

FERNANDA DE TOLEDO VIEIRA

**FREQUÊNCIA E DISTRIBUIÇÃO DE *HELICOBACTER ssp.*
NA MUCOSA GÁSTRICA DE CÃES**

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, para obtenção do título de "Magister Scientiae".

**VIÇOSA
MINAS GERAIS - BRASIL
2004**

AGRADECIMENTOS

À Deus, por mais uma oportunidade de crescimento profissional e pessoal;
Aos animais que possibilitaram a realização deste estudo;
Aos meus pais e meu irmão Alexandre pelo apoio;
Ao meu irmão Marcel pela ajuda na realização da análise estatística;
Ao Cristiano pelo apoio, amor, compreensão e ainda pelo suporte em informática;
À Katy, Kyssa Maria, Kelly Cristina, Chica, Loro e Vivi pelo amor e compreensão pela distância e falta de atenção;
Ao professor orientador João Carlos Pereira da Silva, pelo apoio, pela compreensão e orientação durante o curso;
À professora Marlene Isabel Vargas Vilorio, pelo apoio, amizade e orientação;
Ao professor José Antônio Viana pela orientação;
Aos funcionários da Patologia, Adão Carlos Cardoso e Cláudio Veridiano Cardoso pela amizade, ajuda nas necropsias e confecção das lâminas de histopatologia;
A todos professores e funcionários do curso de Medicina Veterinária;
Aos amigos do curso de Pós-Graduação pela amizade, apoio e companheirismo;
Aos Médicos Veterinários e amigos Raquel Vitarelli e Edvaldo Gueiros pelo apoio;
A todas as pessoas do Departamento de Veterinária que contribuíram de algum modo para a realização deste trabalho.

CONTEÚDO

LISTA DE FIGURAS.....	v
LISTA DE TABELAS	vi
LISTA DE GRÁFICOS	viii
RESUMO	ix
ABSTRACT.....	xi
Introdução	1
Revisão de Literatura	3
2.1 Estômago	3
2.1.1 Considerações anatômicas e fisiológicas	3
2.1.2 Mecanismos de citoproteção gástrica	4
2.2 O gênero <i>Helicobacter</i>	5
2.2.1 Histórico	5
2.2.2 Fatores de virulência	6
2.2.3 <i>Helicobacter ssp</i> em cães	10
2.2.4 <i>Helicobacter</i> e alterações histopatológicas em cães	11
2.2.5 <i>Helicobacter</i> e nódulos linfóides	13
2.2.6 Transmissão	15
2.2.7 Potencial zoonótico	17
2.2.8 Métodos diagnósticos	19
Material e Métodos	21
3.1 Animais	21
3.2 Estimativa das idades	22
3.3 Exame histopatológico das mucosas	22
3.4 Teste da urease	23
3.5 Análise estatística	24
Resultados	25
4.1 Exame macroscópico da mucosa	25
4.2 Teste da urease	26

4.3 Exame microscópico	27
4.3.1 Coloração por Carbol-Fucsina	27
4.3.2 Coloração pela Hematoxilina e Eosina	29
4.3.2.1 Integridade das mucosas	29
4.3.2.2 Células inflamatórias e nódulos linfóides	30
Discussão	37
Resumo e Conclusões	44
Apêndice	46
Referências Bibliográficas	60

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Desenho esquemático mostrando estômago aberto ao longo da curvatura maior, com numeração indicando locais de onde foram colhidas amostras para realização da histopatologia e do teste da urease ..	21
Figura 2	Tubos com amostras de mucosa gástrica para teste rápido da urease. À direita, observamos o controle negativo (coloração amarelada) e à esquerda o resultado positivo (coloração rósea)	24
Figura 3	Estômago de cão, mostrando úlceras difusamente distribuídas pelo corpo do estômago, região fúndica e cárdica (setas), ao longo da curvatura menor (macroscopia).....	32
Figura 4	A- Fotomicrografia de mucosa gástrica mostrando bactérias espiraladas do gênero <i>Helicobacter</i> (seta) no lúmen das glândulas gástricas. B - Fotomicrografia de mucosa gástrica mostrando bactérias espiraladas do gênero <i>Helicobacter</i> no muco acima do epitélio gástrico (Carbol-Fucsina – 1000X)	33
Figura 5	Fotomicrografia de mucosa gástrica mostrando ausência total de bactérias espiraladas do gênero <i>Helicobacter</i> no muco acima do epitélio gástrico (Carbol- Fucsina- 1000X)	34
Figura 6	A- Fotomicrografia de mucosa gástrica mostrando hiperemia (setas). B e C: Fotomicrografia mostrando hiperemia e infiltrado difuso de células mononucleares (setas) respectivamente nas regiões pilórica e do corpo do estômago (Hematoxilina e Eosina – 400X)	35
Figura 7	Fotomicrografia de mucosa gástrica mostrando nódulo linfóide (seta) (Hematoxilina e Eosina- 400X)	36

LISTA DE TABELAS (APÊNDICE)

Tabela 1	Estimativa de idade de cães por meio de estudo da arcada dentária	46
Tabela 2	Distribuição dos animais por faixas etárias e suas respectivas frequências	47
Tabela 3	Distribuição da intensidade da reação pelo teste da urease de acordo com a região do estômago e idade dos animais avaliados	48
Tabela 4	Distribuição da intensidade da reação pelo teste da urease de acordo com a idade dos animais avaliados (Teste de Kruskal-Wallis – II)	49
Tabela 5	Distribuição da intensidade da reação do teste da urease associados ao número de nódulos linfóides, número de células inflamatórias e número de bactérias (Teste de Kruskal-Wallis – I)	49
Tabela 6	Distribuição da casuística considerando a reatividade pelo teste da urease e o número de bactérias na região cárdica do estômago	50
Tabela 7	Distribuição da casuística considerando a reatividade pelo teste da urease e o número de bactérias na região do região fúndica do estômago.....	50
Tabela 8	Distribuição da casuística considerando a reatividade pelo teste da urease e o número de bactérias na região do corpo do estômago.....	50
Tabela 9	Distribuição da casuística considerando a reatividade pelo teste da urease e o número de bactérias na região pilórica do estômago.....	50
Tabela 10	Variação da densidade de células inflamatórias nas diferentes regiões gástricas	51
Tabela 11	Variação do número de nódulos linfóides nas diferentes regiões gástricas	51
Tabela 12	Relação entre número médio de nódulos linfóides e grau de colonização bacteriana na região cárdica do estômago.....	52
Tabela 13	Relação entre número médio de nódulos linfóides e grau de colonização bacteriana na região do região fúndica do estômago.....	53
Tabela 14	Relação entre número médio de nódulos linfóides e grau de colonização bacteriana na região do corpo do estômago.....	54
Tabela 15	Relação entre número médio de nódulos linfóides e grau de colonização bacteriana na região pilórica do estômago.....	55
Tabela 16	Relação entre número de células inflamatórias e grau de colonização bacteriana na mucosa da região cárdica do estômago.....	56

Tabela 17	Relação entre número de células inflamatórias e grau de colonização bacteriana na mucosa da região fúndica do estômago.....	57
Tabela 18	Relação entre número de células inflamatórias e grau de colonização bacteriana na mucosa do corpo do etômago.....	58
Tabela 19	Relação entre número de células inflamatórias e grau de colonização bacteriana na mucosa da região pilórica do estômago.....	59

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1	Número médio de bactérias por resultado do teste de urease e por região no estômago de cães.....	38
Gráfico 2	Número médio de bactérias <i>versus</i> número médio de células inflamatórias em cada região do estômago de cães.....	42

RESUMO

VIEIRA, Fernanda de Toledo, M. S., Universidade Federal de Viçosa, janeiro de 2004.

Freqüência e distribuição de *Helicobacter ssp* na mucosa gástrica de cães.

Orientador: João Carlos Pereira da Silva. Conselheiros: Marlene Isabel Vargas Viloria e José Antônio Viana.

A descoberta do *Helicobacter pylori* em seres humanos e a sua relação com gastrite, úlcera péptica e neoplasia gástrica, tem levado à renovação do interesse no estabelecimento da incidência e do significado clínico da bactéria em animais domésticos, especificamente cães. Existem vários relatos da presença de *Helicobacter ssp* em cães, mas a relação dessas bactérias com as alterações gástricas em cães ainda não está esclarecida. Os objetivos desse trabalho foram avaliar a presença de *Helicobacter ssp* em cães, analisar os achados macro e microscópicos, determinar a correlação entre a presença da bactéria e as alterações da mucosa gástrica, e destas com a idade, além de correlacionar a positividade do teste da urease à presença da bactéria. Durante as necropsias de 60 cães, foram coletadas amostras das regiões cárdica, fúndica, do corpo e pilórica dos estômagos para a realização do teste da urease e exame histopatológico. O teste da urease foi positivo em 95,12% dos animais. O exame histopatológico usando a coloração de Carbol- Fucsina revelou *Helicobacter ssp* em 96,66% dos animais. As alterações mais freqüentemente

observadas em preparações coradas por HE foram infiltrados de células inflamatórias, predominantemente mononucleares, hiperplasia de nódulos linfóides e hiperemia. Houve correlação entre o teste da urease e a histopatologia para o diagnóstico de *Helicobacter ssp* em cães. Não houve correlação da infecção por *Helicobacter ssp* com a idade. Também não foi demonstrada correlação entre alterações inflamatórias, na presença da bactéria, com a idade dos animais. As regiões fúndica e do corpo do estômago apresentaram maior número de resultados positivos no teste da urease e as regiões do corpo e pilórica apresentaram maior número de resultados positivos à histopatologia. Houve correlação entre o número de *Helicobacter ssp*, o número de células inflamatórias e nódulos linfóides nestas regiões. O alto percentual de cães infectados por *Helicobacter ssp* e a variação na patogenicidade entre as espécies indicam a necessidade de estudos mais aprofundados para identificação de espécies mais patogênicas e de mecanismos de patogenicidade em cães. Além disto, devido ao potencial zoonótico, grande atenção deve ser dada às helicobactérias.

ABSTRACT

VIEIRA, Fernanda de Toledo, M. S., Universidade Federal de Viçosa, janeiro de 2004.

Frequency and distribution of the *Helicobacter ssp* in gastric mucosa of the dogs.

Adviser: João Carlos Pereira da Silva. Committee Members: Marlene Isabel Vargas

Viloria and José Antônio Viana.

The discovery of *Helicobacter pylori* in human beings and its relation with gastritis, peptic ulcer and gastric neoplasia, has renewed the interest on the establishment of the incidence and on the clinical meaning of this bacteria in pets, specifically in dogs. There are several researches that indicate the presence of *Helicobacter ssp* in dogs, even though the relation of these bacteria with gastric alterations in dogs has not been clarified yet. The aim of this dissertation was to evaluate the presence of *Helicobacter ssp* in dogs, to analyse the macro and microscopic findings, determine the correlation between the presence of the bacteria with alterations in the gastric mucosa, and of these with the dogs age, and additionally to investigate the correlation of the positiveness of the urease test with the presence of the bacteria. During the necropsy of 60 dogs, samples from cardia, fundus, body, and pylorus regions were collected from the dogs' stomach for conducting the urease test and histopathologic examination. The urease test was positive in 95,12% of the animals. The histopathologic examination using Carbol-Fucsina coloration revealed *Helicobacter ssp* in 96,66% of the animals. The most frequent observed alteration in

preparations colored by HE were infiltrated with inflammatory cells, predominantly mononuclear, lymphoid nodules hyperplasia and hiperemy. Correlation between the urease test and the histopathology for the diagnostic of *Helicobacter ssp* in dogs was found. Age was not found correlated with infection by *Helicobacter ssp*. It was not found any correlation between inflamatory alterations, in the presence of the bacteria, with the age of the animals. The fundus and body stomach regions presented more positive results in the urease test and the body and pylorus regions presented more positive results in the histopathologic examination. There was correlation between the number of *Helicobacter ssp*, the number of inflamatory cells and lymphoid nodules in those regions. The high percentage of dogs infected by *Helicobacter ssp* and the variation in the patogenicity among the species indicate the necessity of further investigation for the identification of species more pathogenic and mechanisms of patogenicity in dogs. Besides, due to the zoonotic potential, further research should be done on the helicobacterias.

Introdução

As patologias gástricas agudas são diagnosticadas com relativa frequência em pequenos animais. Uma das principais manifestações dessas gastropatias é a ocorrência de episódios repetidos de vômitos em cães que podem representar um desafio diagnóstico para o clínico. Nessas circunstâncias, os exames laboratoriais e as radiografias abdominais, geralmente não indicam alterações significativas e a mucosa gástrica pode não exibir anormalidades ao exame endoscópico. Justificam o aparecimento desse quadro os infiltrados inflamatórios, a presença de parasitas e de bactérias do gênero *Helicobacter*. Com exceção das causas parasitárias, o diagnóstico definitivo requer a realização de biópsias da mucosa gástrica (WILLARD, 1997).

A descoberta do *Helicobacter pylori* em seres humanos e sua relação com gastrites, úlceras pépticas e neoplasias gástricas, tem despertado o interesse na pesquisa sobre a incidência e significado clínico desta bactéria gástrica nos animais domésticos, especificamente cães e gatos (EATON *et al*, 1996). Apesar de sua clara associação com a doença clínica no homem, há pouca informação sobre a relação entre *Helicobacter* e a enfermidade gástrica em cães e gatos (SIMPSON & BURROWS, 1997).

