

## Helicobacteriosis canina y felina

### Canine and feline helicobacteriosis

Leonardo F. Gómez G.\* Sonia Orozco P.\* Sergio A. Salas S.\*\*

---

#### Abstract

*Helicobacter* spp organisms are frequently observed in the stomach of cats and dogs but the relationship between these microorganisms and gastric pathology is not clearly understood, differing from human gastric disease where *Helicobacter pylori* is of great importance. *Helicobacter* spp can be found in all gastric regions, although with less frequency and number in the antrum. The presence of multiple species of this organisms have been demonstrated in the stomachs of cats and dogs, they may have a different role in the pathogenesis of gastric disease. There is no relation between colonization density and the severity of mucosal inflammation or the number of lymphoid follicles observed in dogs; however, in cats, gastric helicobacter was associated with changes comparable to those of chronic gastritis. This article focuses on the aspects of epidemiology, transmission, pathogenicity, public health issues, diagnostic methods and different types of therapy for eradication of canine and feline gastric helicobacteria.

**Key words: BACTERIA, HELICOBACTER SPP, STOMACH, GASTRITIS.**

#### Resumen

Los organismos *Helicobacter* spp son observados con frecuencia en el estómago de gatos y de perros, la relación entre estos microorganismos y la patología gástrica aún no ha sido claramente comprendida, difiriendo de la enfermedad gástrica humana donde el *Helicobacter pylori* es de gran importancia. *Helicobacter* spp se puede encontrar en todas las regiones gástricas, aunque con menos frecuencia y número en el antro. La presencia de múltiples especies de estos organismos se ha demostrado en los estómagos de gatos y los perros, donde pueden desempeñar diferentes funciones en la patogenia de la enfermedad gástrica. No hay relación entre la densidad de la colonización y la severidad de la inflamación de la mucosa o el número de los folículos linfoides observados en perros, no obstante en gatos, el helicobacter gástrico fue asociado a los cambios comparables a los de la gastritis crónica. Esta revisión bibliográfica contempla los aspectos importantes y de actualidad de la prevalencia, patogenia, vías de transmisión, aspectos relacionados con la salud pública, métodos diagnósticos y tratamientos de la helicobacteriosis canina y felina.

**Palabras clave: BACTERIA, HELICOBACTER SPP, ESTÓMAGO, GASTRITIS.**

---

Recibido el 16 de marzo de 2005 y aceptado el 22 de septiembre de 2005.

\*Grupo de Investigación Centauro, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad de Antioquia, A. A., 1226, Medellín, Colombia.

\*\*Centro Medico Veterinario Santa Mónica, Calle 35 núm. 91 B 05, Medellín, Colombia.

## Introduction

**H***elicobacter* spp is gram-negative, spiral-shaped, microaerophilic, motile and curved,<sup>1-3</sup> bacterium, widespread in the animal kingdom, with 24 species divided between gastric and enteric (gastrointestinal, intestinal, hepatic and biliary).<sup>4</sup> This bacterium have been isolated in cats, dogs, rats, pigs and cows.<sup>5</sup> The intention of this bibliographical review is to show how *Helicobacter* spp acts in upper gastrointestinal disease of dogs and cats, the diagnostic methods and indicated treatments, in addition to the bacterium's relevance to public health.

Dogs and cats can be naturally colonized with different *Helicobacter* spp. The species *H. felis*, *H. bizzozeronii*,<sup>1,3,6</sup> *H. salomonis*,<sup>7-9</sup> *Flexispira rapini*<sup>2,6</sup> and *H. bilis*,<sup>6</sup> have been isolated from canine stomachs, all urease and catalase positive, similar in length and thickness;<sup>10-12</sup> of which the first three can be cultured.<sup>13</sup> The species that affect cat stomachs are *H. felis*,<sup>14</sup> and *H. heilmannii*<sup>10,15,16</sup> and *H. bizzozeronii*.<sup>17</sup> Infections of two or more species of *Helicobacter* are frequently found in dogs<sup>8,13,18</sup> and in cats.<sup>19-21</sup>

The species found in dogs are *H. fennelliae*, *H. cinaedi*, *H. canis* and *H. bilis*, isolated from feces and from the intestine; the last two have also been isolated from the liver;<sup>5,6</sup> some species are urease positive.<sup>5</sup> The pathogenicity of these species is not known, but a report exists of multifocal necrotizing hepatitis in a two month old pup with gastrointestinal disease, this was the first registered case of canine hepatitis caused by *H. canis*.<sup>22,23</sup>

## Prevalence

The gastric *Helicobacter* spp are found in dogs, they have been found from 61% to 82% in dogs with vomit, from 67% to 87% in clinically healthy dogs; in dogs from laboratories or shelters the frequency has come to be nearly 100%.<sup>11,12,24</sup> Other studies have shown a prevalence of 100% in healthy dogs and of 95% in dogs with upper digestive diseases, this suggesting a higher frequency in healthy dogs than in those that show disease of the upper gastrointestinal tract.<sup>2</sup> The majority of authors describe *H. felis* as the most common species in dogs and cats.<sup>2,8,24</sup> The prevalence of *Helicobacter* spp in healthy cats is 41% to 100%, and 56% to 76% in affected cats.<sup>2</sup>

The prevalence rate varies between studies, depending on the area and size of the biopsy, the previous use of medication, and the geographical origin of the patients. No gender association exists in dogs, nor correlation between the density level of bacterial colonization and age, in contrast to cats

## Introducción

**E**l *Helicobacter* spp es una bacteria gramnegativa, espiralada, microaerófila, móvil y curva,<sup>1-3</sup> la cual está ampliamente difundida en el reino animal, con 24 especies que se dividen en gástricas y en entéricas (gastrointestinal, intestinales, hepáticas y biliares).<sup>4</sup> Esta bacteria se ha aislado en gatos, perros, ratones, cerdos y vacas.<sup>5</sup> Por tanto, con esta revisión bibliográfica se pretende mostrar cómo actúa *Helicobacter* spp en la enfermedad gastrointestinal superior de perros y gatos, los métodos diagnósticos y tratamientos indicados, además de la relevancia en la salud pública.

Los gatos y perros pueden ser colonizados naturalmente con diferentes especies de *Helicobacter* spp. De los estómagos caninos se han aislado *H. felis*, *H. bizzozeronii*,<sup>1,3,6</sup> *H. salomonis*,<sup>7-9</sup> *Flexispira rapini*<sup>2,6</sup> y *H. bilis*,<sup>6</sup> todos ureasa y catalasa positivos, similares en longitud y grosor;<sup>10-12</sup> de los cuales los tres primeros son cultivables.<sup>13</sup> Las especies que afectan a los estómagos de los gatos son *H. felis*,<sup>14</sup> y *H. heilmannii*<sup>10,15,16</sup> y *H. bizzozeronii*.<sup>17</sup> Es frecuente encontrar infecciones de dos o más especies de *Helicobacter* en los perros<sup>8,13,18</sup> y en gatos.<sup>19-21</sup>

Las especies encontradas en perros son *H. fennelliae*, *H. cinaedi*, *H. canis* y *H. bilis* aisladas de materia fecal y del intestino; las dos últimas también han sido aisladas del hígado,<sup>5,6</sup> algunas especies son ureasa positivas.<sup>5</sup> No se conoce la patogenicidad de estas especies, pero existe un informe de hepatitis multifocal necrotizante en un cachorro de dos meses de edad, con enfermedad gastrointestinal, éste ha sido el primer caso registrado de hepatitis en caninos causada por *H. canis*.<sup>22,23</sup>

## Prevalencia

Los *Helicobacter* spp gástricos son hallados en perros, se han encontrado de 61% a 82% en perros con vómito, de 67% a 87% en perros clínicamente sanos; en perros de laboratorio y de albergues la frecuencia ha llegado a ser hasta de 100%.<sup>11,12,24</sup> Otros estudios han informado una prevalencia de 100% en perros saludables y de 95% en perros con enfermedad digestiva superior, sugiriendo esto que pueden ser más frecuentes en perros sanos que en los que presentan enfermedad del tracto gastrointestinal superior.<sup>2</sup> La mayoría de autores describen *H. felis* como la especie más frecuente en perros y gatos.<sup>2,8,24</sup> La prevalencia de *Helicobacter* spp en gatos sanos es de 41% a 100% y de 56% a 76% en gatos afectados.<sup>2</sup>

Los porcentajes de prevalencia varían entre estudios, dependiendo del sitio y tamaño de la biopsia, del uso previo de medicamentos y también puede

where the bacteria is more common in adult animals than in kittens.<sup>2</sup>

## **Pathogenesis**

The function of *Helicobacter* spp in the pathology of gastric disease in dogs<sup>10,18,25</sup> and cats is still questioned,<sup>6,11,13</sup> due to the lack of obvious clinical signs in infected dogs<sup>6,25</sup> and cats, differing in what happens in humans infected with *Helicobacter pylori*, where strong evidence exists implicating it in chronic gastritis, ulcers and gastric neoplasm's. Part of the pathogenesis still lacks explanation, for which scientists should adopt various animal species as models to study the interaction of the host, immune system and the disease process generated by this bacterium.<sup>19</sup> *H. felis* has been used the most to study helicobacteriosis, with the goal of improving and creating new treatment alternatives.<sup>14,28,29</sup>

The *Helicobacter* spp that affect canines and felines are found in all regions of the stomach, but in higher quantities in the *corpus* and *fundus*.<sup>2,15</sup> A sample of the *fundus*, *corpus* or *cardia* should be sufficient to demonstrate the presence of these bacteria.<sup>15</sup> The species of bacteria that affect dogs and cats apparently have a preference for parietal cells, which are only found in small quantities in the *antrum* (Figure 1), possibly being the explanation for why *Helicobacter* spp are found in higher quantities in other regions.<sup>2</sup> The bacteria adheres to the mucus surface of the gastric crypts, deep gastric glands and in the parietal cells;<sup>2,11</sup> however, in humans, they do not affect the parietal cells or the deep gastric glands, their location is more superficial and primarily affects the *antrum*.<sup>2</sup>

The presence of various species of *Helicobacter* spp can have different roles in the pathogenesis of canine and feline gastritis.<sup>13</sup> One assumes that these bacteria can induce gastritis, cause histological changes like inflammation of the gastric mucosa, formation of lymphoid follicles, and degeneration of gastric glands and parietal cells. These changes in the presence of *Helicobacter* spp have been assumed to be indicators of the pathogenicity.<sup>2</sup> The enteric *Helicobacter* spp can sometimes be found in the stomach, but limited to the region where acid is not secreted, unlike the gastric species.<sup>5</sup>

The ability of *Helicobacter* spp to colonize the stomach is based on the gene that expresses the urease function,<sup>5</sup> possessed by the gastric species, which gives them the ability to hydrolyse the urea to ammonium, elevating the gastric pH to a level where the bacteria can survive.<sup>2</sup> It is probable that their survival in an acid pH is due to a mutation produced by those selective pressures, given that gastric species having a greater mutation rate than the enteric.<sup>5</sup> It

variar de acuerdo con la procedencia geográfica de los pacientes. No existe asociación por género en los perros, ni correlación del grado de densidad de colonización con la edad, a diferencia de los gatos, en los que es más frecuente esta bacteria en animales adultos que en cachorros.<sup>2</sup>

