- SALOMÓN, H. 1896. Über das Spirillum des Säugetiermagens und sein Verhalten zu den Belegzellen. *Zentralbl. Bakteriol.* 19: 433-441. Citado por FOX, J. 1997. *Helicobacter*-associated gastric disease in ferrets, dogs and cats. *In: Kirk R. (ed): Current Veterinary Therapy XII*. Philadelphia. WB Saunders. Pp. 720-723.
- SIMPSON, K. 1997. *Helicobacter spp.* in dogs and cats. *In: The North American Veterinary Conference. Proceedings*. Orlando - USA. Pp. 218-219.
- SIMPSON, K. 1998. *Helicobacter* Infection in dogs and cats - Is it a Disease? *In: Proceedings XXIII Congress of the World Small Animal Veterinary Association*. Buenos Aires, Argentina. Pp. 399-401.
- SMOOT, D. 1996. Microbiology and Epidemiology of *H. pylori* Infection. *Drug Benefit Trends* 8(8): 10-15.
- SOLNICK, J. 2003. Clinical significance of *Helicobacter* species other than *H. pylori*. *Clin Infect Dis* 36:349-354.
- SOLNICK ET AL 2005.
- STRAUSS-AYALI, D.; SIMPSON, K. 1999. Gastric *Helicobacter* infection in Dogs. *Vet. Clin. North Am.* 29(2): 397-414.
- SUTTON, F. 1998. Diagnosis of *H. pylori* Infection. *Infect. Med.* 15(5): 331-336.
- THOMAS, J.; GIBSON, G.; DARBOE, M.; DALE, A.; WEAVER, L. 1992. Isolation of *Helicobacter pylori* from human faeces. *Lancet*. 340: 1194-1195.
- TINDBERG Y, BENGTTSSON C, GRANATH F, BLENNOW M, NYREN O, GRANSTROM M. 2001. *Helicobacter pylori* infection in Swedish school children: lack of evidence of child-to-child transmission outside the family. *Gastroenterol.* 121(2):310-316.
- TOMB, J.; WHITE, O.; KERLAVAGE, A.; CLAYTON, R.; SUTTON, G.; FLEICHMANN, R.; KETCHUM, K.; KLENK, H.; GILL, S.; DOUGHERTY, B.; NELSON, K.; QUACKENBUSH, J.; ZHOU, L.; KIRKNESS, E.; PETERSON, S.; LOFTUS, B.; RICHARDSON, D.;

- DODSON, R.; KHALAK, H.; GLODEK, A.; MCKENNEY, K.; FIZEGERALD, L.; LEE, N.; ADAMS, M.; VENTER, J. 1997. The complete genome sequence of the gastric pathogen *H. pylori*. *Nature*. 388: 539-547.
- TREBESIU, K.; ADLER, K.; VIETH, M.; STOLTE M.; HAAS, R. 2001. Specific Detection and Prevalence of *Helicobacter heilmannii*-like organisms in the human gastric mucosa by fluorescent in situ hybridization and partial 16S ribosomal DNA sequencing. *Journal of Clinical Microbiology* 39(4): 1510-1516.
- TWEDT, D. 1996. *Helicobacter* associated gastritis. In: The North American Veterinary Conference. Proceedings. Orlando – USA. P. 207-208.
- VALDÉS, A. 2007. Detección de *Helicobacter spp.* y descripción de las lesiones gástricas asociadas en caninos. Tesis para optar al Grado de Magíster en Ciencias Animales y Veterinarias, Mención Patología Animal. Universidad de Chile. 107 pp.
- WESTBLOM, T. y BHATT, B. 1999. Diagnosis of *Helicobacter pylori* infection. In: "Currents Topics in Microbiology and Immunology. N° 241" Gastrointestinal Disease and *Helicobacter pylori*: Pathophysiology, Diagnosis and Treatment. Eds. Westblom, Czinn, Nedrud. Springer. R.W Compans, Atlanta/Georgia. Pp. 215-236.
- YAMASAKI, K.; SUEMATSU, H.; TAKAHASHI, T. 1998. Comparison of gastric lesions in dogs and cats with and without gastric spiral organisms. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 212: 529-533.
- YANG, H.; LI, X.; XU, Z.; ZHOU, D. 1995. "Helicobacter heilmannii" infection in a patient with gastric cancer. *Dig. Dis Sci.* 40: 1013-1014. Citado por De Groote, D.; Van Doorn, L.; Van den Bulck; K.; Vandamme, P.; Vieth, M.; Stolte, M.; Debongnie, J.; Burette, A.; Haesebrouck, F.; Ducatelle, R. 2005. Detection of Non-pylori *Helicobacter* species in "Helicobacter heilmannii"-Infected humans. *Helicobacter* 10(5): 398-406.