A associação entre a infecção por *Helicobacter* e a doença gástrica em humanos, em outros animais domésticos e selvagens, sugere que as bactérias desse gênero podem estar presentes na patogênese da gastrite em cães (BARBOSA *et al*, 1995; HERMANNNS *et al*, 1995; JALAVA *et al*, 1998; NEIGER *et al*, 1998; SIMPSON *et al*, 2000).

A presença de bactérias espiraladas no estômago de animais foi originalmente descrita há mais de 100 anos. Desde então estes microrganismos, inicialmente chamados espiroquetas, posteriormente organismos semelhantes ao *Campilobacter* e, atualmente, organismos semelhantes ao *Helicobacter*, tem sido regularmente associados a exames gástricos e às vezes a lesões histopatológicas (HERMANNNS *et al*, 1995).

A frequência aparentemente alta de helicobactérias em cães e gatos, e particularmente a presença de *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) em um grupo de gatos de laboratório, demonstram a possibilidade de os animais de companhia servirem como reservatório para a transmissão de helicobactérias para humanos (SIMPSON & BURROWS, 1997). A transmissão zoonótica de organismos espirais gástricos de cães e

gatos domésticos tem sido postulada devido à presença de bactérias com morfologia similar a *Helicobacter felis* e outros organismos gástricos semelhantes ao *Helicobacter* terem sido observadas no estômago de humanos com gastrite (HANDT *et al*, 1995).

Ao contrário do que acontece com a infecção por *H. pylori* no homem, o significado da infecção por bactérias do gênero *Helicobacter* em cães ainda não está esclarecido, sendo necessários mais estudos para determinar se as patologias gástricas dos cães podem ser atribuídas a estas bactérias (SIMPSON & BURROWS, 1997; JALAVA *et al*, 1998). Ainda não existem estudos que comprovem a participação de helicobactérias em úlceras gastroduodenais ou neoplasias gástricas em cães, o que em parte pode ser atribuída a baixa prevalência destas doenças e ao pequeno número de animais avaliados (SIMPSON *et al*, 2000). Como o *Helicobacter pylori*, *Helicobacter mustelae* e *Helicobacter heilmannii* estão associados com ulcerogênese no homem, em furões e em porcos, respectivamente, a relação destes organismos com úlceras deve também ser considerada em cães e gatos até que estudos mais conclusivos sejam desenvolvidos (OTTO *et al*, 1994; YEOMANS & KOLT, 1996).

O presente trabalho tem por objetivo avaliar a presença de *Helicobacter ssp* em cães, analisar os achados macro e microscópicos, determinar a correlação entre a presença da bactéria e as alterações da mucosa gástrica, e destas com a idade, além de correlacionar a positividade do teste da urease à presença da bactéria.

Revisão de Literatura

2.1 Estômago

2.1.1 Considerações anatômicas e fisiológicas

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

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

No antro e nas proximidades do piloro, as glândulas secretam grande quantidade de muco, contando também com expressivo número de células endócrinas, principalmente células G responsáveis pela produção de gastrina, que é uma potente estimuladora da secreção ácida (ROSS & ROMRELL, 1993; WILLARD, 1997).

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

2.1.2 Mecanismos de citoproteção gástrica

A mucosa gástrica está exposta a diversos agentes agressores como ácido clorídrico, pepsina, ácidos biliares, toxinas e outras substâncias irritantes; entretanto, sob condições normais, ela não é lesada, sendo a sua integridade mantida por uma barreira protetora. Didaticamente, os componentes desta barreira são divididos em pré-epiteliais, epiteliais e pós-epiteliais.

O componente pré-epitelial é formado pela presença de muco e bicarbonato. O muco atua como uma barreira física evitando o contato direto das células epiteliais com o ácido gástrico (WILLARD, 1997). Essa camada composta por glicoproteínas e água, desempenha importante papel protetor em razão das ligações glicoproteicas e do ácido siálico, que confere ao muco a sua propriedade gel, impenetrável a proteínas de peso molecular superior a 17.000. A como é o caso da pepsina. A camada mucoaderente armazena em seu interior água e bicarbonato. O H⁺ intraluminal difunde-se lentamente na camada de muco, sendo progressivamente neutralizado pelo bicarbonato. Além disto, a superfície do epitélio gástrico é intensamente hidrofóbica. Sugere-se que a presença de substâncias surfactantes proteja a mucosa por formar uma camada hidrofóbica entre o epitélio e o conteúdo intraluminal, diminuindo acentuadamente a área da superfície de contato de substâncias hidrossolúveis (HCl) e o epitélio (CASTRO *et al*, 1993).

O componente epitelial é constituído pelas próprias células epiteliais, que possuem a membrana apical altamente resistente à penetração de ácido. Entretanto, quando isto ocorre, este é rapidamente excretado pelas membranas laterais da célula epitelial (WILLARD, 1997). Outro importante fator dentre os mecanismos de proteção epitelial é a rápida taxa de renovação do epitélio gástrico diante de uma agressão. A renovação das células epiteliais se faz de um a três dias. Após terem sido expostas a um agente agressor, as células da superfície epitelial são esfoliadas. A seguir observa-se aumento do número de mitoses e uma rápida migração das células da região fúndica das glândulas para recobrir a superfície desnuda (BANKS, 1992; CASTRO *et al*, 1993).

O componente pós-epitelial é representado pelo fluxo sanguíneo da mucosa. Uma boa perfusão da mucosa gástrica ajuda na remoção do excesso de ácido do interior das células epiteliais e garante uma oferta adicional de bicarbonato, oxigênio e várias substâncias que são fundamentais para a maior efetividade dos mecanismos de citoproteção. O fluxo sanguíneo está relacionado com a produção e secreção de muco e bicarbonato, principais constituintes da barreira de proteção da mucosa (WILLARD, 1997). Uma das propriedades das prostaglandinas (PGE) é aumentar o fluxo sanguíneo, favorecendo a oxigenação adequada (necessária para a reparação tissular) e promovendo rápida remoção dos íons H⁺ dos tecidos (lesivos para a célula), protegendo assim a mucosa contra a ação de diferentes agentes agressores. O transporte ativo de sódio e cloreto seria outro mecanismo relacionado com integridade celular. Quando ocorre o comprometimento desse transporte, o acúmulo de íons H⁺ resulta na retenção de água, com conseqüente edema celular e alteração de permeabilidade (CASTRO *et al*, 1993).

2.2 O gênero *Helicobacter*

2.2.1 Histórico

A presença de organismos espiralados gástricos em animais foi documentada por Rappin, em 1881, citado por STRAUSS-AYALI & SIMPSON (1999) que os observaram no estômago de cães, fato esse confirmado pouco mais tarde por Bizzozero em 1893 citado por DOOLEY (1993).

Em 1896, Salomon citado por STRAUSS-AYALI & SIMPSON (1999) investigou diferentes espécies de animais domésticos e silvestres, e constatou a presença de organismos espiralados no lúmen de glândulas fúndicas e em canalículos intracelulares de células parietais de cães, gatos e ratos.

Os primeiros organismos espirais gástricos em humanos foram descritos por Bottcher em 1874 e em 1906 citado por STRAUSS-AYALI & SIMPSON (1999), em pacientes com carcinoma gástrico. Em humanos, o *Helicobacter pylori* é o agente mais prevalente na gastrite superficial difusa crônica, exercendo papel central nas úlceras pépticas e considerado coadjuvante no desenvolvimento das neoplasias gástricas; (LAVELLE *et al*, 1994; GENTA *et al*, 1994; HANDT *et al*, 1995; HERMANNNS *et al*,

1995; EATON *et al*, 1996; JALAVA *et al*, 1998; LEE, 1998; NEIGER *et al*, 1998; DORE *et al*, 1999; SVEC *et al*, 2000; ISRAEL & PEEK, 2001).

Após a descoberta da relação entre *H. pylori* e a doença gástrica humana, várias bactérias espiraladas foram identificadas e descritas em diferentes espécies animais incluindo cães, gatos, furões, porcos, bezerros, guepardos, ovelhas, e várias espécies de macacos (HERMANNNS *et al*, 1995; NEIGER *et al*, 1998). Inicialmente, essas bactérias foram classificadas no gênero *Campylobacter*, mas devido a algumas diferenças observadas, o novo gênero *Helicobacter* foi sugerido em 1989 (HERMANNNS *et al*, 1995; MYSOREKAR *et al*, 1999).

2.2.2 Fatores de virulência

Os organismos semelhantes ao *Helicobacter* são bactérias espirais gram negativas, flageladas, microaerófilas (HERMANNNS *et al*, 1995), oxidase, catalase e urease positivas (MONTGOMERY *et al*, 1988). Com seus múltiplos flagelos e movimentos serpentiformes são capazes de atravessar a camada de muco que recobre o estômago antes de ser destruída pelo suco gástrico, atingindo assim, a superfície epitelial e as criptas gástricas. Nestes locais, encontra um microambiente alcalino proporcionado pela secreção de bicarbonato das células epiteliais, sendo protegido da acidez gástrica pela mucosa subjacente (CASTRO *et al*, 1993).

MARSHAL (1995) demonstrou que o *H. pylori* sobrevive muito bem em meio de pH 4 – 4,5, mas a sobrevivência já se torna bastante reduzida em pH 3,5. A adição de uréia, contudo, protege completamente o microrganismo até em pH 1,5. Com toda a probabilidade, a bactéria fica imersa em uma atmosfera contendo amônia, resultante da degradação da uréia pela urease produzida pelo próprio microrganismo, diminuindo assim a concentração de íons hidrogênio no microambiente em que vive.

H. pylori possui um canal de membrana que neutraliza o ácido através de controle efetivo da quantidade amônia pela bactéria para combater o ácido gástrico permitindo a sobrevivência e crescimento no estômago. Isto é possível pela ativação da urease citoplasmática que converte a uréia em dióxido de carbono e amônia. A amônia primeiro neutraliza o ácido gástrico que tem contato com o exterior da membrana, prevenindo a entrada de ácido pela membrana bacteriana. O canal responsável pelo controle da passagem

da uréia para o interior da bactéria é regulado pela proteína Ure I , resultando em produção suficiente de amônia para neutralizar a membrana bacteriana (BERGER, 2000).

O ácido gástrico e o peristaltismo normalmente inibem a colonização do estômago. Contudo, a seleção natural forneceu às helicobactérias vários mecanismos para escapar destas defesas primárias e estabelecer uma infecção persistente como a habilidade de suportar o pH ácido gástrico e a motilidade, bem como a produção de urease e o microaerofilismo (ISRAEL & PEEK, 2001).

A investigação intensa sobre a biologia e a patogenicidade das helicobactérias está ajudando a determinar precisamente como o *Helicobacter* causa lesões gástricas e tem levado à descoberta de uma variedade de fatores que facilitam a colonização e causam danos gástricos. Dentre estes fatores se destacam a urease, os lipopolissacarídeos, as citocinas vacuolizadoras, a mucinase, a lipase e a hemolisina. Em humanos, a investigação sobre a fixação do *H. pylori* na célula, sugere que os indivíduos com certos grupos sanguíneos possuem proteínas gástricas que permitem a fixação e a colonização (SIMPSON & BURROWS, 1997). Segundo HANDT *et al* (1995), vários mecanismos de aderência foram identificados, incluindo formação de projeções semelhantes a uma coluna entre a bactéria e as células epiteliais. Estas estruturas podem ser importantes para o sinal de transdução ou troca de material entre a bactéria e a célula epitelial.

Os flagelos e a produção de urease são fatores de virulência necessários para a colonização e a patogenia desses organismos e estão presentes em todas as linhagens (VANDENPLAS & BADRIUL, 1999). Os flagelos permitem a locomoção das bactérias através do muco, possibilitando a colonização persistente (JENKINS & BASSET, 1997). A urease hidrolisa a uréia em amônia e bicarbonato, o que resulta em um microambiente de pH neutro na camada de muco circunjacente aos microrganismos (VANDENPLAS & BADRIUL, 1999). Isto possibilita a sobrevivência das bactérias em um ambiente anteriormente considerado estéril devido ao baixo pH e à presença de enzimas proteolíticas (DUBOIS, 1995). A amônia é um nutriente para as bactérias e causa lesões na mucosa gástrica. A urease também estimula a liberação de mediadores inflamatórios, como as interleucinas e o fator de necrose tumoral-alfa (VANDENPLAS & BADRIUL, 1999). Linhagens de *H. pylori* isoladas de pacientes humanos com câncer gástrico apresentaram atividade mais intensa de urease que aquelas isoladas de pacientes não portadores de câncer (FIGURA & TABAQCHALI, 1996).

Sabe-se que o *H. pylori* produz outras enzimas com funções metabólicas, antioxidantes e tóxicas, o que possibilita a colonização, induz a resposta inflamatória e causa lesões na mucosa gástrica (FERGUSON *et al*, 1993). Diferentes tipos de fosfolipases alteram as propriedades hidrofóbicas da mucosa e do muco gástricos e podem gerar substâncias ulcerogênicas. Mucinase, neuraminidase, fucosidase, superóxido-dismutase e desidrogenase alcoólica são algumas das enzimas produzidas pelo *H. pylori* (VANDENPLAS & BADRIUL, 1999).