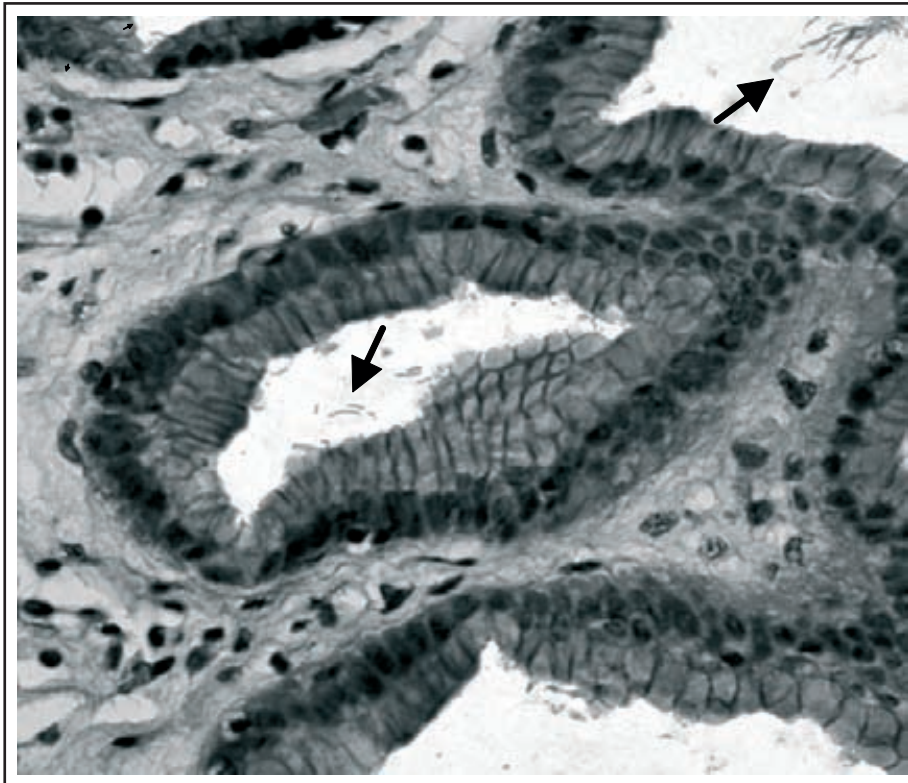
## **Patogenia**

La función del *Helicobacter* spp en la patogenia de la enfermedad gástrica en perros<sup>10,18,25</sup> y gatos aún es cuestionada,<sup>6,11,13</sup> debido a la falta de signos clínicos obvios en perros<sup>6,25</sup> y gatos infectados,<sup>26</sup> a diferencia de lo que ocurre en los humanos infectados con *Helicobacter pylori*, en quienes existe fuerte evidencia de su implicación en la gastritis crónica, úlceras y neoplasias gástricas.<sup>10,19,27</sup> Aún falta por dilucidar parte de la patogenia, para lo cual los científicos deberán adoptar a varias especies animales como modelos para estudiar la interacción del portador, respuesta inmune y el proceso de enfermedad que genera esta bacteria.<sup>19</sup> El *H. felis* ha sido el más utilizado para estudiar la helicobacteriosis, con el fin de mejorar y crear nuevas alternativas en el tratamiento.<sup>14,28,29</sup>

Los *Helicobacter* spp que afectan a los caninos y felinos se encuentran en todas las regiones del estómago, pero en mayor cantidad en el cuerpo y *fundus*.<sup>2,15</sup> Una muestra del *fundus*, cuerpo o *cardias*, podrá ser suficiente para demostrar la presencia de esta bacteria.<sup>15</sup> Las especies de la bacteria que afectan a perros y gatos aparentemente tienen mayor afinidad por las células parietales, las cuales están en poca cantidad en el antro (Figura 1), pudiendo ser ésta la explicación del porqué se encuentra *Helicobacter* spp en mayor cantidad en las demás regiones.<sup>2</sup> La bacteria se adhiere a la superficie de la mucosa de las criptas gástricas, glándulas gástricas profundas y en las células parietales;<sup>2,11</sup> en los humanos, en cambio, no afectan las células parietales ni las glándulas gástricas profundas, su localización es más superficial y afecta principalmente al antro.<sup>2</sup>

La presencia de varias especies de *Helicobacter* spp puede tener diferentes roles en la patogenia de la gastritis canina y felina.<sup>13</sup> Se supone que estas bacterias pueden inducir gastritis, que provocan cambios histológicos como inflamación de la mucosa gástrica, formación de folículos linfoides, degeneración de glándulas gástricas y células parietales. Estos cambios por la presencia de *Helicobacter* spp se han asumido como indicadores de la patogenicidad.<sup>2</sup> Los *Helicobacter* spp entéricos ocasionalmente se pueden hallar en el estómago, pero limitados a la región donde no se secreta ácido, a diferencia de las especies gástricas.<sup>5</sup>

La habilidad del *Helicobacter* spp para colonizar el



**Figura 1.** Fragmento de biopsia gástrica canina de región antral, con tinción de hematoxilina eosina, donde se observa en el moco de superficie (flechas negras) abundantes formas de bacilos espiralados grandes.

**Figure 1.** Fragment of canine gastric biopsy of the antral region, stained with hematoxylin-eosin, where on the mucosal surface abundant large spiral bacilli forms are visualized (black arrows).

has also been demonstrated that the mobility of the flagella is highly implicated in the capacity to colonize the gastric mucosa.<sup>28</sup>

The pathogenicity of *H. pylori* is determined by factors of maintenance and virulence, which can be extrapolated to the species which affect pets. The motility, adhesion to the gastric mucosa and the production of urease constitute some of the maintenance factors which allow the organism to colonize and remain. The virulence factors of each species of *Helicobacter* spp determine the level of gastric inflammation, dysfunction of the mucosa barrier and alteration of the gastric physiology,<sup>2,30</sup> just like the immune response.<sup>31</sup> Recently plasmids have been detected in *H. felis*, which in other bacteria support virulence and antibiotic resistance, but no particular function has yet been attributed in this organism.<sup>32</sup>

The type of inflammation observed as a response to *Helicobacter* spp infection in dogs is much less severe than that associated with chronic gastritis caused by *Helicobacter pylori* in humans, where neutrophilic and eosinophilic infiltrates are predominant.<sup>12</sup> In dogs it has been determined that the most common histological change is the presence of lymphocytic infiltration, lymphoid follicles and fibrosis from lamina propria (Figure 2); also found in smaller quantities are ulcerating or erosive lesions; hereby a relationship is established between helicobacteriosis and the mentioned changes.<sup>33</sup> Lymphocyte, plasmatic

estómago está basada en el gen que expresa la función de la ureasa,<sup>5</sup> y que poseen las especies gástricas, lo que permite que éstas puedan hidrolizar la urea a amonio, elevando el pH gástrico a un nivel donde las bacterias pueden sobrevivir.<sup>2</sup> Es probable que la supervivencia en un pH ácido se deba a una mutación producida por las presiones selectivas, teniendo las especies gástricas una mayor tasa de mutación que las entéricas.<sup>5</sup> También se ha demostrado que la motilidad de los flagelos está altamente implicada en la capacidad para la colonización de la mucosa gástrica.<sup>28</sup>

La patogenicidad del *H. pylori* está determinada por factores de mantenimiento y de virulencia, los cuales se extrapolan a las especies que afectan a las mascotas. La motilidad, adhesión a la mucosa gástrica y la producción de ureasa, constituyen parte de los factores de mantenimiento que permiten que el organismo colonice y permanezca. Los factores de virulencia de cada especie de *Helicobacter* spp determinan el grado de inflamación gástrica, disfunción de la barrera mucosa y alteración de la fisiología gástrica,<sup>2,30</sup> aún como la respuesta inmune.<sup>31</sup> Recientemente se han detectado plásmidos en el *H. felis*, que en otras bacterias coadyuvan en la virulencia y resistencia antibiótica, pero hasta el momento no se les ha atribuido ninguna función en este organismo.<sup>32</sup>

El tipo de inflamación observada como respuesta a la infección de *Helicobacter* spp en perros es mucho

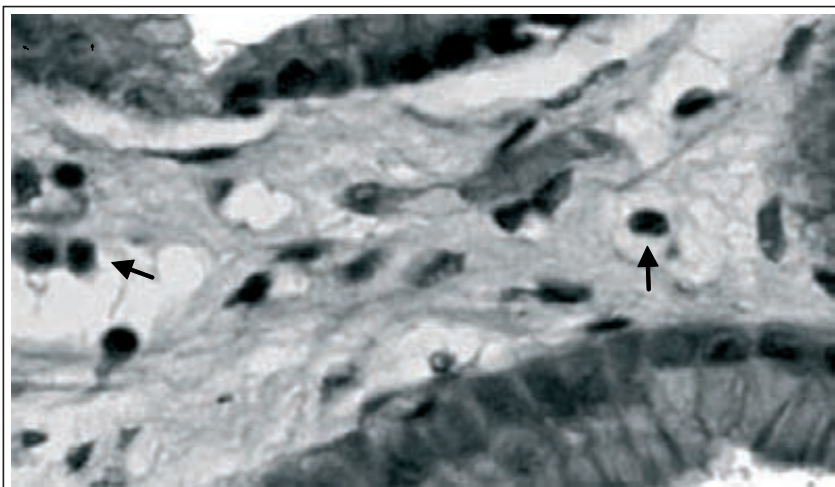
cells and lymphocytes aggregates can be found in all of the regions,<sup>15,34</sup> but the prevalence of these is higher in dogs with upper gastrointestinal signs than in healthy dogs.<sup>2</sup> Another investigation describes the presentation of atrophic gastritis with a drop in the number of parietal and zymogenic cells, increase in the connective tissue accompanied by diffuse lymphocytic or plasmatic infiltration.<sup>34</sup> No correlation has been found between the level of bacterial colonization and the severity level of histopathological changes.<sup>6,35</sup>

The lesions caused by *H. felis* in cats are lymphoid follicular hyperplasia, atrophy and fibrosis in the pylorus, in addition to a moderate mononuclear infiltration, pangastric inflammation and eosinophilic infiltrates in the cardia, but the axis of the gastric secretion does not change.<sup>36</sup> Additionally, in recent experiments with laboratory rats, the colonization and inflammation generated by *H. felis* increases gastric permeability, which helps perpetuate the inflammation after the bacteria are eradicated.<sup>37</sup> The *H. felis* in cats shows a constant pathogenicity, which is related to its properties of adhesion to epithelial cells, which permits its intercellular penetration, and which is responsible for the necrosis that provokes glandular atrophy.<sup>3</sup> Although for other authors, *H. felis* does not adhere to the gastric mucosa but maintains a narrow proximity, presumably for its active motility.<sup>2</sup> In contrast, *H. bizzozeronii* apparently is not as pathogenic as is *H. felis*, now that it does not affect the integrity of the glandular epithelium, in spite of the high bacterial load that can extend itself to the lumen of the *antrum* glands, and increases the intraepithelial lymphoid infiltration.<sup>3</sup> This shows that there exists differences in the severity of gastritis in cats, according to the species of *Helicobacter* spp involved.<sup>20</sup>

In cats affected with *H. heilmannii* there is slight inflammation with mononuclear cells,<sup>20</sup> unlike those infected with *H. pylori*, in which there can be appreciated severe lymphoid follicular hyperplasia,

menos severa que la asociada con gastritis crónica por *Helicobacter pylori* en humanos, en donde el infiltrado neutrofílico y eosinofílico es predominante.<sup>12</sup> En perros se ha determinado que el cambio histológico más frecuente es la presencia de infiltrados linfocíticos, folículos linfoides y fibrosis de la lámina propia (Figura 2); en menor cantidad se encuentran también, lesiones ulcerativas o erosivas; se establece así una relación entre la helicobacteriosis y los cambios mencionados.<sup>33</sup> Linfocitos, células plasmáticas y agregados de linfocitos pueden encontrarse en todas las regiones,<sup>15,34</sup> pero la prevalencia de éstos es más alta en perros con signos gastrointestinales superiores, que en perros sanos.<sup>2</sup> Otro informe de investigación describe la presentación de una gastritis atrófica con disminución del número de las células parietales y cimogénicas, incremento del tejido conectivo acompañado de infiltración difusa linfocitaria o plasmocitaria.<sup>34</sup> No se ha encontrado correlación entre el grado de colonización de la bacteria y el grado de severidad de los cambios histopatológicos.<sup>6,35</sup>

Las lesiones que causan *H. felis* en gatos son hiperplasia linfoide folicular, atrofia y fibrosis en el píloro, además de una moderada infiltración mononuclear, inflamación pangástrica e infiltrados eosinofílicos en el cardias, pero el eje de secreción gástrica no se altera.<sup>36</sup> Además, en investigaciones recientes en ratones experimentales, la colonización e inflamación generados por *H. felis* incrementa la permeabilidad gástrica, lo cual contribuye a la perpetuación de la inflamación después de la erradicación bacteriana.<sup>37</sup> El *H. felis* en gatos demuestra una constante patogenicidad, la cual está relacionada con sus propiedades de adhesión a las células epiteliales, lo que permite su penetración intracelular, que es responsable de la necrosis que provoca atrofia glandular.<sup>3</sup> Aunque para otros autores, *H. felis* no se adhiere a la mucosa gástrica, pero



**Figura 2.** Acercamiento del infiltrado linfoplasmocitario en la lamina propia del estómago (flechas negras), coloración hematoxilina-eosina.

**Figure 2.** Close-up of the lymphoplasmacytic aggregates in the lamina propria of the stomach (black arrows), hematoxylin-eosin stain.

light to moderate mononuclear inflammation accompanied by neutrophils and eosinophils in the gastric *antrum*, *cardia* and *corpus* moderately affected,<sup>19,20,35</sup> and with the pylorus highly altered.<sup>35</sup> The changes are similar to the lesions found in children, but with the significant difference being that there are no gastric ulcers.<sup>19</sup> The development of lymphoid hyperplasia and follicles suggest a folliculogenesis phase; these centres are mitotically active and predispose the development of gastric neoplasia. Because the changes and lesions that are generated are similar to those presented in humans and the finding of *H. pylori* in naturally infected cats, it has been established that the best animal model to study the host-pathogen interaction is the feline, and later transpose this knowledge to explain the complex and multifactorial human helicobacteriosis.<sup>19</sup>

The *Helicobacter felis* has been extensively used in investigations in animal models, to understand infections of *Helicobacter pylori*;<sup>28,29</sup> gnotobiotic pigs, non-human primates, cats, dogs, mice, rats, guinea pigs and gerbils have been used.<sup>19,29</sup> Each one of these model animals has advantages and disadvantages in the study of the pathogenesis.<sup>29</sup> In spite of the extensive studies conducted on the different animal models, the correlation between the immunity of the host, the virulence of the pathogen, and the expression of the disease remain a mystery.<sup>19</sup> In the long term, it is not known the course and consequences of canine and feline helicobacteriosis.<sup>2</sup>

There has been demonstrated an increase in gastric pH after an infection, unlike human studies which indicate that the *H. pylori* infection is related to the increase of gastric acid secretion. The effect of *H. felis* on the axis of gastric secretion in dogs still has not been fully studied.<sup>11</sup> Severe gastritis can decrease acid secretion, and, as a consequence, decrease the number of bacteria. To verify this hypothesis it seems that tests to measure the gastric pH should be included in future work.<sup>2</sup>

### **Transmission pathways**

The transmission pathway of gastric *Helicobacter* spp in animals is unknown.<sup>2</sup> The transmission pathways proposed so far are oro-fecal and oro-oral,<sup>6,25</sup> which makes the habit of licking and sniffing the genital area the most common form of infection, re-infection and transmission. Therefore, the dogs that have narrow coexistence with others, have a higher probability of infection.<sup>2,25</sup> It has also been described transmission during the lactation period, infecting the pups at an early age, after which the disease can spread among them.<sup>2,6</sup>

mantiene una estrecha proximidad, presumiblemente por su activa motilidad.<sup>2</sup> En contraste, el *H. bizzozeronii* aparentemente no es tan patógeno como lo es el *H. felis*, ya que no afecta la integridad del epitelio glandular, a pesar de la alta carga bacteriana que puede extenderse al lumen de las glándulas antrales, y aumenta el infiltrado linfoide intraepitelial.<sup>3</sup> Esto demuestra que existen diferencias en la severidad de la gastritis en gatos, según la especie de *Helicobacter* spp involucrada.<sup>20</sup>

En gatos afectados con *H. heilmannii* se presenta ligera inflamación por células mononucleares,<sup>20</sup> a diferencia de los infectados con *H. pylori*, en los que se aprecia hiperplasia linfoide folicular severa, ligera a moderada inflamación mononuclear acompañada de neutrófilos y eosinófilos en el antro gástrico, *cardias* y cuerpo moderadamente afectados,<sup>19,20,35</sup> y el píloro muy alterado.<sup>35</sup> Los cambios son similares a las lesiones halladas en niños, pero con la diferencia significativa de que no hay úlceras gástricas.<sup>19</sup> El desarrollo de hiperplasia linfoide y folículos sugiere una fase de foliculogénesis; estos centros son mitóticamente activos y predisponen al desarrollo de neoplasias gástricas. Debido a que los cambios y lesiones que se generan son similares a los presentados en humanos y al hallazgo de *H. pylori* en gatos naturalmente infectados, se ha establecido que el mejor modelo animal para estudiar la interacción huésped-patógeno es el felino, y luego trasplantar estos conocimientos en dilucidar lo complejo y multifactorial de la helicobacteriosis humana.<sup>19</sup>

El *Helicobacter felis* se ha usado extensamente en investigaciones en modelos animales, para entender las infecciones con *Helicobacter pylori*;<sup>28,29</sup> se han utilizado cerdos gnotobióticos, primates no humanos, gatos, perros, ratas, ratones, curies y gerbos.<sup>19,29</sup> Cada uno de estos modelos animales tiene ventajas y desventajas en el estudio de la patogenia.<sup>29</sup> A pesar de los extensos estudios realizados en los diferentes modelos animales, queda fuera del alcance entender la correlación entre la inmunidad del portador, los factores de virulencia del patógeno y la expresión de la enfermedad.<sup>19</sup> Por lo tanto, se desconoce el curso y las consecuencias de la helicobacteriosis canina y felina.<sup>2</sup>

Se ha demostrado un aumento del pH gástrico después de la infección, a diferencia de estudios en humanos que indican que la infección con *H. pylori* está relacionada con el incremento de la secreción ácida gástrica. Pero aún no se ha estudiado a fondo el efecto de *H. felis* sobre el eje de secreción gástrica en perros.<sup>11</sup> La gastritis severa puede llegar a disminuir la secreción ácida, y, por consecuencia, disminuir el número de bacterias. Para la comprobación de esta hipótesis parece indicado incluir la medición del pH gástrico en futuros trabajos.<sup>2</sup>

## Public health

The *Helicobacter* spp that affect dogs and cats are a zoonotic risk<sup>9,10,30</sup> because *H. pylori* has been isolated from the stomach of cats, both experimental<sup>6,10</sup> and naturally infected.<sup>19</sup> It has been postulated that these are a potential source for human transmission, or as an antropozoonosis.<sup>6,10</sup> It has also been suggested that cats and dogs act as reservoirs in the transmission of *Helicobacter heilmannii* to humans.<sup>17</sup> Articles exist regarding the isolation of *H. heilmannii* in the gastric mucosa of humans with slight gastritis, which has been the only pathogen isolated.<sup>6,38</sup> In a recent human study, it was found that a greater disposition to the formation of lymphoid tissue associated with lymphoma exists with *H. heilmannii* than with *H. pylori*.<sup>39</sup> Several epidemiological studies have shown a higher incidence of *H. heilmannii* in humans that have been in contact with dogs, cats and pigs.<sup>40</sup>

It has not been found that dogs are naturally colonized with *Helicobacter pylori*;<sup>6</sup> however these bacteria have been able to colonize gnotobiotic dogs used as experimental models.<sup>2</sup>

## Diagnostic methods

The diagnostic methods used for *Helicobacter* spp can be invasive and non-invasive.<sup>2,6</sup> The invasive, like cultures, histopathology, imprints, urease test in biopsies, electron microscopy, PCR and brush cytology, require a gastric biopsy, which is taken by endoscopy under anesthesia.<sup>2,6,19</sup> Non-invasive methods like serology, urease breath test (UBT),<sup>2,6</sup> detection of bacterial DNA and antigens in stool,<sup>2</sup> do not require a gastric biopsy or anesthesia, but they are more expensive.<sup>6</sup> The *Helicobacter* spp can be visualized directly by brush cytology, histopathology, electron microscopy and in cultured samples. The presence of the organism can be shown indirectly through urease tests, serology, and by UBT. For epidemiological studies in humans serology and UBT are used, which provide treatment monitoring of *Helicobacter pylori*. The method used is determining for the finding of the bacteria, the use of more than one diagnostic method increases the sensitivity in the detection.<sup>25</sup> In animals, the PCR, the serological tests and UBT are not used routinely until date.

## Invasive methods

### Brush cytology

This method consists of scattering gastric mucosa on a slide, where a Romanovsky stain is used if a rapid result is necessary;<sup>2</sup> the May-Grunwald-Giemsa stain

## Vías de transmisión

Se desconoce la ruta de transmisión de *Helicobacter* spp gástricos en animales.<sup>2</sup> Las vías de transmisión postuladas hasta el momento son la oro-fecal y la oro-oral.<sup>6,25</sup> lo que convierte el hábito de lamerse y olfatearse los genitales, en la forma más común de infección, reinfección y transmisión. Por consiguiente, los perros que tienen estrecha convivencia con otros, tienen mayor probabilidad de infectarse.<sup>2,25</sup> También se ha descrito la transmisión en el periodo de lactancia en hembras paridas,<sup>2</sup> que infectan a los cachorros a una edad temprana, lo que hace que también se pueda presentar transmisión de la bacteria entre ellos mismos.<sup>2,6</sup>

## Salud pública

Los *Helicobacter* spp que afectan a perros y gatos son un riesgo zoonótico<sup>9,10,30</sup> debido a que se ha aislado *H. pylori* del estómago de gatos, experimental<sup>6,10</sup> y naturalmente infectados.<sup>19</sup> Se ha postulado que éstos son una fuente potencial para la transmisión en humanos o que es una antropozoonosis.<sup>6,10</sup> También se ha sugerido que los gatos y los perros actúan como reservorio en la transmisión de *Helicobacter heilmannii* a humanos.<sup>17</sup> Existen artículos sobre el aislamiento de *H. heilmannii* de mucosa gástrica en humanos con gastritis leve, el cual ha sido el único patógeno aislado.<sup>6,38</sup> En un estudio reciente realizado en humanos, se encontró que existe mayor predisposición a la formación de tejido linfóide asociado a linfoma con *H. heilmannii* que con *H. pylori*.<sup>39</sup> Varios estudios epidemiológicos han demostrado un incremento en la incidencia de *H. heilmannii* en humanos que han estado en contacto con perros, gatos y cerdos.<sup>40</sup>

No se ha encontrado que los perros sean colonizados naturalmente con *Helicobacter pylori*;<sup>6</sup> sin embargo, esta bacteria ha sido capaz de colonizar perros gnotobióticos, usados como modelos experimentales.<sup>2</sup>

## Métodos diagnósticos

Los métodos diagnósticos para *Helicobacter* spp pueden ser invasivos y no invasivos.<sup>2,6</sup> Los invasivos, como los cultivos, histopatologías, improntas, prueba ureasa en biopsias, microscopía electrónica, PCR y citología por cepillo, requieren de biopsia gástrica, la cual se toma por endoscopia y bajo anestesia.<sup>2,6,19</sup> Los métodos no invasivos como la serología, prueba de urea en aliento (UBT),<sup>2,6</sup> detección de ADN bacteriano y antígenos en materia fecal,<sup>2</sup> no requieren de biopsia gástrica ni anestesia, pero sus costos son

is more commonly used,<sup>2,6</sup> and a gram or Diff Quick stain.<sup>6</sup> In a five year study Happonen concluded that it is the best diagnostic method because it is able to detect the bacteria, even in small quantities, in spite of having negative results from the urease and histopathology tests. Based on this, the sensitivity and specificity of the rest of the diagnostic tests has been determined.<sup>2,25</sup>

Occasionally it can present false positives due to the contamination of materials used obtaining the biopsy, which is why the use of glutaraldehyde disinfectant is recommended. Also, the mucus threads can come to resemble the bacteria, and cause an erroneous interpretation.<sup>2</sup>

### **Urease test in biopsies**

It is an easy, fast, and inexpensive test;<sup>2</sup> which consists of showing the presence of the urease enzyme,<sup>2,6,41</sup> placing the biopsy in an urea absorbing solution with red phenol, which serves as an indicator of pH; if the urease is present, the enzyme consumes the urea and the pH changes, which generates a change in the color of the solution. This test can be positive in a few hours<sup>6,11</sup> even though the time varies depending on the biopsy site and on the quantity of *Helicobacter* spp present.<sup>2</sup> It has been found that the positive percentage increases with time, especially when the number of bacteria is low; but even so it can give false negatives when the sample comes from the *antrum* and the bacteria are few. The false positives are rare, but they can be given after 12 to 18 hours and correspond to other urease producing organisms, such as *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas aeruginosa*.<sup>2</sup> The test was 100% accurate in biopsies of the body, 95% in biopsies of the *fundus*, and 62% in biopsies of the *antrum* of dogs.<sup>6</sup> The sensitivity of this test between 30-60 minutes is between 85.7% a 87.5% in dogs and 94% to 100% in cats, its specificity is 100% for both. The blood in the biopsies does not alter the result of the test.<sup>2</sup>