A maioria dos determinantes de patogenicidade do *H. pylori* está presente em todos os isolados, enquanto alguns só são expressos por certas linhagens (FIGURA, 1997). Os genes VacA e CagA são importantes fatores de virulência do *H. pylori* e contribuem para as diferenças na patogenia das bactérias e nos sinais clínicos da infecção. Úlceras pépticas, atrofia gástrica e carcinoma gástrico são mais comuns em pacientes infectados pelas linhagens CagA+ e combinação de alelos s1/ml do gene VacA (SIMPSON & BURROWS, 1997). O gene Vac A codifica a citocina vacuolizadora e está presente em aproximadamente 50% das espécies de *H. pylori*. Isso explica, em parte, porque apenas uma minoria de indivíduos infectados desenvolve úlceras pépticas, e um número ainda menor desenvolve câncer gástrico; tais indivíduos podem ter sido infectados por linhagens mais virulentas de *H. pylori* (FIGURA, 1997; HARDIN & WRIGHT, 2002).

Outro mecanismo de patogenicidade é o mimetismo molecular no qual o *H. pylori* apresenta epítomos bacterianos similares à estrutura do epitélio gástrico do hospedeiro induzindo-o a desenvolver uma resposta auto-imune contra a mucosa gástrica (VANDENPLAS & BADRIUL, 1999). CASTRO *et al* (1993) citaram o mecanismo de aderência do *Helicobacter* à membrana como causador de alterações citopáticas como diminuição e perda de microvilosidades, edema intracelular, diminuição das reservas de muco e modificação da superfície luminal das células, que se tornam deprimidas e rugosas.

O *H. pylori* lesa o muco protetor da mucosa, através da produção de mucinase, resultando em viscosidade reduzida. Esta propicia o aumento da retrodifusão de íons hidrogênio e, com isso, abre caminho para que fatores agressivos do lúmen, especialmente ácido e pepsina, ameacem inclusive os próprios microrganismos. O epitélio já lesado pela presença da bactéria pode ulcerar-se focalmente ao ser atingido pelos agentes agressivos. Postula-se que a bactéria, sendo sensível às alterações do pH neste microambiente, migra para outra área onde a camada de muco é íntegra e, portanto, protetora. A área inflamada,

livre de microrganismos, poderá regenerar sua camada de muco ou sofrer ulceração, na dependência do equilíbrio entre fatores de agressão e de defesa. Este ciclo se repetiria em outras áreas recém colonizadas. Esta hipótese é coerente com a distribuição esparsa e ampla da gastrite por *H. pylori*, além de explicar o encontro ocasional desta bactéria no epitélio gástrico normal. Explica também o risco aumentado de úlcera duodenal em indivíduos com *H. pylori* nas áreas de metaplasia gástrica no duodeno. Em virtude da seletividade gástrica de sua colonização, esse agente, depois de alterar a camada de muco seria incapaz de migrar para áreas íntegras já que a metaplasia gástrica no duodeno é frequentemente focal. Assim, a mucosa seria continuamente lesada até que o microrganismo fosse destruído pelo ácido e pela pepsina e, com menor chance de se regenerar, sofreria ulceração (CASTRO *et al*, 1993). Segundo AEBISCHER *et al* (2000), *H. pylori* é capaz de romper o fluxo mucoso na região onde se instala, podendo interferir ativamente na produção de muco. Além disso, a renovação celular do estômago glândular parece ser controlada pelo TGF (e EGF). Sabe-se que o *H. pylori* inibe a ligação do EGF ao seu receptor que media o sinal de transdução das células epiteliais.

PERKINS *et al* (1996), disponibilizaram informações que associam hipergastrinemia em humanos com helicobactérias e comprovaram que o mesmo ocorreu em furões naturalmente infectados com *H. mustelae*, além de citarem que a erradicação do microrganismo leva à resolução da hipergastrinemia. O *Helicobacter* induzindo hipergastrinemia pode ser relacionado com a patogênese da úlcera péptica em furões, bem como em outros animais infectados com *Helicobacter ssp*. A combinação dos efeitos tróficos sobre as células parietais e a potente estimulação da secreção ácida pela gastrina podem levar ao aumento dos danos à mucosa gastrointestinal e formação de úlceras. Essa hipersecreção anormal de gastrina pode ser o elemento chave na patogênese do *Helicobacter* associado com úlcera péptica. Uma corrente de pesquisadores propõe mecanismos com os quais *H. pylori* induz hipergastrinemia em humanos, incluindo estimulação de células G por aminas ou peptídeos produzidos por esse microorganismo, estimulação de células G por citocinas liberadas por células inflamatórias atribuídas à presença do *H. pylori* e destruição seletiva ou inibição de células produtoras de somatostatina, levando à diminuição do efeito inibidor da gastrina.

2.2.3 *Helicobacter* ssp. em cães

A associação entre infecção por *Helicobacter* e doença gástrica em humanos, furões, guepardos, macacos (NEIGER *et al*, 1998), bezerros (HERMANNNS *et al*, 1995), ovinos (JALAVA *et al*, 1998) e suínos (BARBOSA *et al*, 1995) sugere que as bactérias desse gênero podem estar presentes na patogênese da gastrite em cães (SIMPSON *et al*, 2000). Apesar de sua clara associação com a doença clínica no homem, há pouca informação sobre a relação entre helicobactérias e a enfermidade gástrica em cães (SIMPSON & BURROWS, 1997).

Cães e gatos têm demonstrado serem infectados por várias espécies de *Helicobacter*, como *H. felis*, *H. heilmannii* (HAPPONEN *et al*, 1996 a), *H. bizzozeronii*, *H. bitis* (SIMPSON & BURROWS, 1997), *H. salomonis* e *H. rappini* (JALAVA *et al*, 1998). Embora estejam comumente associadas ao estômago, algumas espécies como *H. canis* podem colonizar também o intestino e o fígado (SIMPSON & BURROWS, 1997).

A ocorrência de organismos semelhantes ao *Helicobacter* tem sido estudada em cães e gatos clinicamente saudáveis, bem como naqueles com sintomas gastrointestinais (GEYER *et al*, 1993; HAPPONEN *et al*, 1996 b).

Segundo JALAVA *et al* (1998), a infecção experimental de Beagles com *H. felis* causou gastrite nesses animais. Várias espécies de primatas não humanos desenvolvem gastrite crônica quando infectados natural ou experimentalmente por *H. pylori* (HANDT *et al*, 1995). Segundo LEE *et al* (1992), a inoculação de *H. pylori* em suínos e cães induziu gastrite crônica similar à gastrite associada com *H. pylori* em crianças.

A infecção por helicobactérias parece ser muito frequente em cães e gatos, sendo demonstrado taxa de infecção de 100% em cães da raça Beagle (SIMPSON & BURROWS, 1997). Trabalho realizado com biópsias gástricas da região fúndica de 122 cães determinou uma taxa de 82% de infecção (HERMANNNS *et al*, 1995). De acordo com NEIGER *et al* (1998), a prevalência de organismos gástricos semelhantes ao *H. pylori* em gatos varia de 57 a 100%. Além disto, nessa espécie, essas bactérias têm sido encontrados com maior frequência em adultos do que em jovens (HAPPONEN *et al*, 1996 b). GEYER *et al* (1993) salientaram não haver correlação entre alterações inflamatórias na presença da bactéria com a idade do animal. Contudo, existem poucos estudos relacionados com

avaliação da frequência de bactéria gástrica em cães e gatos com a sua patogenicidade (EATON *et al*, 1996).

Ao contrário do que acontece com a infecção por *H. pylori* no homem, o significado da infecção por helicobactérias em cães ainda não está esclarecido, sendo necessários mais estudos para determinar se as patologias gástricas dos cães podem ser atribuídas a estas bactérias, apesar da alta frequência de infecção (SIMPSON & BURROWS, 1997; JALAVA *et al*, 1998).

De acordo com HERMANNNS *et al* (1995), sinais clínicos não foram usualmente observados em animais infectados com bactérias do gênero *Helicobacter*. Já SIMPSON e BURROWS (1997) assinalaram que é importante considerar que o curto espaço de tempo na maioria dos estudos experimentais (meses), pode não permitir o desenvolvimento da inflamação em cães. Em casos isolados, vômito e alterações histopatológicas da mucosa podem estar associadas a infecção por bactéria gástrica (GEYER *et al*, 1993).

Organismos gástricos semelhantes ao *Helicobacter* em cães e gatos têm sido encontrados em todas as regiões gástricas (HAPPONEN *et al*, 1996 b), sendo mais frequentes nas regiões cárdica, fúndica e pilórica (HERMANNNS *et al*, 1995; LEE *et al*, 1992). De acordo com Oshikawa (1923) (citado por HERMANNNS *et al*, 1995), eles ocorreriam em glândulas gástricas contendo células parietais e são encontrados em canalículos intracelulares, bem como no seu citoplasma, podendo ser observados em grande número no muco que cobre a superfície epitelial.

2.2.4 Helicobacter e alterações histopatológicas em cães

Durante os últimos anos tem-se tornado clara a evidência de que *H. pylori* é causa frequente de gastrite crônica ativa ou úlcera duodenal em seres humanos. Embora úlceras gastrointestinais apresentem menor relevância em animais domésticos, sinais clínicos envolvendo vômitos são frequentes e podem representar um desafio diagnóstico para o clínico (GEYER *et al*, 1993; WILLARD, 1997).

As helicobactérias têm sido descritas em animais clinicamente sadios e seu significado patológico é controverso (LEE *et al*, 1992; GEYER *et al*, 1993; HAPPONEN *et al*, 1996 b; EATON *et al*, 1996). Em casos isolados, vômitos e alterações

histopatológicas na mucosa das glândulas fúndicas têm sido associados a infecção pela bactéria (EATON *et al*, 1996; HAPPONEN *et al*, 1996 b; YAMASAKI *et al*, 1998).

A prevalência da infecção por *Helicobacter ssp* em cães tem variado de 82 a 100% em estudos realizados (HERMANNNS *et al*, 1995; SIMPSON & BURROWS, 1997). Em razão desta alta prevalência, sugere-se que estas bactérias não apresentem potencial patogênico para os animais domésticos. Contudo, em humanos, a prevalência do *H. pylori* é superior a 90% e, embora apenas 10 a 15% dos indivíduos desenvolvam sinais clínicos, a bactéria é comprovadamente patogênica para o homem (SIMPSON *et al*, 2000).

A relação entre o *Helicobacter ssp.* e a inflamação da mucosa gástrica em cães e gatos não é bem conhecida (NEIGER & SIMPSON, 2000). Inflamação, degeneração e hiperplasia de nódulos linfóides acompanham a infecção em alguns, mas não em todos os casos (LEE *et al*, 1992; EATON *et al*, 1996; HAPPONEN *et al*, 1996 b; YAMASAKI *et al*, 1998; NEIGER & SIMPSON, 2000).

Segundo ISRAEL e PEEK (2001), em humanos, todos os indivíduos portadores de *H. pylori* têm inflamação gástrica coexistente. Contudo, apenas pequena parcela de indivíduos colonizados desenvolve sinais clínicos. O aumento do risco pode estar relacionado a diferenças na expressão de produtos específicos da bactéria, variações na resposta inflamatória do hospedeiro à bactéria ou a interações específicas entre o hospedeiro e o microrganismo.

Anatomicamente, as helicobactérias têm sido encontradas em todo o estômago, com maior frequência na região cárdica e na junção região fúndica-piloro, de acordo com LEE *et al* (1992) e nas regiões fúndica e do corpo, segundo HANDT *et al* (1995) e HAPPONEN *et al* (1996 b).

As helicobactérias localizam-se na superfície do muco, região fúndica das glândulas gástricas, lúmen de glândulas gástricas e nos canalículos intracelulares das células parietais (GEYER *et al*, 1993; EATON *et al*, 1996).

A maioria dos casos de infecção por helicobactérias em cães é caracterizada por gastrite leve assintomática (HAPPONEN *et al*, 1996 b) e gastrite linfocítica de grau leve a moderado (EATON *et al*, 1996). Dentre as alterações observadas em infecções por helicobactérias em cães são citadas hiperplasia, vacuolização e necrose de células parietais, infiltrado inflamatório com predomínio de linfócitos e histiócitos (YAMASAKI *et al*,

1998). Ocasionalmente, o lúmen glandular e canálculos intracelulares estão dilatados na presença dos microrganismos (GEYER *et al*, 1993; YAMASAKI *et al*, 1998).

Alterações degenerativas como vacuolização do citoplasma de células epiteliais, cariorrexe, picnose e necrose de glândulas isoladas foram observadas por GEYER *et al* (1993) e YAMASAKI *et al* (1998). Segundo YAMASAKI *et al* (1998), mesmo os animais que apresentavam alterações, permanecem clinicamente normais, sugerindo pouca relevância das alterações encontradas.

Outro estudo relatou associação de infecção por helicobactérias com um baixo grau de alterações inflamatórias, incluindo edemaciação da lâmina própria, infiltrado neutrofílico intra-epitelial e infiltrado linfoplasmocitário na lâmina própria (GEYER *et al*, 1993). Eosinófilos têm sido encontrados como componentes da resposta inflamatória a helicobactérias em alguns seres humanos e em animais, particularmente durante a fase aguda da infecção (HANDT *et al*, 1995).