### **Histopathology**

Histopathology is an effective diagnostic method, as it permits the visualization of the bacteria and morphology of the gastric tissue. Stains like modified Steiner (MS),<sup>2,20,41</sup> Warthin Starry (WS),<sup>2,6,19</sup> and hematoxylin and eosin (HE).<sup>2,19,39</sup> Also used are the colorations of Giemsa, Genta, Alcian yellow, Toluidine blue, each with its advantages and disadvantages.<sup>2</sup> For Strauss-Ayali *et al.*,<sup>21</sup> the silver colorations like MS and WS are a big help in samples with a low number of bacteria. For Scanziani *et al.*, the stain with MS and the immunohistochemical are the most used methods

elevados.<sup>6</sup> Los *Helicobacters* spp pueden ser visualizados directamente mediante las técnicas de citología por cepillo, histopatología, microscopía electrónica y en muestras de cultivo. La presencia del organismo puede ser demostrada indirectamente mediante pruebas de ureasa, serología y por UBT. Para estudios epidemiológicos en humanos se usan la serología y UBT que dan seguimiento del tratamiento de *Helicobacter pylori*. El método usado es determinante para el hallazgo de la bacteria, el uso de más de un método diagnóstico incrementa la sensibilidad en la detección.<sup>25</sup> En animales, el PCR, los métodos serológicos y el UBT no se usan rutinariamente hasta la fecha.<sup>2</sup>

### **Métodos invasivos**

#### **Citología por cepillo**

Este método consiste en esparcir mucosa gástrica sobre un portaobjetos, al cual se le realiza la tinción de Romanovsky si se requiere un resultado rápido;<sup>2</sup> normalmente se emplea la tinción May-Grunwald-Giemsa,<sup>2,6</sup> gram o Diff Quick.<sup>6</sup> En un estudio realizado durante cinco años Happonen concluyó que es el mejor método diagnóstico, debido a que es capaz de detectar la bacteria, aun en bajas cantidades, a pesar de haber sido negativa la prueba de ureasa e histopatología. Basados en éste, se ha determinado la sensibilidad y especificidad de los demás métodos diagnósticos.<sup>2,25</sup>

Ocasionalmente se pueden presentar falsos positivos por la contaminación de los materiales usados en la obtención de la biopsia, por lo que se recomienda el uso del desinfectante glutaraldehído. Adicionalmente, los hilos de moco pueden llegar a semejar a la bacteria, y causar una interpretación errónea.<sup>2</sup>

#### **Prueba de ureasa en biopsias**

Es una prueba fácil, rápida y poco costosa;<sup>2</sup> consiste en demostrar la presencia de la enzima ureasa,<sup>2,6,41</sup> al colocar la biopsia en una solución amortiguadora de urea con rojo fenol, que sirve como indicador de pH; si la ureasa está presente, la enzima consume la urea y el pH cambia, lo que genera un cambio de color de la solución. Esta prueba puede ser positiva en pocas horas,<sup>6,11</sup> aunque el tiempo puede variar dependiendo del sitio de obtención de la biopsia<sup>6</sup> y por la cantidad de *Helicobacter* spp presentes.<sup>2</sup> Se ha detectado que el porcentaje de positividad aumenta con el tiempo, especialmente cuando el número de bacterias es bajo; pero aún se pueden dar falsos negativos cuando la muestra proviene del antro y las bacterias están en



in cats, especially when there are different species of bacteria present.<sup>20</sup> This method is not very effective with small amounts of *Helicobacter* spp, because the whole block of paraffin must be analyzed, which requires a lot of time making it impractical. The sensitivity of this technique in dogs registers at 92.3% and in cats 97.6%, with specificity of 100% for both species.<sup>2</sup>

It is not always possible to determine the species *Helicobacter* spp,<sup>13</sup> through histopathology, being more specific the use of DNA hybridization,<sup>11-13</sup> electron microscopy<sup>41,42</sup> and the determination of the 16s rARN9 sequence.<sup>39,43</sup> Scanziani *et al.*,<sup>20</sup> in samples with silver stain, differentiated *H. pylori* from *H. felis* and *H. heilmannii*, because the first appeared morphologically larger and more coiled.

In order to conduct an adequate histopathological study, it is necessary to obtain high quality biopsies, to avoid crushing or stretching of the sample, which would cause artifacts when processing the sample. To impede stretching, biopsies of adequate size and thickness should be obtained, by means of a suitable forceps. To prevent crushing, the over inflation of the stomach should be avoided, and in consequence, the gastric folds should be flattened, so very small and superficial samples are obtained.<sup>2</sup>

### **Electron microscopy (EM)**

This technique, in addition to detect the bacteria, permits the differentiation between species based on their morphology,<sup>2,6</sup> specifically in their size, number and location of spirals, presence of polar flagella and of periplasmic fibrils.<sup>2</sup> It is highly effective because it is based in ultra-structural characteristics,<sup>9,41,42</sup> but this is a complex and expensive technique restricting its use to investigations.<sup>6</sup> It is best to use this technique when the biopsies are urease positive and when there are a large number of bacteria present.<sup>2</sup>

### **Cultures**

Not all of the *Helicobacter* spp are culturable.<sup>13</sup> The culture of these bacteria is difficult and laborious; it is indispensable to use an adequate method of transport and a rapid process of the sample. The cultivatable species are *H. felis*, *H. bizzozeronii*, *H. salomonis*, the first of which is the easiest to cultivate. In spite of the complexity of this technique, it is appropriate for the isolation of these species.<sup>13</sup> The sensitivity of this technique is low (15.4% a 51.0%), compared with other diagnostic methods.<sup>6</sup> In an investigation done by Stoffel *et al.*,<sup>9</sup> the majority of the species of *Helicobacter* spp, upon cultivation lost their ultra-structural characteristics. In future investigations it is

bajo número. Los falsos positivos son raros, pero se pueden dar después de 12 a 18 horas y corresponden a otros organismos productores de ureasa, como *Proteus mirabilis*, *Pseudomona aeruginosa*.<sup>2</sup> La prueba resultó 100% específica en biopsias de cuerpo, 95% de fundus, 62% de antro en perros.<sup>6</sup> La sensibilidad de esta prueba a los 30-60 minutos es de 85.7% a 87.5% en perros y 94% a 100% en gatos, su especificidad es de 100% para ambos. La sangre en las biopsias no altera el resultado de la prueba.<sup>2</sup>

### **Histopatología**

La histopatología es un método diagnóstico efectivo, ya que permite la visualización de la bacteria y la morfología del tejido gástrico. Se emplean tinciones como Steiner modificado (MS),<sup>2,20,41</sup> Warthin Starry (WS)<sup>2,6,19</sup> y hematoxilina y eosina (HE).<sup>2,19,39</sup> También se usan las coloraciones de Giemsa, Genta, amarillo alciano, azul de toluidina, cada una con ventajas y desventajas.<sup>2</sup> Para Strauss-Ayali *et al.*,<sup>21</sup> las coloraciones de plata como MS y WS son de gran ayuda en muestras con bajo número de bacterias. Para Scanziani *et al.*, la tinción con MS y la inmunohistoquímica son los métodos más útiles en gatos, en especial cuando están presentes diferentes especies de la bacteria.<sup>20</sup> Este método es poco efectivo ante cargas bajas de *Helicobacter* spp, por lo que debe de evaluarse todo el bloque de parafina,<sup>25</sup> esto demanda mucho tiempo y lo hace poco práctico.<sup>2</sup> La sensibilidad de esta técnica en perros se registra en 92.3% y en gatos 97.6%, con especificidad de 100% para ambas especies.<sup>2</sup>

Mediante la histopatología no siempre es posible determinar la especie de *Helicobacter* spp,<sup>13</sup> ya que sigue siendo más específico el uso de la hibridación de ADN,<sup>11-13</sup> microscopía electrónica<sup>41,42</sup> y la determinación de la secuencia 16s rARN9.<sup>39,43</sup> Scanziani *et al.*,<sup>20</sup> en muestras con tinción de plata, diferenciaron *H. pylori* del *H. felis* y *H. heilmannii*, debido a que el primero se aprecia morfológicamente más grande y más enrollado.

Para realizar un estudio histopatológico adecuado, es necesario obtener biopsias de alta calidad, para evitar el aplastamiento o estiramiento de la muestra, lo que conllevaría a la formación de artefactos al procesarse la muestra. Para impedir el estiramiento, se deben obtener biopsias de tamaño y profundidad adecuadas, mediante el uso de un fórceps adecuado. Para prevenir el aplastamiento, se debe impedir la sobreinsuflación del estómago durante el procedimiento y, en consecuencia, que se aplanen los pliegues gástricos y se obtengan muestras muy pequeñas y superficiales.<sup>2</sup>

necessary to develop a method of genetic identification that does not require culture.<sup>8</sup>

## **Non-invasive methods**

### **Serological test**

These tests measure the circulating antibodies (IgG and IgA), they are precise, relatively fast, easy to perform and inexpensive. Different methods have been used such as bacterial agglutination, complement fixation, latex agglutination, passive hemoagglutination, ELISA and the immunoblot.<sup>2,6,44</sup> With the serologic methods one can not determine the species of *Helicobacter* spp present,<sup>20</sup> due to the antigen homology of the gender.<sup>12</sup> The ELISA method is the most popular, simple and easy to perform, for these reasons it is the best test to sample large populations for epidemiologic studies.<sup>44</sup> It has also been used to control the eradication of bacteria after treatment. Nevertheless, the selection of suitable antigens is essential for an accurate diagnosis.<sup>2</sup>

Commercial packages of ELISA for human use are available,<sup>12</sup> but not for animals;<sup>2</sup> the use of these packages in dogs showed a specificity similar to those used in humans; nevertheless, the sensitivity was less. The combination use of ELISA and immunoblot identifies 25.7% more infected dogs than ELISA alone. The level of seropositivity by ELISA is not related to the density of bacterial colonization, level of gastric inflammation or presence of lymphoid follicles.<sup>2,12</sup> Dogs with a high gastric colonization density frequently fail in seroconversion, since the factors which govern the immune response of gastric *Helicobacter* spp in dogs are still unknown.<sup>12</sup>

The development of a technique that detects the specific monoclonal antibodies of each *Helicobacter* species would be an important diagnostic tool for the differentiation between them.<sup>20</sup> Although much remains to investigate in this field, the serology is promising as a non-invasive diagnostic method in canines and felines.<sup>6</sup>

### **Urea breath test (UBT)**

This is the most convenient non-invasive test to evaluate the eradication and response to treatment in humans,<sup>6,25</sup> based on the urease activity of the bacteria. After withholding food nocturnally, basal breath samples are taken and afterwards radioactive urea is administered orally, which functions as a substrate. The exhaled breath is sampled after 30 minutes, and the levels of radioactivity are measured with a spectrometer. This test has the advantage of being able to immediately evaluate the effect of the

## **Microscopía electrónica (ME)**

Esta técnica, además de detectar la bacteria, permite diferenciar entre las diferentes especies basándose en su morfología,<sup>2,6</sup> específicamente en su tamaño, número y localización de espirales, presencia de flagelo polar y de fibrillas periplásmicas.<sup>2</sup> Es altamente efectiva debido a que se basa en las características ultraestructurales,<sup>9,41,42</sup> pero esto la convierte en una técnica compleja y costosa y restringe su uso a investigaciones.<sup>6</sup> Es ideal realizar esta técnica cuando las biopsias son ureasa positivas e indican alto número de bacterias presentes.<sup>2</sup>

### **Cultivo**

No todos los *Helicobacter* spp son cultivables.<sup>13</sup> El cultivo de estas bacterias es difícil y laborioso; para ello es indispensable el uso de un adecuado medio de transporte y un procesamiento rápido de la muestra.<sup>2</sup> Las especies cultivables son *H. felis*, *H. bizzozeronii*, *H. salomonis*, la primera de las cuales es la más fácil de cultivar. A pesar de que esta técnica es compleja, resulta apropiada para el aislamiento de estas especies.<sup>13</sup> La sensibilidad de esta técnica es baja (15.4% a 51.0%), comparada con otros métodos diagnósticos.<sup>6</sup> En una investigación realizada por Stoffel *et al.*,<sup>9</sup> la mayoría de las especies de *Helicobacter* spp, al cultivarse, perdían sus características ultraestructurales. En futuras investigaciones es necesario desarrollar un método de identificación genética que no requiera cultivo.<sup>8</sup>