Em humanos, marcantes alterações histopatológicas como gastrite atrófica crônica e metaplasia intestinal estão associadas à infecção por *H. pylori* (MYSOREKAR *et al*, 1999).

A realização de biópsias gástricas em pequenos animais é de extrema importância para a obtenção e investigação do significado nosológico dos organismos gástricos semelhantes ao *Helicobacter* (GEYER *et al*, 1993).

Estudo utilizando biópsias gástricas da região fúndica de 122 cães, onde 82% apresentaram infecção por *Helicobacter ssp*, revelou alterações histopatológicas como degeneração glandular com acúmulo de linfócitos e granulócitos neutrófilos (21%); fibrose da lâmina própria (41%); hiperplasia de nódulos linfóides (17%) e infiltrados linfoplasmocitários. Contudo, não foi possível averiguar se a presença da bactéria e o grau de colonização foram responsáveis pelas alterações histopatológicas (HERMANNNS *et al*, 1995).

2.2.5 Helicobacter e nódulos linfóides

Embora nódulos linfóides no intestino delgado e cólon sejam uma característica do trato gastrointestinal, eles não estão usualmente presentes no estômago normal. Em 1988, WYATT e RATHBONE, citados por STOLTE e EIDT (1989), demonstraram pela primeira vez que a hiperplasia de nódulos linfóides, aparentemente, representava uma

resposta ao *H. pylori*. Depois disto, agregados linfóides têm sido descritos em elevada proporção de biópsias gástricas de pacientes com *H. pylori* associados à gastrite (STOLTE & EIDT, 1989; BARKER *et al*, 1992; GENTA & HAMNER, 1994; HANDT *et al*, 1995; MYSOREKAR *et al*, 1999).

STOLTE e EIDT (1989) relataram presença de nódulos linfóides em 54% dos casos de gastrite associados ao *H. pylori*. Análises estatísticas demonstraram forte correlação entre gastrite e hiperplasia de nódulos linfóides. O grau de gastrite por sua vez, depende da severidade da colonização da mucosa.

GENTA e HAMNER (1994) encontraram nódulos linfóides em 91,8% de pacientes *H. pylori* positivos, sugerindo que o achado de agregado linfóide com centro germinativo em fragmento de mucosa gástrica, está associado à elevada probabilidade (> 90%) de detecção de *H. pylori*.

Em alguns casos, nódulos linfóides podem estar presentes na ausência de *H. pylori* em pacientes que erradicaram a infecção recentemente (MYSOREKAR *et al*, 1999).

Em gatos, a infecção por *H. pylori* foi associada a gastrite linfocelular caracterizada pela presença de agregados linfóides na mucosa, especialmente no antro, similar ao que ocorre pela infecção por organismos gástricos semelhantes ao *H. pylori* (HANDT *et al*, 1995). Em outro estudo, cães infectados experimentalmente com *H. felis* desenvolveram grande número de nódulos linfóides ao longo da mucosa (RADIM *et al*, 1990).

Dados de HANDT *et al* (1995), destacaram que a elevada prevalência de nódulos linfóides associados à infecção por organismos gástricos semelhantes ao *Helicobacter* em cães e gatos indica que os nódulos linfóides encontrados na mucosa gástrica de pequenos animais são, na maioria dos casos, formados por estimulação dos organismos gástricos semelhantes ao *Helicobacter*, estando relacionados principalmente à infecção crônica de acordo com STOLTE e EIDT (1989). Em humanos tem-se hipotetizado que o folículo linfóide na mucosa gástrica pode resultar de estimulação antigênica (*H. pylori*) crônica, e portanto, representa uma resposta imune direcionada contra o organismo (HANDT *et al*, 1995).

O desenvolvimento de nódulos linfóides na mucosa gástrica associados à presença de *H. pylori* pode fornecer evidências da efetividade dos mecanismos da imunidade local da mucosa gástrica e na patogênese da gastrite crônica ativa. Além disso, tanto as

observações celulares como as epidemiológicas têm demonstrado elevada associação entre linfoma gástrico e a elevada prevalência de infecção por *H. pylori*, em algumas partes do mundo (GENTA & HAMNER, 1994; MYSOREKAR *et al*, 1999).

No homem, a hiperplasia de nódulos linfóides está associada à gastrite crônica ativa e constitui-se num indicador da infecção por *H. pylori* (GENTA & HAMNER, 1994).

2.2.6 Transmissão

O entendimento das vias de transmissão pelas quais a infecção por *H. pylori* se estabelece, é fundamental para o desenvolvimento de estratégias para o controle da infecção. A principal forma de transmissão da bactéria é ainda incerta, mas as vias oral – oral ou fecal – oral são tidas como as mais prováveis (GEYER *et al*, 1993; HANDT *et al*, 1995; LECOINDRE *et al*, 1997; MEINING *et al*, 1998; STRAUSS-AYALI & SIMPSON, 1999). Além destas, existem relatos de que a transmissão pode ocorrer pela forma iatrogênica devido à utilização de endoscópios e sondas, uma vez que até mesmo endoscópios desinfetados de acordo com as constatações podem apresentar contaminação por DNA de *H. pylori* (GOODMAM & CORREA, 1995).

O *H. pylori* já foi isolado de superfícies externas, intestinos e excretas de moscas (*Musca doméstica*), o que sugere que tais insetos podem atuar como vetores na transmissão do agente, por meio da contaminação de alimentos consumidos por seres humanos (GRUBEL *et al*, 1997).

A via de transmissão fecal – oral foi primeiramente sugerida, devido ao sucesso obtido no isolamento do microorganismo através da cultura de fezes (STRAUSS-AYALI & SIMPSON, 1999). Estudo relatou a capacidade de sobrevivência no leite por vários dias, sugerindo que o leite contaminado por fezes que contenham *H. pylori* pode ser potencialmente infeccioso (FOX, 1995; DORE *et al*, 1999). Além disto, observou-se aumento do risco de transmissão, principalmente de *H. heilmannii*, de animais ao homem, devido a exposição às fezes desses (MEINING *et al*, 1998). Neste contexto, LECOINDRE *et al* (1997) citaram que a infecção por helicobactérias em cães pode chegar a 100% em animais que vivem em coletividade (canil, abrigos), ao passo que em animais de companhia a infecção pode variar de 45 a 80%.

A descoberta de que *H. pylori* pode sobreviver por mais de um ano em água de rio, associado ao achado de helicobactérias em fezes de furões (*H. mustelae*) e de humanos (*H. pylori*), levantou a possibilidade de contaminação dos rios com fezes, constituindo-se em uma fonte de infecção (FOX, 1995; VELÁZQUEZ & FEIRTAG, 1999). A identificação da presença de *H. pylori* em reservatórios de água dos E.U.A e da Suécia evidencia ainda mais a possibilidade de transmissão pela água (STRAUSS-AYALI & SIMPSON, 1999).

A via oral – oral foi sugerida após isolamento de *H. pylori* em saliva de pessoas infectadas (STRAUSS-AYALI & SIMPSON, 1999) e em saliva e líquido gástrico de carnívoros domésticos. O hábito que os animais têm de lambem sua pelagem, a ocorrência freqüente de vômitos e o íntimo contato com seus proprietários e/ou com outros animais da mesma espécie aumentam a incidência da transmissão por esta via (LECOINDRE *et al*, 1997). Este fato pode ser confirmado pela determinação por um estudo de que gastroenterologistas apresentam maior risco de infecção em comparação com o grupo controle. Estes resultados sugerem que a infecção oral através de micro gotas de suco gástrico através da manipulação dos instrumentos endoscópicos constitui-se em uma importante forma de transmissão (HILDEBRAND *et al*, 2000).

A cavidade oral tem sido proposta como reservatório da infecção e reinfecção pelo *H. pylori*, pois a regurgitação do suco gástrico pode contaminar a boca predispondo a colonização por essa bactéria por tempo não determinado. Além disso, observa-se que o tratamento da infecção por via sistêmica não erradica o agente em placa dentária, permitindo que a boca atue como reservatório permanente da bactéria (KODAIRA *et al*, 2002).

A ingestão de alimentos mal higienizados pode também ser importante fonte de contaminação. Um grande estudo epidemiológico com 1815 chilenos adultos mostrou associação entre ingestão de vegetais crus com aumento da infecção por *H. pylori* (FOX, 1995). Além disto, estudos relataram más condições de higiene como fator determinante para a infecção por helicobactérias nos homens e nos animais (FOX, 1995; LECOINDRE *et al*, 1997; VELÁZQUEZ & FEIRTAG, 1999; KODAIRA *et al*, 2002).

2.2.7 Potencial Zoonótico

O início da pesquisa das helicobactérias em animais surgiu da necessidade de se encontrar um modelo animal para o estudo da infecção por *H. pylori*, já que no homem sua infecção está associada a dispepsia, gastrite, úlcera, adenocarcinoma e linfoma gástrico.

Evidências consideram o potencial dos animais, principalmente os domésticos, serem a fonte da infecção zoonótica das helicobactérias, já que bactérias com morfologia similar ao *H. felis* e outros organismos gástricos semelhantes ao *H. pylori* foram observados no estômago de humanos com gastrite (HANDT *et al*, 1995). Grande atenção deve ser dada a esse fato visto que aproximadamente 40% da população mundial possui animais de companhia em casa (McISAAC & LEUNG, 1999), além do elevado contato com os outros animais, estabelecidos pelo homem, principalmente em áreas rurais (DORE *et al*, 1999).

Vários estudos soroepidemiológicos atribuíram aos animais, importante papel na origem da infecção, devido a elevada prevalência de anticorpos contra *H. pylori* em indivíduos que mantinham uma relação mais estreita com animais, tais como funcionários de frigoríficos (abatedouros), veterinários, açougueiros, sugerindo que o *H. pylori* pode ser transmitido de animais ao homem (DORE *et al*, 1999).

Acredita-se que a infecção por *H. heilmannii* seja transmitida ao homem por animais domésticos, particularmente porcos, cães e gatos que são considerados reservatórios desta bactéria (MEINING *et al*, 1998). Diferente do *H. pylori*, o qual é primariamente um patógeno humano, os hospedeiros primários do *H. heilmannii* são animais. Foi notificado elevada prevalência de *H. heilmannii* associada a gastrite em pessoas residentes em áreas rurais, onde o contato homem – animal é geralmente mais comum (JALAVA *et al*, 1998; SVEC *et al*, 2000), uma vez que a vida rural envolve não somente trabalho na agricultura, mas também a criação de bovinos, suínos, cães, gatos e outros animais domésticos para necessidades básicas e outros propósitos (SVEC *et al*, 2000). Estudo revelou significativa diferença entre pessoas infectadas com *H. pylori* ou *H. heilmannii* em relação a contato com animais, onde dos pacientes infectados com *H. heilmannii* 86,5% tinham contato com um ou mais animais em comparação com 48,2% daqueles infectados por *H. pylori* (MEINING *et al*, 1998).

Segundo HANDT *et al* (1995), existem descrições de *H. pylori* em gatos sugerindo o potencial zoonótico deste patógeno, com a transmissão podendo ocorrer de gatos a humanos e vice – versa. O potencial dos gatos domésticos agirem como reservatório ambiental para o *H. pylori* induziu uma nova dimensão dentro da epidemiologia da doença em humanos e também levantou a possibilidade de outros animais domésticos funcionarem como reservatório para o *H. pylori*.

De acordo com FOX (1995), cães são susceptíveis a infecção experimental por *H. pylori*, levantando a hipótese de que estes também podem ser reservatórios naturais dessa bactéria.

Além do *H. heilmannii*, o *H. felis* também foi ocasionalmente observado no estômago humano (HANDT *et al*, 1995; JALAVA *et al*, 1998). A frequência aparentemente alta de helicobactérias em cães e gatos e, particularmente a presença de *H. pylori* em um grupo de gatos de laboratório, demonstraram a possibilidade dos animais de companhia poderem servir como reservatório para a transmissão de helicobactérias para humanos (SIMPSON & BURROWS, 1997). Um pesquisador que trabalhava com estômagos de gatos desenvolveu gastrite aguda e úlcera gástrica, presumivelmente causada pelo *H. felis*. Bactérias morfológicamente idênticas àquelas nele encontradas, foram observadas à microscopia eletrônica, e na mucosa gástrica dos gatos utilizados no seu experimento (LAVELLE *et al*, 1994).

Outro estudo revelou, entre pastores de ovelhas, que 98% eram soro positivo, sendo esta prevalência significativamente maior que a encontrada nos outros membros da família que não tinham contato com animais (73%).

Outras helicobactérias podem infectar o estômago de animais, apresentando pequeno, mas real potencial zoonótico (NEIGER & SIMPSON, 2000). Há relatos mostrando que o risco de transmissão de *H. heilmannii* entre animais e o homem é muito baixo, tendo sido encontrado em 0,3% das gastroscopias, comparando com *H. pylori* (encontrado em 30 a 100% das gastroscopias), apesar da freqüente ocorrência daqueles organismos em cães e gatos, do grande número de animais de companhia e do íntimo contato com humanos (EATON *et al*, 1996; STRAUSS-AYALI & SIMPSON, 1999).

A verdadeira ocorrência da infecção por *H. heilmannii* e *H. felis* em humanos pode ser desconhecida, uma vez que os métodos diagnósticos rotineiramente usados no homem (teste respiratório com uréia marcada e sorologia) não distinguem as espécies. Portanto,

alguns casos de gastrite humana podem ser causados por *H. heilmanni* ou *H. felis* e não por *H. pylori* (ARAUJO, 2002).