## **Métodos no invasivos**

### **Pruebas serológicas**

Estas pruebas miden los anticuerpos circulantes (IgG e IgA), son precisas, relativamente rápidas, sencillas de realizar y poco costosas. Se han utilizado diferentes métodos como aglutinación bacteriana, fijación del complemento, aglutinación en látex, hemoagglutinación pasiva, ELISA y el inmunoblot.<sup>2,6,44</sup> Con los métodos serológicos no se puede determinar la especie de *Helicobacter* spp presente,<sup>20</sup> debido a la homología antigénica del género.<sup>12</sup> El método de ELISA es el más comúnmente usado, debido a que es sensible y fácil de realizar, por lo que es la prueba indicada para hacer muestreos de grandes poblaciones para estudios epidemiológicos.<sup>44</sup> También se ha usado para controlar la erradicación de la bacteria después del tratamiento. Sin embargo, es esencial la selección de los antígenos para un adecuado diagnóstico.<sup>2</sup>

Existen paquetes comerciales de ELISA para el uso en humanos,<sup>12</sup> pero no para animales;<sup>2</sup> la

treatment, in comparison with serology, where the levels of antibodies decrease five or six months after treatment.<sup>2</sup> It has been shown that the false negatives in this test can be caused by medicines which inhibit the proton pump or H<sub>2</sub> blocker, which are frequently used in the treatment of *Helicobacter* spp.<sup>6,25</sup>

This test has been used in investigations to determine the presence and evaluate the eradication of *Helicobacter* spp in cats<sup>45</sup> and dogs.<sup>6,41</sup> The costs are relatively high, due to the specialized material and equipment required.<sup>2,6</sup> The UBT, serology and PCR are not routine in veterinary clinics.<sup>25</sup>

### **Polymerase chain reaction (PCR)**

This technique shows the presence of *Helicobacter* spp DNA in gastric biopsies, even when the number is too low to be detected by other methods. The genome sequence 16S rARN is very similar between *H. felis*, *H. bizzozeronii*, *H. salomonis* y *H. heilmannii*; therefore, this method is not adequate to differentiate between species<sup>2,9,17</sup> and it is not used routinely in veterinary medicine.<sup>2,25</sup>

### **Detection of Helicobacter in feces**

In humans, the methods of cultures, PCR2 and serology have been used to detect monoclonal antibodies of *Helicobacter pylori*<sup>46</sup> and its DNA in feces. Currently, only one study exists where feces of cats have been cultured to extract the DNA and amplification of the genetic material by means of PCR.<sup>2,23</sup> Dental tartar has also been used to detect these bacteria in cats.<sup>2</sup> In study they were able to culture *Flexispira rappini* in the feces of three dogs and of their owners, in diarrheal children and in rodents.<sup>23</sup>

### **Comparison of the diagnostic techniques**

The urease test, histopathology and brush cytology are highly precise in the detection of gastric *Helicobacter* spp infection in dogs.<sup>6</sup> To detect *Helicobacter* spp, the brush cytology test is the most sensitive method.<sup>2</sup> The advantage of histopathology over brush cytology and the urease biopsy test is that you can appreciate the location of the bacteria in the gastric and parietal cells; in addition it allows to observe the inflamed cells and the changes in the tissue.<sup>2</sup>

Simpson *et al.*<sup>11</sup> concluded that the impression smear and the PCR are more sensitive than the histopathology, with the urease test being the least sensitive. The ME detected between 90% and 100% in positive samples, and the culture in dogs and cats detected 40% and 17% of the cases, respectively. The ME and the culture, even though more labor-

aplicación de estos paquetes en perros demostraron una especificidad similar a los usados en humanos; sin embargo, la sensibilidad fue menor. La combinación del uso de las pruebas de ELISA e inmunoblot identifican 25.7% más de perros infectados, que con el solo uso de la técnica de ELISA. El grado de seropositividad por ELISA no tiene relación con la densidad de colonización bacteriana, grado de inflamación gástrica o presencia de folículos linfoides.<sup>2,12</sup> Perros con alta densidad de colonización gástrica frecuentemente fallan en la seroconversión, ya que los factores que gobiernan la respuesta inmunológica de *Helicobacter* spp gástricos en perros aún son desconocidos.<sup>12</sup>

Desarrollar una técnica que detecte los anticuerpos monoclonales específicos de cada especie de *Helicobacter* podría ser importante ayuda diagnóstica para la diferenciación entre éstos.<sup>20</sup> Aún queda mucho por investigar en este campo, pero la serología es promisoría como método diagnóstico no invasivo en caninos y felinos.<sup>6</sup>

### **Prueba de urea en aliento (UBT)**

Es la prueba no invasiva más conveniente para evaluar la erradicación y la respuesta al tratamiento en humanos,<sup>6,25</sup> se basa en la actividad ureasa de la bacteria. Después de un ayuno nocturno, se toman muestras de aliento basales y luego se suministra urea radio-marcada oralmente, que funciona como sustrato. El aliento exhalado se recobra a los 30 minutos, y los niveles de radiactividad se miden con un espectrómetro. Esta prueba tiene la ventaja de que sirve para evaluar inmediatamente el efecto del tratamiento, en comparación con la serología, en la cual los niveles de anticuerpos disminuyen a los cinco o seis meses postratamiento.<sup>2</sup> Está descrito que los falsos negativos de esta prueba pueden ser causados por medicamentos que inhiben la bomba de protones y H<sub>2</sub> antagonistas, los cuales son usados frecuentemente en el tratamiento de *Helicobacter* spp.<sup>6,25</sup>

Esta prueba ha sido utilizada en investigaciones para determinar la presencia y evaluar la erradicación de *Helicobacter* spp en gatos<sup>45</sup> y perros.<sup>6,41</sup> Los costos son relativamente altos, debido a que se requieren materiales y equipos especializados.<sup>2,6</sup> La UBT, las serologías y PCR no están rutinariamente en las clínicas veterinarias.<sup>25</sup>

### **Reacción en cadena de la polimerasa (PCR)**

Esta técnica demuestra la presencia del ADN del *Helicobacter* spp en biopsias gástricas, aun cuando el número es bajo para ser detectado por otros métodos. La secuencia genómica 16S rARN es muy similar entre

intensive and expensive, are necessary to identify the species of *Helicobacter* spp involved.<sup>2</sup> Also, by using electrophoresis it is possible to differentiate 20 strains of *H. felis*.<sup>14</sup>

The diagnosis of helicobacteriosis and its prevalence in dogs has been difficult, because of the diagnostic methods like the urease test, the biopsy, histopathology, cytology and cultures, which require endoscopy to take a biopsy, are invasive and imply the factor time.<sup>12</sup> All of the tests can be influenced by the colonization density and by the area of location of these organisms in the stomach. The non-invasive tests are global indicators of infection and are less bothersome to the patient and owner.<sup>6</sup>

### **Treatment**

The treatment protocol in companion animals is based on what has been effective against *H. pylori* in humans, but some of these regimens only cause temporary suppression instead of eradication of the bacteria in dogs and cats. A review of the most popular pharmacological protocols used in treatment of *Helicobacter* spp in dogs and cats is shown in Table 1.

One of the most used protocols in humans is the combination of amoxicillin, metronidazole and bismuth subcitrate (AMB), which has been evaluated in dogs, achieving eradication in the majority of canines treated; in those not eradicated, tetracycline and omeprazole (TO) were used, with which the bacteria were eliminated.<sup>25,47</sup> It is reported that upper gastrointestinal signs decreased significantly with both therapies, but not completely. Using complimentary treatments like: tylosin, cimetidine, sucralfate, prednisolone or cisapride the clinical signs reduce even further.<sup>2,25</sup> In humans the clinical signs and inflammation induced by *H. pylori* infection disappear after the eradication of these bacteria.<sup>2</sup>

The effectiveness of the AMB and TO protocols is due to the citoprotection of the bismuth subcitrate and the acid block achieved by the omeprazole. Duration of ten days with AMB is sufficient to eradicate the microorganism. Resistance to metronidazole can explain the failure to eradicate in some cases, this has been well noted in treatments against *H. pylori*, and can happen as well in canine and feline helicobacteriosis. Tylosin and sucralfate induce a drop in the number of *Helicobacter* spp, but they do not eradicate it.<sup>25</sup>

A protocol of amoxicillin (20 mg/kg PO BID), metronidazole (20 mg/kg PO BID) and famotidine (0.5 mg/kg PO BID) (AMF) over 14 days, has also been evaluated in dogs and cats, in which reinfections appear between 4 and 28 days after treatment.<sup>6,18</sup> Acid secretion, plasmatic gastrin and mucosal inflammation

*H. felis*, *H. bizzozeronii*, *H. salomonis* y *H. heilmannii*; por tanto, este método no es adecuado para diferenciar entre especies<sup>2,9,17</sup> y no se usa rutinariamente en medicina veterinaria.<sup>2,25</sup>

### **Detección de Helicobacter en heces**

En humanos se ha usado el cultivo, PCR2 y serologías para detectar anticuerpos monoclonales de *Helicobacter pylori*<sup>46</sup> y su ADN en la materia fecal.<sup>2</sup> Sólo existe hasta el presente, un estudio que ha usado el cultivo de la materia fecal de gatos para la extracción del ADN y amplificación del material genético mediante PCR.<sup>2,23</sup> También de la misma forma usaron el sarro dental para la detección de esta bacteria en gatos.<sup>2</sup> En un estudio se logró cultivar *Flexispira rappini* de la materia fecal de tres perros y de sus dueños, en niños diarreicos y en roedores.<sup>23</sup>

### **Comparación de técnicas diagnósticas**

La prueba de ureasa, histopatología y citología por cepillo son altamente precisas para detectar la infección con *Helicobacter* spp gástrico en perros.<sup>6</sup> Para demostrar los *Helicobacter* spp, la citología por cepillo es el método más sensible.<sup>2</sup> La ventaja de la histopatología sobre la citología por cepillo y sobre la prueba de ureasa de biopsia, es que puede apreciar la localización de la bacteria en las células gástricas y parietales, además de que permite visualizar las células inflamatorias y los cambios en el tejido.<sup>2</sup>

Simpson *et al.* concluyeron que la impronta y el PCR son más sensibles que la histopatología, siendo la prueba de ureasa la menos sensible. La ME detectó de 90% a 100% de *Helicobacter* spp de las muestras positivas, y el cultivo en perros y gatos detectó 40% y 17% de los casos, respectivamente. La ME y el cultivo, aunque más laboriosos y más costosos, son necesarios para identificar las especies de *Helicobacter* spp involucradas.<sup>2</sup> También mediante la electroforesis, se han podido diferenciar 20 cepas de *H. felis*.<sup>14</sup>

El diagnóstico de la helicobacteriosis y su prevalencia en perros se ha dificultado, debido a que los métodos diagnósticos como la prueba de ureasa, de biopsia, histopatología, citología y cultivo, requieren de endoscopia para la toma de la biopsia, lo cual es invasivo e implica el factor tiempo.<sup>12</sup> Todas las pruebas pueden estar influidas por la densidad de colonización y por la zona de ubicación de estos microorganismos en el estómago. Las pruebas no invasivas son indicadores globales de infección y producen menos molestias al paciente y al propietario.<sup>6</sup>

were not affected by the transient suppression of the bacteria with AMF. These findings suggest that the gastric secretory function is not markedly altered in dogs with *Helicobacter* spp infection and the treatment with this protocol causes transitory suppression instead of eradication of the microorganism in dogs.<sup>18</sup>

Dogs that have been treated can become positive again, because of a re-infection or through relapse if the medical treatment only served to lower the number of bacteria. Several studies have registered recurrences of infection in periods less than three years after eradication treatments. Another large difference with humans is that moderate gastritis is detectable in biopsies following the eradication. It is important to state that no data exist concerning the length of duration of gastric inflammation after the eradication of the bacteria in dogs.<sup>2</sup>

The optimal combination of medications for the treatment of *H. pylori* is still under investigation. Up until now, no 100% effective therapy exists against *H. pylori*, nor has the most effective protocol been determined. The treatment regimens range from three to 14 days of treatment with highly varied rates of bacterial elimination. Currently used is a combination

## Tratamiento

Los protocolos de tratamiento en animales de compañía se han basado en los que han resultado efectivos contra *H. pylori* en humanos, pero algunos de estos regímenes causan sólo supresión transitoria en vez de erradicación de la bacteria en perros y gatos.<sup>6</sup> En el Cuadro 1 se presenta un resumen de los protocolos farmacológicos más utilizados en el tratamiento de *Helicobacter* spp en perros y gatos.