Apesar das evidências relatadas anteriormente, um outro estudo não encontrou associação entre a posse de animais domésticos e o histórico de doenças gástricas. Contudo, certas limitações podem ter contribuído para o resultado negativo (McISAAC & LEUNG, 1999).

2.2.8 - Métodos diagnósticos

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

O teste da urease é simples, rápido e barato e baseia-se na produção de urease pelas bactérias. A urease hidrolisa a uréia em amônia e bicarbonato, aumentando o pH local (MONTGOMERY *et al*, 1988; STRAUSS-AYALI & SIMPSON, 1999). Para realização do diagnóstico existem kits comerciais que contém uma combinação de uréia e um indicador de pH. Outra forma de realizar o teste é preparar tubos com uréia a 10% em água destilada e vermelho de fenol como indicador de pH. A mudança para a cor rosa indica resultado positivo, e o tempo decorrido até a alteração da cor está diretamente relacionado à concentração de bactérias presentes no fragmento (FOX *et al*, 1995; SIMPSON & BURROWS, 1997). Segundo HAHN *et al* (2000), o teste da urease para a detecção de helicobactérias apresenta sensibilidade de 80 a 90%. A presença de outros microorganismos produtores de urease (*Proteus mirabilis*, *Pseudomonas aeruginosa*) pode gerar resultados falsos positivos, e resultados falsos negativos podem ocorrer quando o número de bactérias *Helicobacter* é pequeno (HAPPONEN *et al*, 1996 a). Por isso, o exame histológico por meio de biópsias gástricas é recomendado para o diagnóstico definitivo (HAHN *et al*, 2000).

A citologia é um método sensível, pouco invasivo, de procedimento fácil e permite rápido diagnóstico. As helicobactérias podem ser visualizadas facilmente através da coloração pelo Gram (MONTGOMERY *et al*, 1988; STRAUSS-AYALI & SIMPSON, 1999).

Para histopatologia, múltiplas biópsias devem ser obtidas de diferentes áreas do estômago devido à distribuição irregular das bactérias. A histopatologia tem vantagem de permitir a avaliação das alterações teciduais (Hematoxilina e Eosina), a presença de células inflamatórias (HE) e a localização das bactérias na mucosa gástrica (Carbol – Fucsina) (DOOLEY, 1993; STRAUSS-AYALI & SIMPSON, 1999).

Para identificação das helicobactérias é necessário a utilização de métodos especiais como coloração pela prata (Warthin Starry e Steiner Modificado) ou Carbol – Fucsina (Fucsina Fenicada) (STRAUSS-AYALI & SIMPSON, 1999). Um novo método que combina três colorações rotineiramente utilizadas (HE, Steiner e Alcian Blue), permite a visualização simultânea das bactérias e da morfologia da mucosa gástrica (GENTA *et al*, 1994).

Devido às exigências especiais dos organismos, a cultura de *Helicobacter ssp* é difícil e sua sensibilidade é baixa (15,4% - 51%) quando comparada a outros métodos diagnósticos (HAPPONEN *et al*, 1996 a; STRAUSS-AYALI & SIMPSON, 1999).

A microscopia eletrônica e o PCR podem ser utilizadas para identificar as espécies de *Helicobacter*, mas a disponibilidade limitada e o elevado custo restringem o emprego destes métodos (STRAUSS-AYALI & SIMPSON, 1999).

O diagnóstico da infecção por helicobactérias como causa de gastrite é importante porque a melhora da inflamação e dos sinais clínicos só é obtida após a erradicação dos microrganismos. Em pacientes humanos com linfoma gástrico, a erradicação do *H. pylori* leva à regressão do linfoma, sendo muitas vezes a única terapia recomendada (ARAUJO, 2002).

Material e Métodos

3.1 Animais

Foram utilizados 60 estômagos de cães (sendo 29 fêmeas e 31 machos) de diversas raças e idades (com média de 4,9 anos) necropsiados no Hospital Veterinário da Universidade Federal de Viçosa, no período de julho de 2002 a janeiro de 2003. Grande parte dos animais, encaminhados pelo canil experimental da Universidade Federal de Viçosa (UFV) para a necropsia, não possuíam histórico clínico, enquanto os demais cães necropsiados vieram a óbito por patologias não relacionadas ao estômago.

Os estômagos foram abertos através de incisão ao longo da curvatura maior e manuseados suavemente para retirada do conteúdo. A fim de avaliar a presença de gastrite e bactérias espiraladas do gênero *Helicobacter*, foram coletados dois fragmentos da região cárdica (1), três da região fúndica (2 e 3), três da região do corpo (4 e 5) e dois da região pilórica (1) de cada animal, os quais foram destinados ao estudo histopatológico e para realização do teste da urease (Figura 1). Nas regiões fúndica e do corpo foram coletados dois fragmentos para a realização do exame histopatológico devido a grande extensão dessas regiões, visando a obtenção de uma amostra mais precisa.

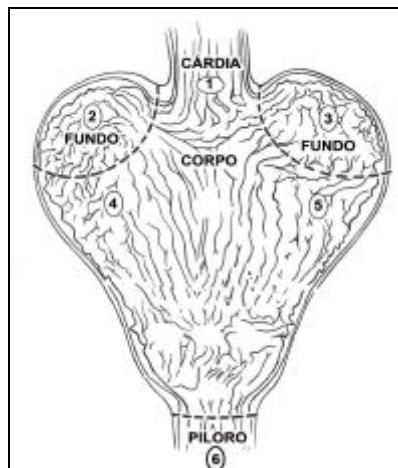


Figura 1: Desenho esquemático mostrando estômago de cão aberto ao longo da curvatura maior, com numeração indicando os locais de onde foram colhidas amostras para realização do exame histopatológico e do teste da urease.

3.2 Estimativa das Idades

Os animais tiveram suas idades estimadas por meio de estudo da arcada dentária quanto a presença, desgaste ou ausência de dentes de acordo com o que preconiza BOENISCH (1913) (Tabela 1). Para esse autor, a erupção e o desgaste dos dentes estão sujeitos às variações biológicas e desta forma, a estimativa será sempre realizada com base na média de idade.

Os animais incluídos na amostra tinham, em média, 4,9 anos, sendo que 45% deles com idade compreendida entre quatro a seis anos, enquanto 23,3% tinham até dois anos. A idade estimada do animal mais velho foi de 20 anos enquanto que do mais novo foi de 6 meses (Tabela 2).

3.3 Exame Histopatológico das Mucosas

Os animais foram identificados e tiveram seus estômagos abertos pela curvatura maior, ocasião em que foram suavemente manuseados para retirar o excesso de alimentos, cuidadosamente examinados, tomando como base dentre outros, os seguintes parâmetros: natureza do conteúdo, espessura da parede, coloração da mucosa, presença de depressões (úlceras e erosões) e ou nodulações e presença de parasitas.

Os fragmentos da mucosa gástrica coletados de acordo com o mapeamento gástrico, realizado previamente, foram fixados em formol neutro tamponado a 10%, por 24 horas, desidratados em concentrações crescentes de álcool, clareados em xilol e incluídos em parafina, seguindo-se a técnica de rotina.

Os cortes de 4 μ m, obtidos das regiões gástricas, foram corados segundo as técnicas de Hematoxilina–Eosina e Carbol-Fucsina e examinados ao microscópio de luz.

Nas lâminas coradas pela Hematoxilina-Eosina (HE) foram feitas descrições histológicas detalhada, com ênfase nas possíveis alterações inflamatórias, descrevendo a presença de infiltrados inflamatórios e nódulos linfóides na mucosa. A mucosa gástrica foi considerada normal quando possuía padrão histológico característico, sem evidência de infiltrados de linfócitos, células plasmáticas ou polimorfonucleares. O grau de gastrite foi

mensurado pela densidade do infiltrado de linfócitos, células plasmáticas ou polimorfonucleares na lâmina própria.

Usando como base a classificação humana, Sidney, a mucosa gástrica foi considerada normal, quando o epitélio se apresentou normal, e observou-se na lâmina própria, a ausência de neutrófilos e de nódulos linfóides e a presença de até 10 linfócitos e plasmócitos por campo microscópico de 400X (HERMANNNS *et al*, 1995).

As lâminas coradas pela Carbol-Fucsina foram avaliadas visando a identificação de bactérias espiraladas do gênero *Helicobacter* e a quantificação quanto ao grau de colonização.

3.4 Teste da Urease

Quarenta e um cães tiveram amostras de mucosa gástrica coletadas para realização do teste da urease.

Os fragmentos de cada região do estômago foram individualmente colocados em tubo de ensaio estéril contendo 0,1g de uréia, 1ml de água destilada e duas gotas de vermelho de fenol (indicador de pH). O teste é baseado na produção de urease que hidrolisa a uréia em amônia, aumentando o pH local, sendo essa uma característica intrínseca destes microorganismos. A visualização de coloração róseo escuro indica liberação de amônia no meio, indicando prova positiva (Figura 2). A reação foi considerada fortemente positiva naqueles casos onde a viragem do meio ocorreu em 1-3 horas, indicando infecção severa. Nos casos onde havia pequeno número de bactérias na amostra a reação ocorreu em até 24 horas e a reação foi considerada fracamente positiva (SIMPSON & BURROWS, 1997).



Figura 2 - Tubos com amostras de mucosa gástrica para teste rápido da urease. À direita, o controle negativo (coloração amarelada) e à esquerda o resultado positivo (coloração rósea).

3.5 Análise Estatística

Os resultados do teste da urease e da histologia foram analisados por animal e por amostra de cada região gástrica. Para avaliar a relação entre duas variáveis qualitativas foi utilizado o teste exato de Fisher ou, em alguns casos, o teste de qui-quadrado como aproximação. Para analisar a relação entre o número de nódulos linfóides (variável quantitativa) e outras variáveis com mais de duas categorias foi utilizado o teste de Kruskal-Wallis. Para determinar as diferenças entre as regiões do estômago (comparando-as duas a duas), utilizou-se o teste de Wilcoxon-Mann-Whitney. Foi ainda usada a correlação de Spearman para analisar as correlações entre todas as variáveis. Em todos os casos o nível de significância usado foi de 5%.

O pacote estatístico computacional *SPSS* para *Windows* Versão 11.0 foi adotado como ferramenta nesta dissertação.

Resultados

4.1 Exame Macroscópico da Mucosa

Dos 60 animais examinados, 23 cães apresentaram alterações macroscópicas da mucosa gástrica traduzidas especialmente por hiperemia (18 cães), hemorragias petequiais (três cães) e erosões/úlceras (quatro cães), sendo que alguns animais apresentaram mais de uma destas alterações.

As regiões de hiperemia foram observadas eletivamente nas mucosas das regiões do corpo (13 cães), região fúndica (12 cães), cárdica (um cão) e pilórica (um cão). Em quatro animais a hiperemia se revelou difusa, com o estômago apresentando-se repleto de alimento, indicando se tratar de uma hiperemia fisiológica.

As hemorragias presentes em três cães apresentaram diferentes formas; dois destes animais continham hemorragias petequiais difusamente distribuídas por todo estômago, principalmente na região fúndica, corpo e antro, enquanto o terceiro cão apresentou toda a mucosa gástrica hemorrágica com presença de moderada quantidade de *Toxocara canis*.

Em quatro animais foi diagnosticada a presença de úlceras. Em um deles como manifestação única no corpo gástrico, medindo aproximadamente 0,5 x 0,2 cm e com presença de grande quantidade de coágulos sobre ela; em outro animal foram observadas úlceras distribuídas difusamente pelo corpo do estômago, com dimensões variando de 2 a 5 mm de diâmetro, sobretudo ao longo da curvatura menor (Figura 3). O terceiro animal apresentou diversas úlceras distribuídas difusamente pela curvatura menor com dimensões variando de 1 a 2 mm de diâmetro e em outro animal foram observadas a presença de três úlceras na região fúndica, medindo de 1 a 2 mm de diâmetro.

Como o histórico dos animais não era conhecido, não se sabe se os cães com tais alterações apresentavam sinais clínicos relacionados com as alterações macroscópicas observadas.

4.2 Teste da Urease

Dos 41 cães que tiveram colhido fragmentos de mucosa gástrica para avaliação pelo teste rápido da urease, 39 (95,12%) apresentaram resultados positivos. Dois cães apresentaram resultados negativos em todas as regiões do estômago analisadas. Em 25 cães (60,97%) o resultado foi positivo em todas as regiões examinadas. Houve variação dos resultados de acordo com a região do estômago. Dos 39 animais positivos, 25 (64,1%) apresentaram reação na região cárdica, 39 (100%) apresentaram reação nas regiões do corpo e região fúndica e 36 animais (92,3%) apresentaram reação na região pilórica.

Houve também variação no tempo de mudança de cor do indicador, sendo as amostras consideradas fortemente positivas (mudança até 3 horas) ou fracamente positivas (mudança até 24 horas).

As regiões do corpo e da região fúndica foram as regiões que apresentaram maior número de reações fortemente positivas, 90,20% e 85,40% respectivamente; seguido da região pilórica com 75,60% e cárdica com 29,30% (Tabela 3).

Por meio do cálculo do qui-quadrado procurou-se estabelecer a existência da associação entre a reatividade do teste da urease nas diferentes regiões gástricas. Pelos resultados obtidos não foi possível estabelecer associação entre teste da urease e o grau de colonização entre as diferentes regiões gástricas.

O teste do qui-quadrado foi também utilizado com o objetivo de verificar a eventual existência de associação entre a idade dos animais e o resultado do teste de urease em cada uma das regiões gástricas. Também nessa condição não foi possível inferir a existência de associação dos parâmetros reatividade pelo teste da urease com a idade dos cães (Tabela 4).

Através da realização do teste de Kruskal-Wallis determinou-se que os resultados negativos, fracamente positivo e fortemente positivo estão associados ao número médio de bactérias encontradas na mucosa gástrica dos animais examinados. O mesmo não pode ser afirmado para o número de nódulos linfóides e de células inflamatórias. O número médio de nódulos linfóides e de células inflamatórias não pode ser considerado significativamente diferente para animais com resultado negativo, fracamente positivo e fortemente positivo (Tabela 5).

Na região cárdica, em 39% das amostras negativas no teste da urease não foi detectado *Helicobacter ssp* na histopatologia pela coloração de Carbol-Fucsina. Nas

regiões fúndica e do corpo 4,9%, seguido pela região pilórica onde 12,2% das amostras negativas no teste rápido da urease estavam associadas a ausência de bactérias espiraladas à histopatologia.

Na região pilórica, 90,9% das amostras que exibiram reação positiva até três horas apresentaram média entre 0,1 a 50 organismos semelhantes ao *Helicobacter* ao exame histopatológico. Já na região do região fúndica, 94,44% das amostras com reação positiva até três horas também apresentaram média entre 0,1 a 50 organismos semelhantes ao *Helicobacter*. Das amostras que tiveram reação positiva até 3 horas no corpo, 94,7% apresentaram média entre 0,1 a 50 organismos espirais ao exame histopatológico.

Cem por cento das amostras positivas para o teste da urease na região pilórica apresentaram organismos semelhantes ao *Helicobacter*, variando de 10 a 200 organismos.

O teste de Kruskall-Wallis foi utilizado para verificar a existência de correlação entre o resultado do teste da urease e a positividade da histopatologia em todas as regiões avaliadas, indicando que o resultado negativo, fracamente positivo e fortemente positivo estava associado ao número médio de bactérias encontradas na mucosa gástrica dos animais examinados (Tabelas 6, 7, 8 e 9).

4.3 Exame Microscópico

4.3.1 Coloração Carbol-Fucsina

As lâminas coradas pela Carbol-Fucsina permitiram a visualização das bactérias espiraladas do gênero *Helicobacter*, que foram quantificadas de acordo com as regiões do estômago. As bactérias espirais foram facilmente visualizadas, as quais apresentavam coloração arroxeada, estando presentes tanto no lúmen das glândulas gástricas, como nas fossetas gástricas e no muco sobre o epitélio (Figura 4). Apenas dois animais apresentaram resultados negativos ao teste rápido da urease em todas as regiões do estômago, o que foi confirmado pelo exame histopatológico que também não revelou presença de qualquer organismo semelhante ao *Helicobacter* (Figura 5).

O exame microscópico pela coloração de Carbol-Fucsina revelou *Helicobacter ssp* em 96,66% do total de animais examinados, cuja presença variou de acordo com a região do estômago.

As amostras das regiões do corpo e pilórica apresentaram maior número de resultados positivos (ambos 95%), seguido da região fúndica (91,66%) e cárdica (56,66%).

Houve correlação entre o teste da urease e a positividade da histopatologia. De acordo com cada região do estômago, dos 41 animais submetidos ao teste da urease e a histopatologia com coloração pela Carbol-Fucsina, as amostras da região cárdica exibiram presença da bactéria em 21 animais examinados (51,22%) e o teste da urease da mesma região revelou resultado positivo em 25 animais examinados (60,97%).

As amostras da região fúndica, revelaram presença da bactéria em 37 animais examinados (90,24%) e o teste da urease se apresentou positivo em 39 animais examinados (95,12%).

As amostras da região do corpo, revelaram presença da bactéria em 38 animais examinados (92,68%) e o teste da urease teve resultado positivo em 39 animais examinados (95,12%).

Por fim, as amostras da região pilórica revelaram presença da bactéria em 38 animais examinados (92,68%) e o teste da urease teve resultado positivo em 36 animais (87,80%).

O presente estudo demonstrou a presença de falsos positivos e falsos negativos no teste da urease através da correlação dos resultados deste com a visualização da bactéria através da histopatologia com coloração pela Carbol-Fucsina.

Sete amostras da região cárdica apresentaram resultado falso positivo, sendo que em seis destas amostras a viragem do meio (coloração) ocorreu em 24 horas (prova fracamente positiva) e em uma amostra a viragem do meio ocorreu até três horas (prova fortemente positiva). Na região cárdica três amostras revelaram resultados falso negativo, sendo que nestas amostras existiam número médio de bactérias de 1, 6,8 e 0,6 respectivamente nos cinco campos analisados.

Das três amostras da região fúndica exibiram resultados falso positivos, onde duas amostras apresentaram prova fortemente positiva e uma amostra apresentou prova fracamente positiva.

Uma amostra da região do corpo revelou resultado falso positivo sendo que a viragem do meio ocorreu na ausência total de bactérias, confirmadas pela histopatologia.

Uma amostra da região pilórica apresentou resultado falso negativo, na presença de um número médio de 2,4 bactérias nos 5 campos examinados.

De acordo com a correlação de Spearman na região cárdica o número de bactérias está significativamente correlacionado com o número de células inflamatórias nessa região. Na região fúndica o número de bactérias está correlacionado ao número de nódulos linfóides e ao número de células inflamatórias. Na região do corpo, o número de bactérias apresentou correlação com o número de nódulos linfóides na mesma região. Na região pilórica o número de bactérias não está significativamente correlacionado à nenhuma outra variável.

4.3.2 Coloração pela Hematoxilina e Eosina

4.3.2.1 Integridade das Mucosas

Uma das alterações avaliada pela microscopia através da análise de cortes histológicos corados pela HE foi a integridade da mucosa gástrica das diferentes regiões examinadas.

Oito animais (13,33%) dentre os 60 animais examinados não apresentaram manutenção da integridade da mucosa em uma ou mais regiões do estômago. Destes, quatro apresentaram úlceras à macroscopia, um apresentou mucosa hemorrágica à macroscopia onde foi evidenciada a presença do parasita *Toxocara canis* em moderada quantidade, um apresentou presença de hemorragias petequiais distribuídas difusamente por todo o Corpo e dois animais não apresentaram alterações macroscópicas.

Dos animais em questão, quatro apresentaram colonização pelas bactérias semelhantes ao *Helicobacter* em todas as regiões do estômago examinadas, exibindo também reação positiva ao teste da urease. Um animal não apresentou colonização pela bactéria na região cárdica, tendo exibido resultado falso positivo para o teste da urease nesta região. Outro animal não apresentou colonização pela bactéria em qualquer das regiões do estômago examinadas, confirmadas pelo resultado negativo do teste da urease em todas as regiões do estômago submetidas ao teste.

4.3.2.2 Células inflamatórias e nódulos linfóides

As alterações mais freqüentemente observadas ao exame histopatológico em cortes corados pela HE foram infiltrados de células predominantemente mononucleares (linfócitos e plasmócitos), presentes em todos os cães, tendo sido observado a ocorrência de moderada quantidade de eosinófilos na região do corpo de um animal, hiperplasia de nódulos linfóides observada em 59 animais (98,33%) e hiperemia 57 animais (95%) dentre os 60 avaliados (Figuras 6 e 7).

Os infiltrados de células inflamatórias eram difusos na maioria dos cães. A maior parte das amostras apresentou média entre 11 e 50 células inflamatórias por campo, sendo na região cárdica 85%, na região fúndica 91,66%, na região do corpo 95% e na região pilórica 91,66%.

Apenas algumas amostras apresentaram número de células inflamatórias entre 0 – 10 e ≥ 50 (Tabela 10). Na Tabela 11 observa-se a variação do número de nódulos linfóides nas diferentes regiões gástricas.

Através da realização da correlação de Spearman na região cárdica o número de células inflamatórias apresentou correlação positiva significativa com o número de nódulos linfóides e com o número de bactérias na mesma região. Na região fúndica houve correlação do número de células inflamatórias com o número de nódulos linfóides e com o número de bactérias na mesma região.

De acordo com o mesmo teste, o número de células inflamatórias na região do corpo apresenta correlação com o número de nódulos linfóides na mesma região.

De acordo com resultados apresentados na Tabela 12, 48,3% dos cães (29 animais) não possuem nódulo linfóide na região cárdica. Destes 29 animais, 51,7% também não possuem nenhuma bactéria. Observou-se também que 21,7% (13 animais) possuem média entre 10 e 50 bactérias no cárdia sendo que destes, 30,8% não possuem nenhum nódulo linfóide, 30,8% possuem média entre 0 e 0,2 folículos e 38,5% deles possuem média de mais de 0,2 nódulos por campo.

Na região fúndica 5% dos cães (três animais) não possuíam nenhum nódulo linfóide, apesar de 66,7% (dois animais) e 33,3% (um animal) apresentarem respectivamente entre 0 e 10 bactérias e entre 10 e 50 bactérias por campo. Quarenta e dois

animais (70%) apresentaram mais de 0,2 nódulos linfóides por campo sendo que 26,2% e 71,4% destes exibiam respectivamente entre 0 e 10 e entre 10 a 50 bactérias por campo (Apêndice - Tabela 13).

De acordo com a Tabela 14, na região do corpo, sete animais (11,7%) não possuíam nódulo linfóide, sendo que deste 85,7% apresentaram média entre 0 a 10 bactérias por campo. Quarenta e seis animais (76,7%) apresentaram média maior que 0,2 nódulos linfóides por campo, sendo destes, 67,4% apresentavam média entre 10 a 50 bactérias por campo.

Na região do piloro, 12 animais (20%) não possuíam nódulos linfóides, dos quais 16,7% (dois animais) não apresentaram qualquer bactéria. Nesta região, a maioria dos animais também apresentou média maior que 0,2 nódulos linfóides por campo, estando estes em 54,9% associados à presença da bactéria nesta região (Tabela 15).

Em todas as regiões do estômago, a ausência de bactérias estava relacionada à ausência de células inflamatórias.

De acordo com as Tabelas 16, 17, 18 e 19, pode-se observar que a maior parte dos animais apresentaram média entre 10 a 50 células inflamatórias por campo, possuindo média entre 0,1 a 50 bactérias por campo.

As amostras das regiões fúndica, do corpo e pilórica apresentaram mais nódulos linfóides que a região cárdica, havendo diferença estatisticamente significativa entre as regiões.

Quinze animais (51,72%) negativos à coloração de Carbol-Fucsina (ausência de bactérias) na região cárdica, dentre 29 animais, não apresentaram nódulos linfóides na mesma região. Um animal (8,33%), dentre 12, negativo à coloração de Carbol-Fucsina na região pilórica também não apresentou nódulos linfóides na mesma região.

Na região cárdica houve correlação entre o número de nódulos linfóides e o número de células inflamatórias.

Nas regiões fúndica e do corpo houve correlação entre o número de nódulos linfóides e o número de células inflamatórias e destes com o número de bactérias na mesma região.

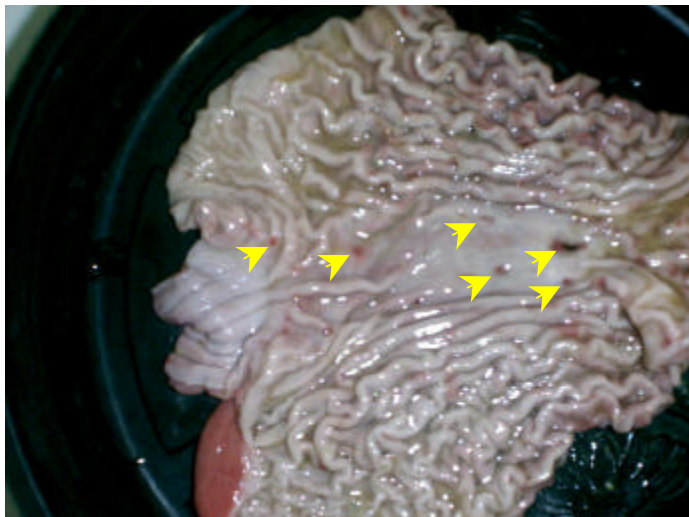


Figura 3: Estômago de cão, mostrando úlceras difusamente distribuídas pelas regiões do corpo, região fúndica e cárdica (setas) ao longo da curvatura menor (maroscopia).