Uno de los protocolos más utilizado en humanos es la combinación de amoxicilina, metronidazol y subcitrate de bismuto (AMB), que ha sido evaluado en perros, logrando la erradicación en la mayoría de caninos tratados; en los que no se erradicó, se utilizó tetraciclina y omeprazol (TO), con lo cual se eliminó esta bacteria.<sup>25,47</sup> Se informa que los signos gastrointestinales superiores disminuyen significativamente con ambas terapias, pero no totalmente. Al utilizar tratamientos complementarios como tylosina, cimetidina, sucralfato, prednisolona o cisaprida se disminuyen aún más los signos clínicos.<sup>2,25</sup> En humanos los signos clínicos y la inflamación inducida por la infección de *H.*

**Cuadro 1**  
**PROTOCOLOS UTILIZADOS PARA EL TRATAMIENTO FARMACOLOGICO**  
**DE *Helicobacter* EN CANINOS Y FELINOS**  
**PROTOCOLS USED FOR THE PHARMACOLOGIC TREATMENT OF CANINE**  
**AND FELINE *Helicobacter***

<i>Protocol</i>	<i>Antibiotic</i>	<i>Adjuvant</i>	<i>Comment</i>
A	Amoxicillin	Bismuth subcitrate	Eradication of the bacteria in the majority of treated canines (25, 47).
M	Metronidazole		
B			Metronidazole resistance has been reported (25).
T	Tetracycline	Omeprazole	Eradication of the bacteria in the unsuccessful treatment with AMB (25, 47).
O			
A	Amoxicillin	Famotidine	Transitory suppression of the bacteria without eradication (18).
M	Metronidazole		
F			
T	Tylosin	Sucralphate	The combination of tylosin and sucralphate induces reduction of the bacteria but not eradication (25).
S		or	
or		Cimetidine	
C			

Additional treatments consist of the combination of 2 or 3 antibiotics with proton- pump inhibitors or H<sub>2</sub>- receptor antagonists. The treatment protocols vary in the combination and duration, ranging from a 3 to 14 day treatment. Each of the different protocols has variable percentage of eradication (7)

A: Amoxicillin, M: Metronidazole, B: Bismuth subcitrate, T: Tetracycline

O: Omeprazole, F: Famotidine, T: Tylosin, S: Sucralphate, C: Cimetidine

of proton pump inhibitors or H2-receptor antagonist with two or three antibiotics like amoxicillin, azithromycin, metronidazole or clarithromycin. Each one of the different protocols has different percentages of eradication.<sup>7</sup>

The best protocol option for humans is the combination of omeprazole, amoxicillin and metronidazole or tinidazole or clarithromycin. If this triple therapy fails, the second option is the combination of omeprazole, bismuth subcitrate, metronidazole and tetracycline or amoxicillin. In the future it would be worth while to evaluate the effectiveness of eradication of these protocols in canines.<sup>25</sup> One study concluded that the triple therapy of amoxicillin, metronidazole and omeprazole causes eradication of *Helicobacter* spp in canines and felines.<sup>39</sup>

It has been shown that *H. felis* is sensitive to cefalotin, nalidixic acid, amoxicillin, ciprofloxacin, tetracycline and erythromycin and resistant to metronidazole.<sup>39</sup> New tests with antibiotic molecules like 7 alfa-metoxicephem and 7 alfa-metoxi-oxacephem have shown eradication activity against *H. felis* in rats, because they are not absorbed after oral administration, which permits them to act directly on the bacteria and remain for more time in the gastric cavity.<sup>48</sup>

It has been recently reported that the use of human recombinant lactoferrin for the treatment of *H. felis* in lab rats has had very good results. Its use over two weeks is sufficient to reduce gastritis caused by the infection and the changes in the gastric surface caused by the pathogen. Comparisons of lactoferrin in combination with amoxicillin and AMB protocols have been tried without any difference in the rates of infection. It is necessary to continue the investigation with this promising agent for its application in other species.<sup>49</sup>

The use of *Lactobacillus acidophilus* cepa LB has been successfully used in the treatment of *H. pylori* and *H. felis* infections, as in the inhibition of colonization of the gastric mucosa, without histological evidence of lesions, inclusively decreasing the urease activity.<sup>50</sup>

There is a wide field in which work has been done on the development of vaccines against the infection of *Helicobacter* spp, where it has been shown that oral vaccination with lysated *H. pylori* protects rats against the infection of *H. felis*,<sup>51,52</sup> creating a resistance lasting from 18 weeks to a year.<sup>51</sup> Some authors have raised the question of whether the prophylactic protection and therapy of the vaccine could be related to the crossed reaction of the antigens of *H. pylori*; nevertheless, even if it is beneficial, that is not a sufficient response for maximum protection. The vaccination achieved a drop in the number of *H. pylori*, but did not eliminate the pathogen completely. While using the vaccine

*pylori* desaparecen después de la erradicación de esta bacteria.<sup>2</sup>

La efectividad del protocolo AMB y TO se debe a la citoprotección del subcitrate de bismuto y al bloqueo ácido logrado por el omeprazol. La duración de diez días con AMB es suficiente para generar erradicación del microorganismo. La resistencia al metronidazol puede explicar la falla en la erradicación en ciertos casos, la cual está ampliamente registrada en tratamientos contra *H. pylori*, y puede ocurrir también en la helicobacteriosis canina y felina. La tylosina y el sucralfato inducen una disminución del número de *Helicobacter* spp, pero no la erradicación.<sup>25</sup>

Un protocolo de amoxicilina (20 mg/kg PO BID), metronidazol (20 mg/kg PO BID) y famotidina (0.5 mg/kg PO BID) (AMF) durante 14 días, también ha sido evaluado en perros y gatos, en los que se presentan reinfecciones desde los cuatro a 28 días postratamiento.<sup>6,18</sup> La secreción ácida, gastrina plasmática y la inflamación de la mucosa no fueron afectadas por la supresión transitoria de la bacteria con el protocolo AMF. Estos hallazgos sugieren que la función secretora en perros no se altera significativamente por la infección de *Helicobacter* spp y el tratamiento con este protocolo causa supresión transitoria en vez de erradicación del microorganismo en perros.<sup>18</sup>

Los perros que han sido tratados pueden volver a ser positivos, debido a una reinfección o por una recrudescencia causada por una disminución del número de la bacteria por el tratamiento médico. En varios estudios se ha registrado recurrencia de la infección en periodos inferiores a tres años después del tratamiento de erradicación. Otra gran diferencia con los humanos es que se puede detectar gastritis moderada en las biopsias subsiguientes a la erradicación. Es importante anotar que no existen datos sobre el tiempo de duración de esta inflamación gástrica después de la erradicación de la bacteria en perros.<sup>2</sup>

La combinación óptima de medicamentos para el tratamiento de *H. pylori* aún está en investigación. A la fecha no existe terapia 100% efectiva contra *H. pylori*, como tampoco se ha establecido el protocolo más efectivo. Los regímenes van desde los tres hasta los 14 días de tratamiento con porcentajes de eliminación de la bacteria muy variados. Actualmente se utiliza una combinación de inhibidores de la bomba de protones o antagonistas de los receptores H2, con dos o tres antibióticos como amoxicilina, azitromicina, metronidazol o claritromicina. Cada uno de los diferentes protocolos tiene porcentajes variables de erradicación.<sup>7</sup>

En humanos actualmente el protocolo de primera elección es la combinación de omeprazol, amoxicilina

the infection decreases faster.<sup>51</sup> Other oral vaccines of recombinant *Helicobacter pylori* have been tried in rats infected with *H. felis*, achieving a protection of 79%-100% in the second week and of 63%-78% in the tenth week of the trial; this type of vaccine confers a lasting immunity to *H. felis*<sup>53</sup> and prevents the formation of aggregate lymphoids on the gastric tissue.<sup>27</sup> It is thought that the vaccines induce an immune response to TH2 lymphocytes, a difference in the production of TH1 lymphocytes seen in natural infections.<sup>54</sup> Other vaccines of recombinant *H. felis*, *H. pylori* and of *H. pylori* with toxin B subunit of cholera as the adjuvant, caused eradication of the infection. The demonstration of these results leaves an open window to use immunization as therapy with *Helicobacter* spp infections.<sup>16</sup> In spite of the immunity conferred by all the vaccines, it has been determined that they have the side effect of gastritis with neurophilic infiltration and atrophy, changes that are not associated with serum antibodies.<sup>27</sup>

## Discussion

In the daily routine of a small animal clinic, upper gastrointestinal disease is a frequent reason for consultation. Many of these cases are treated with medication without performing any tests or diagnostic procedures. In some of these patients the clinical signs disappear, but not in all. For these last mentioned, it is common that routine examination does not uncover relevant changes which could be attributed to the disease, to previous treatments that mask the results and also to the lack of specific diagnostic methods; therefore, it becomes difficult to establish a definitive diagnosis. Occasionally the clinical signs relapse in patients that have been treated, leading to chronic illness. The lack of economic availability of the owners is a factor that contributes to initiate therapeutic protocols, without ruling out compatible diseases with these signs. Because of the situations mentioned it is difficult to come to a definitive diagnosis in cases of helicobacteriosis, if the appropriate procedures are not performed after the first consultation.

It is common to see patients with different clinical profiles: asymptomatic dogs but positive to *Helicobacter* spp with histological signs of chronic or severe gastritis; others without signs, negative to the bacteria and without appearance of gastritis or histological changes, and other patients positive to *Helicobacter* spp with gastric disease. This diversity can be due to the long periods over which they are treated, previous to endoscopy, with medications like antibiotics and gastric protectors, which can substantially reduce the number of organisms, and for this reason not be detected in histopathology.<sup>2</sup> But because little is

y metronidazol o el tinidazol o claritromicina. Si esta triple terapia falla, la segunda opción es la asociación de omeprazol, subcitrate de bismuto, metronidazol y tetraciclina o amoxicilina. En un futuro vale la pena evaluar la efectividad de erradicación de estos protocolos en caninos.<sup>25</sup> En un estudio se concluyó que la triple terapia de amoxicilina, metronidazol y omeprazol causa erradicación de *Helicobacter* spp en caninos y felinos.<sup>39</sup>

Se ha indicado que *H. felis* es sensible a cefalotina, ácido nalidíxico, amoxicilina, ciprofloxacina, tetraciclina y eritromicina y resistente al metronidazol.<sup>39</sup> Nuevos ensayos con moléculas antibióticas como la 7 alfa-metoxi-cephem y 7 alfa-metoxi-oxacephem han demostrado tener actividad de erradicación contra *H. felis* en ratones, debido a que no son absorbidos después de la administración oral, lo que le permite actuar directamente sobre las bacterias y permanecer por más tiempo en la cavidad gástrica.<sup>48</sup>

Recientemente se ha informado que el uso de la lactoferrina recombinante humana para el tratamiento de *H. felis* en ratones de laboratorio ha tenido muy buenos resultados. Su uso durante dos semanas es suficiente para disminuir la gastritis inducida, la infección y los cambios de la superficie gástrica inducida por este patógeno. Se han realizado comparaciones de protocolos de lactoferrina en combinación con amoxicilina y el AMB, sin ninguna diferencia en las tasas de infección. Es necesario continuar la investigación con este agente promisorio, para su aplicación en otras especies.<sup>49</sup>

La utilización de *Lactobacillus acidophilus* cepa LB ha sido utilizada con éxito tanto en el tratamiento de las infecciones con *H. pylori* y *H. felis*, como en la inhibición de la colonización de la mucosa gástrica, sin evidencia histológica de lesiones, inclusive llegando hasta una disminución en la actividad de la ureasa.<sup>50</sup>

Existe un amplio campo en que se ha venido trabajando en el desarrollo de vacunas contra la infección de *Helicobacter* spp, donde se ha demostrado que la vacunación oral con lisados de *H. pylori* protege ratones contra la infección de *H. felis*,<sup>51,52</sup> generando una protección de 18 semanas hasta un año.<sup>51</sup> Algunos autores han planteado que la protección profiláctica y terapéutica de la vacuna puede estar relacionada con una reacción cruzada de los antígenos de *H. pylori*; sin embargo, aunque benéfica, ésta no es una respuesta suficiente para una máxima protección. La vacunación logró disminuir la carga de *H. pylori*, pero no eliminó completamente el patógeno. Al utilizar la vacuna se disminuyó la infección en menos tiempo.<sup>51</sup> Otras vacunas orales de *Helicobacter pylori* recombinante han sido ensayadas en ratones infectados con *H. felis*, con las cuales se logra una protección de 79%-100%

known about the pathogenesis of this gastric bacteria in dogs and cats, these results put the veterinarian in the dilemma of whether or not to treat positive patients without clinical signs, or the negative patients with symptoms and to attribute to this bacteria the totality all of the symptoms in positive patients.