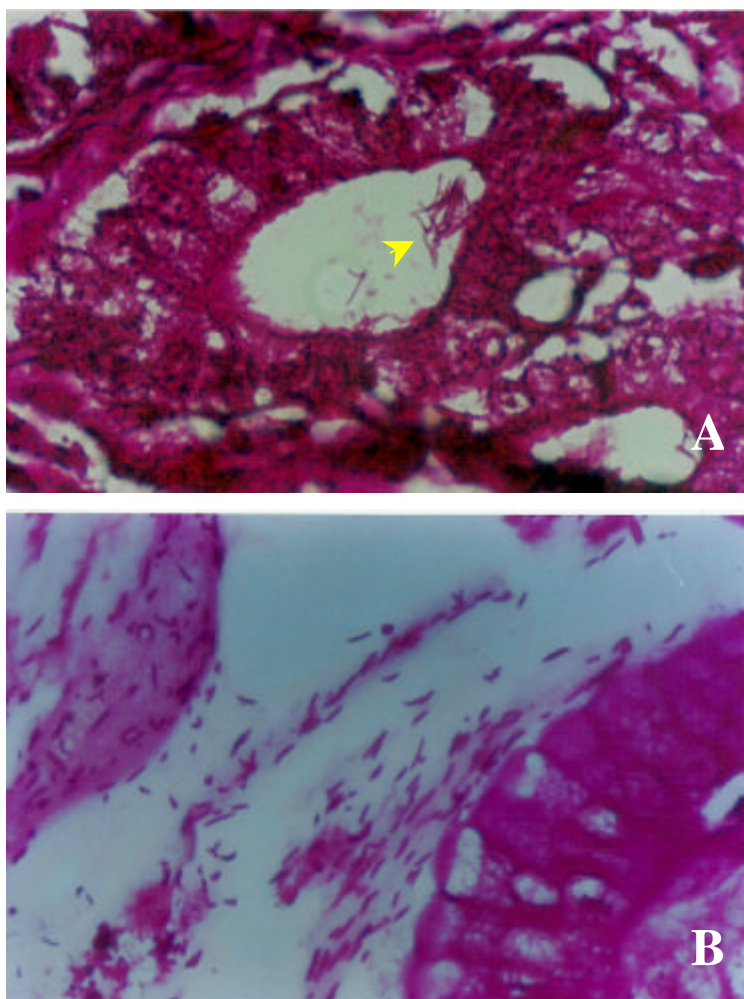


Figura 4: A- Fotomicrografias de mucosa gástrica mostrando bactérias espiraladas do gênero *Helicobacter* (seta) no lúmen das glândulas gástricas B - Fotomicrografias de mucosa gástrica mostrando bactérias espiraladas do gênero *Helicobacter* no muco sobre o epitélio gástrico (Carbol-Fucsina – 1000X).

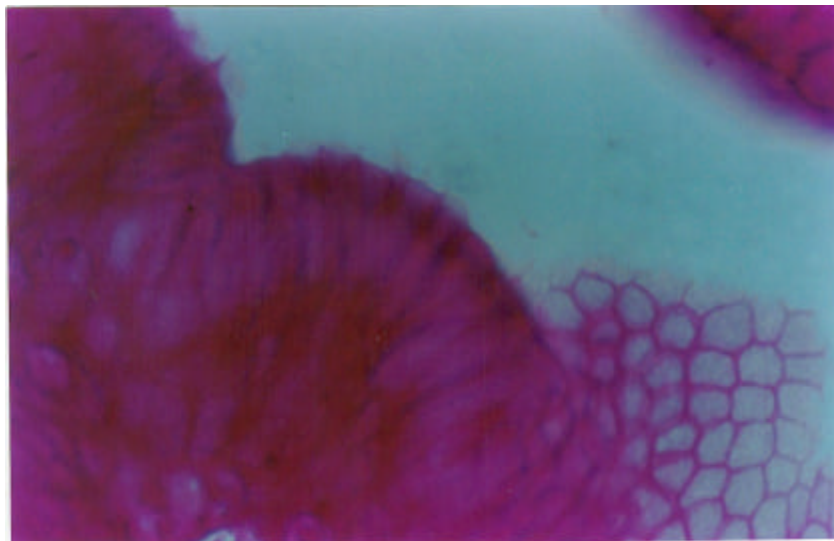


Figura 5: Fotomicrografias de mucosa gástrica mostrando ausência total de bactérias espiraladas do gênero *Helicobacter* no muco sobre o epitélio gástrico (Carbol- Fucsina- 1000X).

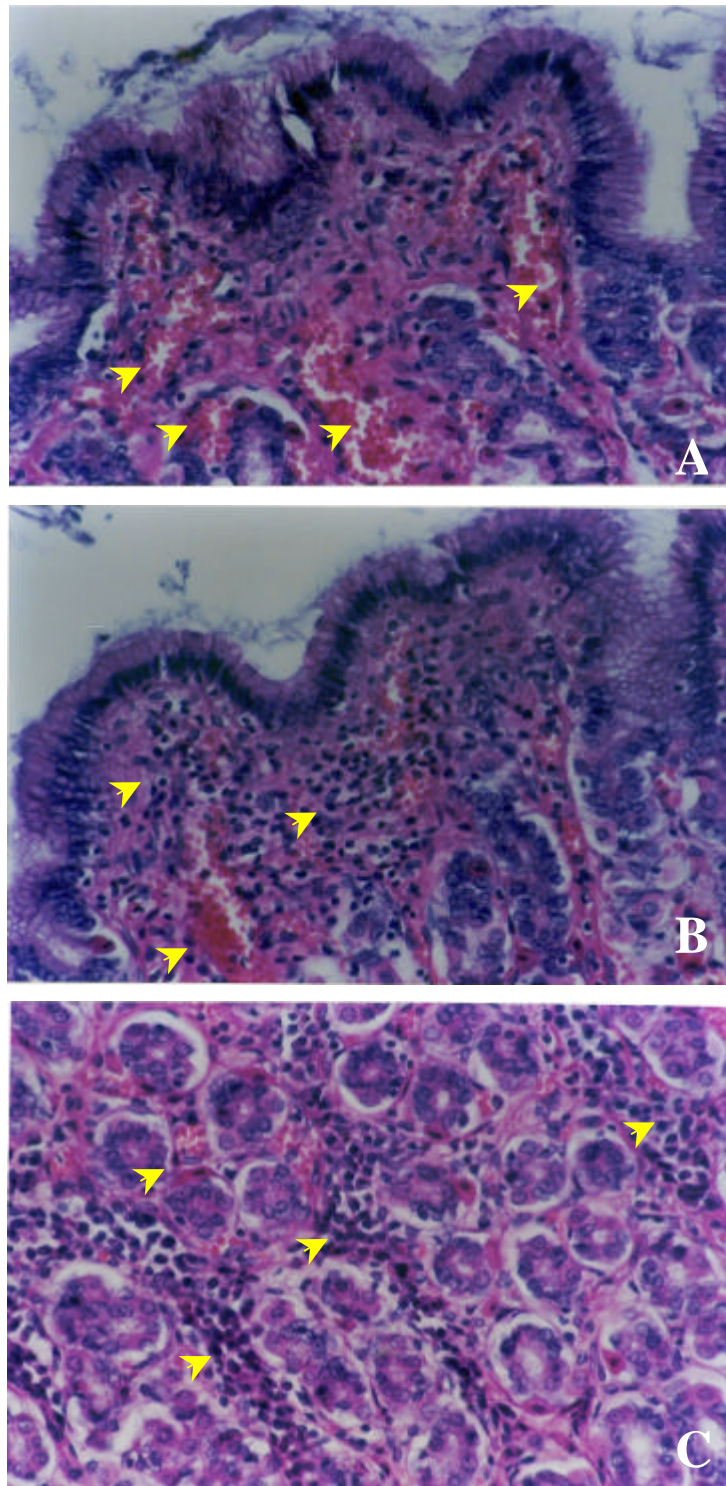


Figura 6: A- Fotomicrografia de mucosa gástrica mostrando hiperemia (setas). B e C: Fotomicrografias mostrando hiperemia e infiltrado difuso de células mononucleares (setas) respectivamente nas regiões pilórica e do corpo do estômago (Hematoxilina e Eosina – 400X).

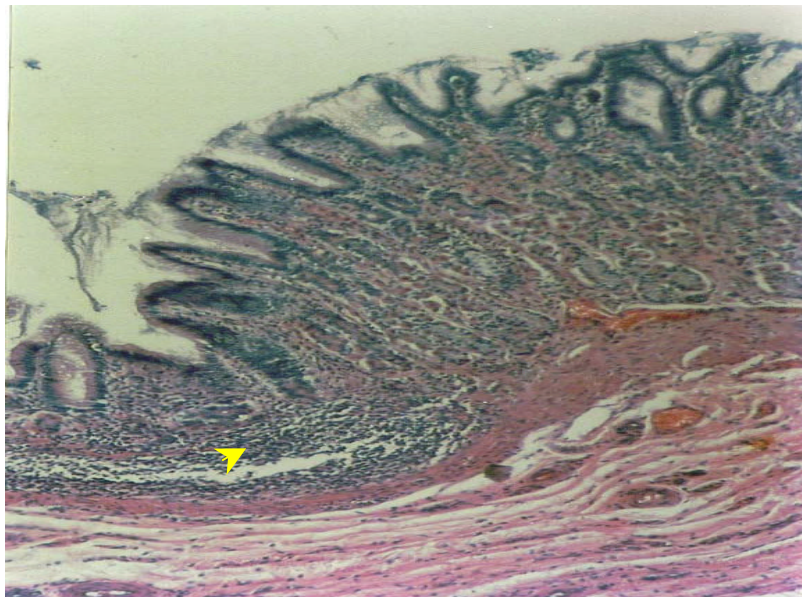


Figura 7: Fotomicrografia de mucosa gástrica mostrando nódulo linfóide (seta) (Hematoxilina e Eosina- 400X).

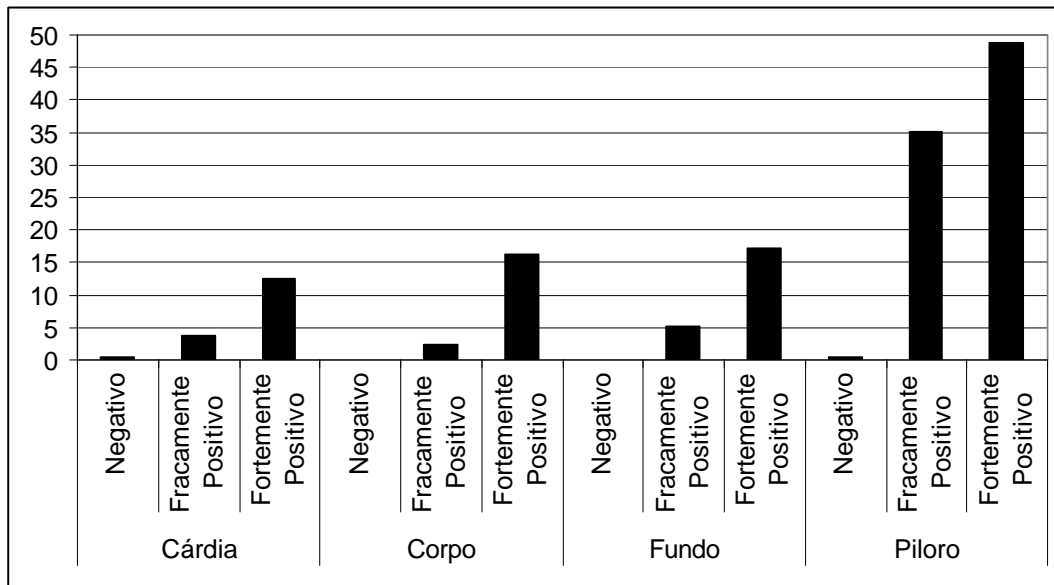
Discussão

Os resultados encontrados neste trabalho estão de acordo com a literatura compulsada que reportou altas prevalências de helicobactérias na mucosa gástrica de cães (HERMANNNS *et al*, 1995; SIMPSON & BURROWS, 1997; JALAVA *et al*, 1998). A inexistência de histórico clínico dos nossos animais não permitiu confrontar os nossos resultados com os obtidos por GEYER *et al* (1993) e HAPPONEN *et al* (1996 b) que afirmaram que a ocorrência de organismos semelhantes ao *Helicobacter* tem sido prevalente tanto em cães clinicamente sadios, quanto naqueles com sintomas gastrointestinais. Neste trabalho, 39 dos 41 (95,12%) cães avaliados apresentaram resultados positivos nos testes da urease. Apenas dois animais apresentaram resultados negativos em todas as regiões do estômago, o que foi confirmado pelo exame histopatológico, que também não revelou presença de qualquer organismo semelhante ao *Helicobacter*. O corpo e a região fúndica do estômago foram as regiões que apresentaram maior número de reações fortemente positivas, 90,2% e 85,4% respectivamente, estando os resultados de acordo com os estabelecidos por HANDT *et al* (1995) e HAPPONEN *et al* (1996 b).

As análises estatísticas demonstraram a correlação entre o teste da urease e a positividade da histopatologia em todas regiões, indicando que o resultado negativo, fracamente positivo (reação após três horas até 24 horas) e fortemente positivo (reação até três horas) ao nível de significância de 5% está associado ao número médio de bactérias encontradas na mucosa gástrica dos animais examinados, o que também foi verificado por MYSOREKAR *et al* (1999).

No Gráfico 1 estão representadas as médias do número de bactérias calculadas para cada uma das regiões de acordo com o resultado do teste de urease.

Gráfico 1: Número médio de bactérias por resultado do teste da urease e por região do estômago de cães.



De acordo com o gráfico 1, percebe-se claramente, para todas as regiões, que o número médio de bactérias é maior em animais com resultado fortemente positivo para o teste de urease do que para animais com resultado fracamente positivo e negativo. Especificamente para as regiões cárdica e pilórica nota-se presença de pequenos número de bactérias mesmo quando o teste da urease tinha resultado negativo.