In the beginnings of the investigations on *Helicobacter* spp in canines and felines, its zoonotic potential was not clear, but now, as there has been more investigation development and with the use of more sensitive and specific diagnostic methods, it begins to be clear that this bacteria is a zoonotic risk.<sup>6,10,30</sup> At the moment, *H. pylori* is the gastric bacteria most highly involved in human gastritis,<sup>10,19,27</sup> but in recent studies *H. heilmannii* has been found as a cause of human gastritis, being the species most commonly found in cats, suggesting a zoonotic transmission.<sup>20,39</sup> Until now, in dogs no *H. pylori* infection has been found in natural conditions, unlike as it happens in cats where this infection occurs naturally.<sup>6,10</sup>

The implications of the zoonotic potential of this bacterium are gaining more importance; for this reason the veterinarian must orient owners about the proper handling of their pets and understanding the diseases their pets can carry, specially in the presence of immunosuppressive diseases like cancer, autoimmune diseases or AIDS in the family circle of the people who live with the dogs and cats.

Because large differences do not exist in the prevalence of this bacterium in dogs and cats with or without upper gastrointestinal signs, it is thought that *Helicobacter* spp could be part of the normal flora in these animals.<sup>2</sup> Nevertheless, the immune response of the host should be considered, since there are individual responses to the bacterial flora, which have been seen in studies where the immune response plays an important role in the clinical manifestation of the infection. In addition, a low number of *Helicobacter* spp can be destroyed due to the immune response induced by the gastritis, which prevents the detection of this bacterium in biopsies of patients with gastric inflammation.<sup>2,31</sup>

Gastric inflammation is a common histological finding in dogs and cats with helicobacteriosis.<sup>2,30</sup> The vast majority of the studies have determined that in dogs no correlation exists between the level of gastric inflammation and the density of colonization,<sup>6,35</sup> which suggests that the *Helicobacter* spp is not considered an exclusive entity responsible for these changes,<sup>2</sup> or that the different species and strains differ in the pathogenicity.<sup>2,13</sup> The appropriate response to the different treatments used for eradication, suggests that this bacteria is not the sole responsible in the pathogenesis of upper gastrointestinal disease. In cats there is a greater quantity of lymphocytes in positive

a la segunda semana y de 63%-78% a la décima semana de desafío; este tipo de vacuna confiere una inmunidad duradera contra *H. felis*<sup>53</sup> y previene la formación de agregados linfoides en el tejido gástrico.<sup>27</sup> Se piensa que las vacunas inducen una respuesta inmune de linfocitos TH2, a diferencia de la producción de linfocitos TH1 vista en infecciones naturales.<sup>54</sup> Otras vacunas de *H. felis*, *H. pylori* y de *H. pylori* recombinante con la subunidad toxina B del cólera como adyuvante, generaron erradicación de la infección. La demostración de estos resultados deja una ventana abierta para la inmunización como terapia de manejo de la infección por *Helicobacter* spp.<sup>16</sup> A pesar de la inmunidad conferida por todas las vacunas, se ha determinado que se genera como efecto secundario una gastritis con infiltrado neutrofílico y atrofia, cambios que no están asociados con los anticuerpos séricos.<sup>27</sup>

## Discusión

En la cotidianidad de la clínica de pequeñas especies, la enfermedad gastrointestinal superior es motivo de consulta frecuente. Muchos de estos casos son tratados con medicamentos sin la realización de pruebas de laboratorio o procedimientos diagnósticos. En algunos de estos pacientes se resuelven los signos clínicos, pero en otros no. Para estos últimos, es común que al realizar exámenes de rutina no se encuentren cambios relevantes a los cuales se les pueda atribuir la enfermedad, lo cual puede deberse al tratamiento previo que enmascara los resultados y también a la falta de métodos diagnósticos específicos; por tanto, se dificulta establecer un diagnóstico definitivo. En ocasiones recidivan los signos clínicos en pacientes que habían tenido resolución, lo que conduce a la cronicidad. La falta de disponibilidad económica de los propietarios es un factor que contribuye al inicio de protocolos terapéuticos, sin el apropiado descarte de enfermedades compatibles con estos signos. Debido a las situaciones mencionadas es difícil llegar a un diagnóstico definitivo en los casos de helicobacteriosis, si no se realizan desde la primera consulta los procedimientos indicados.

Es común que se presenten pacientes con diferentes cuadros clínicos: perros que son asintomáticos, pero positivos a *Helicobacter* spp y observándose en la histología signos de gastritis crónica a severa; otros sin signos, negativos a la bacteria y sin apreciación de gastritis o cambios en la histología, y otros pacientes positivos a *Helicobacter* spp cursando con enfermedad gástrica. Esta diversidad puede deberse a que son tratados durante periodos prolongados, previo a la endoscopia, con medicamentos como antibióticos y protectores gástricos, lo cual puede llegar a reducir



patients and lymphocytic aggregates, indicating that this infection has a direct relation with gastric inflammation.<sup>2</sup>

Brush cytology is the most sensitive method to detect gastric *Helicobacter* spp in dogs and cats. The urease test and the histological examination also have high diagnostic values. The ME and culture, even though more labor-intensive and expensive are necessary for *Helicobacter* species identification. It is certain that using more than one diagnostic method increases the sensitivity to detect this bacterium. To verify the presence of the microorganism, a biopsy of the *corpus*, *fundus* or cardia is sufficient, since the majority of studies indicate that these are the three gastric regions where these bacteria can be found most frequently and in greatest numbers, unlike humans in whom the *antrum* is most affected.<sup>2,6</sup>

The treatment of choice in humans consists of a proton pump inhibitor combined with amoxicillin or a derivative of nitromidazole or clarithromycin. If this triple therapy fails, the second therapy of choice consists of a proton pump inhibitor, bismuth subcitrate with tetracycline or amoxicillin and metronidazole. Resistance to metronidazole can explain the failure to eradicate with this medication. In humans 20% resistance has been found, because metronidazole is widely used in veterinary medicine in gastrointestinal diseases and to control anaerobic infections, this could be a possible explanation for the failure of the indicated treatments for this bacterium.<sup>25</sup>

Prophylactic immunization seems promising for small animal practice, but there is still a long way to go in this field, to establish effectiveness and, possibly, its use as of a normal vaccination plan.<sup>27,51,53</sup>

## Referencias

1. Hanninen ML, Happonen I, Saari S, Jalava K. Cultured and characteristics of *Helicobacter bizzozeronii*, a new canine gastric *Helicobacter* spp. *Int J Syst Bacteriol* 1996; 46:160-166.
2. Happonen I. Canine and feline *Helicobacters*: Diagnosis and significance in chronic gastritis. (doctoral thesis) Helsinki, Finland: Faculty of Veterinary Medicine. Univ of Helsinki, 1999.
3. Peyrol S, Lecoindre P, Bergeer I, Deleforge J, Chevalier M. Differential pathogenic effect of two *Helicobacter* like Organisms in dog gastric mucosa. *J Submicrosc Cytol Pathol* 1998; 30:425-433.
4. Gueneau P, Fuenmayor J, Aristimuño OC, Cedeño S, Baez E, Reyes N., *et al.* Are goats naturally resistant to gastric *Helicobacter* infection? *Vet Microbiol* 2002;84:115-121.
5. Gueneau P, Loiseaux-De Goër S. *Helicobacter*: molecular phylogeny and the origin of gastric colonization in the genus. *Infect Genet Evol* 2002;22:1-9.

el número de los microorganismos sustancialmente, y por eso no ser detectados en la histopatología.<sup>2</sup> Pero debido al poco conocimiento de la patogenia de esta bacteria gástrica en perros y gatos, estos resultados ponen al médico veterinario en el dilema de tratar o no a los pacientes positivos sin signos clínicos, a los negativos con signos y atribuirle a esta bacteria la totalidad de los signos en los pacientes positivos.

En los inicios de las investigaciones sobre *Helicobacter* spp en caninos y felinos, su potencial zoonótico no era claro, pero ahora, a medida que se han venido desarrollando más investigaciones y con la utilización de métodos diagnósticos cada vez más sensibles y específicos, comienza a ser claro que esta bacteria es un riesgo zoonótico.<sup>6,10,30</sup> Al momento, *H. pylori* es la bacteria gástrica más involucrada en la gastritis humana,<sup>10,19,27</sup> pero en estudios recientes han encontrado a *H. heilmannii* como causante de gastritis en humanos, la cual es una de las especies comúnmente hallada en los gatos, sugiriendo una transmisión zoonótica.<sup>20,39</sup> Hasta el presente, en los perros no se ha encontrado la infección con *H. pylori* en condiciones naturales,<sup>6</sup> al contrario de como sucede en gatos, en los cuales sí se registra esta infección naturalmente.<sup>6,10</sup>

Las implicaciones del potencial zoonótico de esta bacteria cobran cada vez más importancia por lo que el médico veterinario debe orientar a los propietarios en el adecuado manejo de sus mascotas y en el conocimiento de las enfermedades que éstas pueden padecer, en especial ante la presencia de enfermedades inmunosupresoras como el cáncer, enfermedades autoinmunes o el síndrome de inmunodeficiencia adquirida.

Debido a que no existen grandes diferencias en la prevalencia de esta bacteria en perros y gatos con o sin signos gastrointestinales superiores, se piensa que el *Helicobacter* spp puede ser parte de la flora normal de estos animales.<sup>2</sup> Sin embargo, la respuesta inmune del portador debe ser considerada, ya que se dan respuestas individuales a la flora bacteriana, lo cual se ha apreciado en estudios en los que la respuesta inmune juega un papel trascendente en la manifestación clínica de la infección. También, un número bajo de *Helicobacter* spp puede ser destruido debido a la respuesta inmune inducida por la gastritis, lo que impide la detección de esta bacteria en biopsias de pacientes con inflamación gástrica.<sup>2,31</sup>

La inflamación gástrica es un hallazgo histológico común en perros y gatos con helicobacteriosis.<sup>2,30</sup> La gran mayoría de los estudios han determinado que en perros no existe correlación entre el grado de inflamación gástrica y la densidad de colonización,<sup>6,35</sup> lo que sugiere que el *Helicobacter* spp no es considerado como la entidad exclusiva responsable de estos cambios,<sup>2</sup> o que las diferentes especies y cepas

6. Strauss-Ayali D, Simpson KW. Gastric *Helicobacter* infection in dogs. *Vet Clin North Am* 1999; 29:397-411.
7. Chahine C, Moukhachen O, Chedid M, Araj GF, Sharrara AI. Ultrashort regimen of Lansoprazole-Amoxicillin-Azithromycin for eradicating *Helicobacter pylori*. *Am J Health Syst Pharm* 2001; 58:1819-1823.
8. Jalava K, On SL, Vandamme PA, Happonen I, Sakura A, Hanninen ML. Isolation and identification of *Helicobacter* spp from canine y feline gastric mucosa. *Appl Environ Microbiol* 1998; 64:3998-4006.
9. Stoffel MH, Friess AE, Burnens A, Schmassmann A, Neiger R. Distinction of gastric *Helicobacter* spp in humans and domestic pets by scanning electron microscopy. *Helicobacter* 2000; 5:232-239.
10. Lecoindre P, Chevallier M, Peyrol S, Boude M, Ferrera RL, Labigne A. Gastric *Helicobacters* in cats. *J Feline Med Surg* 2000;2:19-27.
11. Simpson KW, Strauss-Ayali D, Scanziani E, Straubinger RK, McDonough PL, Straubinger AF, et al. *Helicobacter felis* infection is associated with lymphoid follicular hyperplasia and mild gastritis but normal gastric secretory function in cats. *Infect Immun* 2000;68:779-790.
12. Strauss-Ayali D, Simpson KW, Schein AH, McDonough PL, Jacobson RH, Valentine BH, et al. Serological discrimination of dogs infected with gastric *Helicobacter* spp and uninfected dogs. *J Clin Microbiol* 1999;37:1280-1287.
13. Cattoli G, Van Vugt R, Zanoni RG, Sanguinetti V, Chiocchetti R, Gualtieri M, et al. Occurrence and characterization of gastric *Helicobacter* spp in naturally infected dogs. *Vet Microbiol* 1999;70:239-250.
14. Jalava K, De Ungria MC, O'Rourke J, Lee A, Hirvi A, Hanninen ML. Characterization of *Helicobacter felis* by pulsed-field gel electrophoresis, plasmid profiling and ribotyping. *Helicobacter* 1999;4:17-27.
15. Happonen I, Saari S, Castren L, Tyni O, Hanninen ML, Westermarck E. Occurrence and topographical mapping of gastric *Helicobacter*-like organisms and their association with histological change in apparently healthy dog and cats. *Zentralbl Veterinarmed A* 1996;43:305-315.
16. Lee A. Animal models and vaccine development. *Baillieres Clin Gastroenterol* 1996;9:615-632.
17. De Groote D, Haesebrouck F, Van Doorn LJ, Vandamme P, Ducatelle R. Evaluation of a group-specific 16s ribosomal DNA-based PCR for detection of *Helicobacter bizzozeronii*, *Helicobacter felis*, and *Helicobacter salomonis* in fresh and paraffin-embedded gastric biopsy specimens. *J Clin Microbiol* 2001;39:1197-1199.
18. Simpson KW, Strauss-Ayali D, McDonough PL, Chang YF, Valentine BA. Gastric function in dogs with naturally acquired gastric *Helicobacter* spp infection. *J Vet Intern Med* 1999;13:507-515.
19. Esteves MI, Schrenzel MD, Marini RP, Taylor NS, Xu S, Hagen S, et al. *Helicobacter pylori* gastritis in cats with long-term natural infection as a model of human disease. *Am J Pathol* 2000;156:709-721.
20. Scanziani E, Simpson KW, Monestirroll S, Soldati S, Strauss-Ayali D, Del Piero F. Histological and Immunohistochemical detection of different *Helicobacter* spe-

difieren en su patogenicidad.<sup>2,13</sup> La respuesta adecuada a tratamientos diferentes a los utilizados para la erradicación, sugiere que esta bacteria no es la única responsable en la patogenia de la enfermedad gastrointestinal superior. En gatos hay mayor cantidad de linfocitos en pacientes positivos y agregados linfocitarios, indicando que esta infección tiene una relación directa con la inflamación gástrica.<sup>2</sup>

La citología por cepillo es el método más sensible para detectar *Helicobacter* spp gástrico en perros y gatos. La prueba de ureasa y el examen histológico también son de alto valor diagnóstico. La ME y el cultivo, aunque más laboriosos y más costosos, son necesarios para la identificación de especies de *Helicobacter* spp. Es definitivo que el uso de más de un método diagnóstico aumenta la sensibilidad para la detección de esta bacteria. Para verificar la presencia del microorganismo, es suficiente una biopsia del cuerpo, fundus o cardias, ya que la mayoría de los estudios indican que éstas son las tres regiones gástricas en donde más frecuentemente y en mayor número se han encontrado estas bacterias, a diferencia de los humanos en los cuales el antro es el más afectado.<sup>2,6</sup>

El tratamiento de elección en humanos consiste en un inhibidor de la bomba de protones acompañado de amoxicilina o algún derivado de nitromidazol o claritromicina. Si la triple terapia falla, la segunda terapia de elección es un inhibidor de la bomba de protones, subcitrate de bismuto con tetraciclina o amoxicilina y metronidazol. La resistencia al metronidazol puede explicar la falla en la erradicación con este medicamento, ya que en humanos se ha registrado aproximadamente 20% de resistencia. Debido a que el metronidazol es ampliamente usado en la medicina veterinaria en enfermedades gastrointestinales y para el control de infecciones anaerobias, esto puede ser una posible explicación de la falla de los tratamientos indicados para esta bacteria.<sup>25</sup>

La inmunización profiláctica parece ser promisoría para la clínica de pequeñas especies, pero aún falta mucho que adelantar en este campo, para establecer su efectividad y, por tanto, su uso como parte normal de un plan de vacunación.<sup>27,51,53</sup>

---

cies in the gastric mucosa of cats. *J Vet Diagn Invest* 2001;13:3-12.

21. Strauss-Ayali D, Scanziani E, Deng D, Simpson KW. *Helicobacter* spp infection in cats: evaluation of the humoral immune response and prevalence of gastric *Helicobacter* spp. *Vet Microbiol* 2001; 79:253-265.
22. Fox JG, Drolet R, Higgins R, Messier S, Yan L, Coleman BE, et al. *Helicobacter canis* isolated from a dog

- liver with multifocal necrotizing hepatitis. *J Clin Microbiol* 1996; 34:2479-2482.
23. Shen Z, Feng Y, Dewhirst FE, Fox JG. Coinfection of enteric *Helicobacter* spp and *Campylobacter* spp in cats. *J Clin Microbiol* 2001; 39:2166-2172.
  24. Eaton KA, Dewhirst FE, Paster BJ, Tzellas N, Coleman BE, Paola J *et al.* Prevalence and varieties of *Helicobacter* species in dogs from random sources and pet dogs: animals and public health implications. *Clin Microbiol* 1996; 34:3165-3170.
  25. Happonen I, Linden J, Westermarck E. Effect of triple therapy on eradication of canine gastric *Helicobacter* and gastric disease. *J Small Anim Pract* 2000; 41:1-6.
  26. Matushima Y, Kinoshita I, Watanabe M, Hassan S, Fukui H, Maekawa T, *et al.* Augmentation of water immersion stress induced gastric mucosal lesions in BALB/c mice infected with *Helicobacter felis*. *Digestion* 1999; 60:34-40.
  27. Sutton P, Danon SJ, Walker M, Thompson LJ, Wilson J, Kosaka T, *et al.* Post-immunization gastritis infection in the mouse in a long term study. *Gut* 2001; 49:467-473.
  28. Josenhans C, Ferrero RL, Labigne A, Suerbaum S. Cloning and allelic exchange mutagenesis of two genes of *Helicobacter felis*. *Mol Microbiol* 1999; 33:350-362.
  29. Nedrud JG. Animal models for gastric *Helicobacter* immunology and vaccine studies. *FEMS Immunol Med Microbiol* 1999; 24:243-250.
  30. Hansen TK, Hansen PS, Norgaard A, Nielsen H, Lee A, Andersen LP. *Helicobacter felis* does not stimulate human neutrophil oxidative burst in contrast to *Gastrospirillum hominis* and *Helicobacter pylori*. *FEMS Immunol Med Microbiol* 2001;30:187-195.
  31. Roth KA, Kapadia SB, Martin SM, Lorenz RG. Cellular immune responses are essential for the development of *Helicobacter felis*-associated gastric pathology. *J Immunol* 1999;163:1490-1497.
  32. De Ungria MC, Tillet D, Neilan BA, Cox PT, Lee A. A novel method of extracting plasmid DNA from *Helicobacter* species. *Helicobacter* 1998;3:269-277.
  33. Scanziani E, Di Ceglie G, Crippa L. *Helicobacter* infections and stomachs lesions in dogs. *Veterinaria (Cremona)* 1997; 11:35-39.
  34. Vajner L, Vortel V, Sýkorová B, Brejcha A, Zocová J. *Helicobacter* gastritis in beagle dogs. Review of 33 cases in breeding colony. *Eur J Vet Pathol* 2000; 6:49-55.
  35. Simpson KW, Strauss-Ayali D, Straubinger RK, Scanziani E, McDonough PL, Straubinger AF, *et al.* *Helicobacter pylori* infection in the cat: Evaluation of gastric colonization, inflammation and function. *Helicobacter* 2001; 6:1-14.
  36. Simpson KW, McDonough PL, Strauss-Ayali D, Chang YF, Harpending P, Valentine BA. *Helicobacter felis* Infection in Dogs: Effect on gastric structure and function. *Vet Pathol* 1999; 36:237-248.
  37. Matysiak-Budnik T, Hashimoto K, Heyman M, De Mascarel A, Desjeux JF, Megraud F. Antral gastric permeability to antigens in mice is altered by infection with *Helicobacter felis*. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 1999; 11:1371-1377.
  38. Kusters JG, Kuipers EJ. Non-*Helicobacter Pylori* infections in Humans. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 1998; 10:239-241.
  39. Andersen LP, Boye K, Blom J, Holck S, Norgaard A, Elsborg L. Characterization of a culturable *Gastrospirillum hominis* (*Helicobacter heilmannii*) strain isolate from human gastric mucosa. *J Clin Microbiol* 1999;37:1069-1076.
  40. Jalava K, On SLW, Harrington CS, Andersen LP, Hänninen ML, Vandammes P. A cultured strain of *Helicobacter heilmannii*, a human gastric pathogen, identified as *H. bizzozeronii*: Evidence of zoonotic potential of *Helicobacter*. *Emerg Infect Dis* 2001; 7:1036-1038.
  41. Neiger R. *Helicobacter* infection in dogs and cats II. Diagnosis and treatment. *Kleintierpraxis* 1998; 43:875-883.
  42. Utriainen M, Jalava K, Sukura A, Hanninen ML. Morphological diversity of cultured gastric *Helicobacter* spp *Comp Immunol Microbiol Infect Dis* 1997; 20:285-297.
  43. Norris CR, Marks SL, Eaton KA, Torabian SZ, Munn RJ, Solnick JV. Healthy cats are commonly colonize with *Helicobacter heilmannii* that is associated with minimal gastritis. *J Clin Microbiol* 1999; 37:189-194.
  44. Seidel KE, Stolte M, Lehn N, Bauer J. Antibodies against *Helicobacter felis* in sera of cats and dogs. *Zentralbl Veterinarmed* 1999; 46:181-188.
  45. Neiger R, Seiler G, Schmassmann A. Use of a breath test to evaluate short-term treatments for cats naturally infected with *Helicobacter heilmannii*. *Am J Vet Res* 1999; 60:880-883.
  46. Suzuki N, Wakasugi M, Nakaya S, Okada K, Mochida R, Sato M, *et al.* Production and application of new monoclonal antibodies specific for a fecal *Helicobacter pylori* antigen. *Clin Diagn Lab Immunol* 2002; 9:75-78.
  47. Smith KR. *Helicobacter* spp infection in dog in association with gastric perforation. *Aust Vet Pract* 1996; 26:140-145.
  48. Kobayashi Y, Dol M, Nagata H, Kubota T, Kume M, Murakami K. The 7 alpha-methoxy substituent in cephem or oxacepham antibiotics enhances *in vivo* anti-*Helicobacter felis* activity in mice after oral administration. *J Antimicrob Chemother* 2000; 45:807-811.
  49. Dial EJ, Romero JJ, Headon DR, Lichtenberger LM. Recombinant human lactoferrin is effective in the treatment of *Helicobacter felis* infected mice. *J Pharm Pharmacol* 2000; 52:1541-1546.
  50. Coconnier MH, Lievin V, Hemeri E, Servin AL. Antagonistic activity against *Helicobacter* infection *in vitro* and *in vivo* by the human *Lactobacillus acidophilus* strain LB. *Appl Environ Microbiol* 1998; 64:4573-4580.
  51. Koesling J, Lucas B, Develioglou L, Aebischer T, Meyer TF. Vaccination of mice with live recombinant *Salmonella typhimurium* aroA against *H. pylori*: parameters associated with prophylactic and therapeutic vaccine efficacy. *Vaccine* 2002; 20:413-420.
  52. Michetti P. Oral immunization against *Helicobacter*

- pylori*-a future concept. J Gastroenterol 1998; 33:66-68.
53. Myers GA, Ermak TH, Georgakopoulos K, Tibbitts T, Ingrassia J, Gray H, *et al.* Oral immunization with recombinant *Helicobacter pylori* unease confers long-lasting immunity against *Helicobacter felis* infection. Vaccine 1999; 17:1394-1403.
54. Jiang B, Jordana M, Xing Z, Smaill F, Snider DP, Borojevic R, *et al.* Replication-defective adenovirus infection reduces *Helicobacter felis* colonization in the mouse in a gamma interferon-and interleukin-12-dependent manner. Infect Immun 1999; 67:4539-4544.