O exame microscópico pela coloração de Carbol-Fucsina revelou helicobactérias em 96,66% do total de animais examinados, estando estas distribuídas em todas as regiões analisadas.

No presente estudo foram verificados a existência de materiais falsos positivos e falsos negativos no teste da urease demonstrado por meio da confrontação dos resultados histopatológicos com a coloração pela Carbol-Fucsina. De acordo com tais observações, o resultado do teste da urease deve ser confirmado pela histopatologia ou pela citologia, que permitem a visualização das bactérias para aumentar a confiabilidade dos resultados obtidos. Apesar disto, houve correlação entre o teste da urease e a positividade da histopatologia. O número de falsos positivos foi maior nos testes com resultado fracamente positivos (após três horas até 24 horas). Segundo HAPPONEN *et al* (1996 a), existe a possibilidade da urease ser produzida por outras bactérias presentes na mucosa gástrica destes animais, dentre elas o *Proteus mirabilis* e a *Pseudomonas aeruginosa*. Bactérias do

tipo *Helicobacter* produzem uma potente urease, que se liga ao substrato com maior afinidade do que as ureases produzidas por outras bactérias, além de ser produzida em grande quantidade (MOBLEY *et al*, 1988).

Dentre os falsos negativos em relação a histopatologia, estes podem ter ocorrido devido a número muito pequeno de organismos visto que destes, na região cárdica exibiam respectivamente 1; 6,8 e 0,6 organismos e na região pilórica a amostra tinha número médio de 2,4 bactérias nos 5 campos examinados.

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

No entanto, vale a pena lembrar que o teste da urease apesar de ser do tipo invasivo, necessitando de endoscopia para a coleta de amostras, é geralmente realizado junto com outros testes, o que torna o diagnóstico mais confiável.

Em um estudo em que se compararam diferentes métodos de diagnóstico, a sensibilidade do teste da urease em cães foi de 85,7% e 87,5%, com as leituras feitas aos 30 e aos 60 minutos, respectivamente, e a especificidade foi de 100% (HAPPONEN *et al*, 1996 a). A sensibilidade e a especificidade do teste dependem do tempo em que a leitura foi feita. Existem aqueles que são lidos em até uma hora porque a especificidade é ótima, embora a sensibilidade não o seja. Quando a leitura é feita após 24 horas, a sensibilidade aumenta, mas especificidade diminui, já que as possibilidades de contaminação do meio por outras bactérias produtoras de urease aumentam, o que pode resultar em falsos positivos. A sensibilidade também depende do número de bactérias presentes na amostra, sendo necessário pelo menos 10^4 organismos para um resultado positivo (ARAÚJO, 2002). No presente trabalho, a leitura final foi feita em 24 horas para otimizar a sensibilidade do teste. Apesar disto, houveram resultados falsos negativos.

Concordando com o já estabelecido por KEKKI *et al* (1991) e YAMASAKI *et al* (1998), no presente trabalho não foi observada a existência de associação entre o resultado fortemente positivo para o teste da urease e a faixa etária, indicando que a infecção não aumenta com a idade. Similarmente ao observado por GEYER *et al* (1993), também neste

estudo não foi demonstrada correlação entre alterações inflamatórias na presença da bactéria com a idade dos animais.

Neste estudo foi observado grande número de cães com alterações macroscópicas no estômago. Vinte e três (38,33%) dos 60 cães apresentaram alterações macroscópicas na mucosa gástrica como hiperemia (18 cães), hemorragias petequiais (três cães) e erosões/úlceras (quatro cães), sendo que alguns animais apresentaram mais de uma alteração. Daqueles cães que exibiram mucosa hiperêmica, 16 apresentaram colonização por bactérias espirais, um animal apresentava uma média de 1,3 bactéria na região do corpo e outro apresentava média de 81,8 bactérias na região pilórica e nas demais regiões do estômago. De acordo com CASTRO *et al* (1993), a bactéria espiralada produz uma substância denominada mucinase que quebra a barreira mucosa propiciando o aumento da retrodifusão de íons de hidrogênio, o que poderia, pelo menos em parte explicar, a hiperemia. Como a bactéria é sensível às alterações de pH, migraria para outra região gástrica onde a camada de muco estaria íntegra.

Dos animais que apresentaram hemorragias petequiais na mucosa, dois (66,66%) apresentavam colonização pela bactéria, ao passo que 100% dos animais que exibiram presença de ulceração na mucosa apresentavam infecção pelas bactérias do gênero *Helicobacter*. Como o histórico dos animais não era conhecido, não se sabe se os cães com tais alterações apresentavam sinais clínicos relacionados com as alterações macroscópicas observadas.

A histopatologia utilizando-se coloração por Carbol-Fucsina revelou que as bactérias se distribuem pelo lúmen das glândulas gástricas, nas fossetas gástricas e no muco acima do epitélio, o que também foi reportado por GEYER *et al* (1993) e EATON *et al* (1996). No presente estudo, as amostras das regiões do corpo e pilórica apresentaram maior número de resultados positivos (ambos 95%) seguidos das regiões fúndica (91,66%) e cárdica (56,66%). Esses resultados diferem parcialmente dos obtidos por HAPPONEN *et al* (1996 b), que verificaram maior concentração destas bactérias nas regiões fúndica e do corpo.

Neste trabalho, não foi possível observar por meio da microscopia de luz a presença de bactérias localizadas no interior de vacúolos no citoplasma de células parietais como descrito por HERMANNNS *et al* (1995).

As regiões fúndica e do corpo foram as que apresentaram maior número de resultados positivos no teste da urease e as regiões do corpo e pilórica no exame histopatológico.

De acordo com HAPPONEN *et al* (1996 a), a sensibilidade do exame histopatológico em seu estudo foi de 92,3% e a especificidade de 100%. No presente estudo, tais achados estão também associados ao maior número de células inflamatórias e nódulos linfóides nestas regiões, estando o resultado do presente trabalho de acordo com o estabelecido por outros autores. (LEE *et al*, 1992; HANDT *et al*, 1995; HAPPONEN *et al*, 1996 b;).

Os nódulos linfóides foram observados em pelo menos uma região do estômago de todos os animais examinados, estando bem delimitados e com alguns se estendendo por toda a espessura da mucosa. Nas regiões fúndicas e do corpo houve correlação entre o número de nódulos linfóides e o número de bactérias, concordando com o disposto na literatura ao relatar que a hiperplasia de nódulos linfóides representa uma resposta local à presença do *Helicobacter* (STOLTE & EIDT, 1989; GENTA & HAMNER, 1994; HANDT *et al*, 1995; MYSOREKAR *et al*, 1999). RADIM *et al* (1990), assinalaram a presença de grande número de nódulos linfóides ao longo da mucosa de cães infectados experimentalmente com *H. felis*.

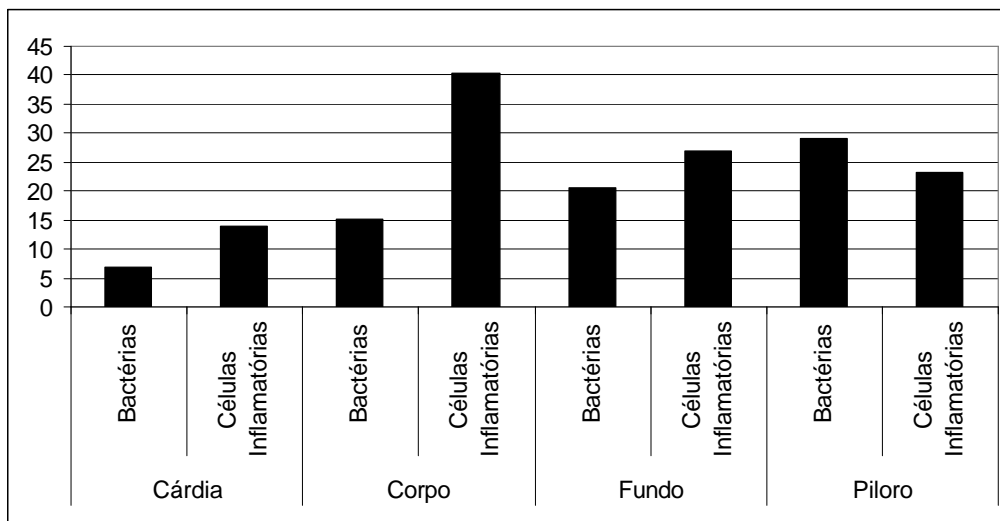
A predominância de infiltrados de células inflamatórias mononucleares coincide com resultados observados em outros estudos (HAPPONEN *et al*, 1996 b; YAMASAKI *et al*, 1998; SIMPSON *et al*, 2000 b). Um animal apresentou grande quantidade de eosinófilos, estando estes associados à presença da bactéria. Segundo HANDT *et al* (1995), eosinófilos tem sido encontrados como componentes da resposta inflamatória a helicobactérias em alguns seres humanos e em animais, particularmente durante a fase aguda da infecção. A inflamação observada nesses outros estudos era leve em todos os animais, porém a forma de classificação dos graus de gastrite varia de um estudo para outro devido à ausência de critérios estabelecidos para a avaliação de gastrite em cães e gatos. No presente trabalho, a maior parte dos animais apresentou contagens de células inflamatórias entre 11 e 50 células por campo microscópico de 400X, o que, de acordo com vários autores, seria classificado como gastrite suave ou moderada, estando este resultado similar ao obtido por GEYER *et al* (1993), que assinalaram, na maioria dos casos, que a presença da bactéria estava associada a baixo grau de inflamação.

De acordo com a classificação de Sidney, apenas um animal no presente estudo apresentou características de normalidade para as regiões cárdica, do corpo e pilórica, pois na região fúndica houve a presença média de 0,2 nódulos linfóides nos cinco campos microscópicos examinados.

Em todas as regiões do estômago a ausência de bactérias estava relacionada com a ausência de células inflamatórias. Nas regiões cárdica e fúndica o número de bactérias e o número de células inflamatórias estavam estatisticamente correlacionadas, discordando de HERMANN *et al* (1995) que não encontraram correlação entre estes dados em cães (Gráfico 2).

No Gráfico 2 estão representadas as médias do número de bactérias e de células inflamatórias calculadas para cada uma das regiões dos 60 cães da amostra considerada.

Gráfico 2. Número médio de bactérias *versus* número médio de células inflamatórias em cada região do estômago de cães.



De acordo com o gráfico 2, pode-se perceber que as médias do número de bactérias e de células inflamatórias estão de certa forma relacionados. As regiões cárdica e fúndica são bons exemplos desta relação.

A presença de trabalhos com resultados inconclusivos quanto a participação das bactérias espiraladas na gastrite de cães revelam a necessidade de estudos mais profundos para identificação de espécies mais patogênicas e de mecanismos de patogenicidade em cães com presença de sinais clínicos associados a infecção. Além disto, devido ao potencial

zoonótico, grande atenção deve ser dada às helicobactérias, visto que 40% da população mundial possuem cães em casa.

Resumo e Conclusões

Foram utilizados 60 estômagos de cães (sendo 29 fêmeas e 31 machos) de diversas raças e idades (média de 4,9 anos) necropsiados no Hospital Veterinário da Universidade Federal de Viçosa, no período de julho de 2002 a janeiro de 2003.

Os estômagos foram abertos através de incisão ao longo da curvatura maior e manuseados suavemente para retirada do conteúdo. Para avaliar a presença de gastrite e bactérias espiraladas do gênero *Helicobacter*, foram colhidos fragmentos das regiões cárdica, fúndica, do corpo e pilórica de cada animal, que foram destinados para estudo histopatológico (HE e Carbol-Fucsina) e para realização do teste da urease.

A análise dos resultados obtidos gerou as seguintes conclusões:

- No presente trabalho, 95,12% dos cães avaliados apresentaram resultados positivos no teste rápido da urease;
- Não houve correlação entre o grau de colonização com a faixa etária dos cães avaliados;
- De acordo com o teste da urease, todas as regiões do estômago de cães são colonizadas por *Helicobacter ssp*, sendo as regiões do corpo e fúndica as regiões mais colonizadas;
- Houve correlação entre o teste da urease e a histopatologia por Carbol-Fucsina na detecção de *Helicobacter ssp* em cães, sendo a histopatologia o método mais sensível para a detecção de pequena quantidade de bactérias e, portanto, um teste essencial para o diagnóstico da infecção em cães;
- O teste da urease pode apresentar resultados falso-positivos e falso-negativos, sendo recomendado o uso do exame histopatológico por Carbol-Fucsina para a confirmação da infecção em cães;

- O exame microscópico pela coloração de Carbol-Fucsina revelou *Helicobacter ssp* em 96,66% do total de cães avaliados, estando estas distribuídas em todas as regiões examinadas;
- As alterações histopatológicas mais freqüentes na mucosa gástrica de cães com ou sem *Helicobacter ssp* são infiltrados de células inflamatórias mononucleares (linfócitos e plasmócitos), hiperplasia de nódulos linfóides e hiperemia;
- Houve correlação entre o número de células inflamatórias, nas regiões cárdica e fúndica, e o número de *Helicobacter ssp*, o que sugere que as bactérias encontradas na mucosa gástrica dos cães podem ser as responsáveis por estas alterações;
- Nas regiões fúndica e do corpo houve correlação entre o número de nódulos linfóides e o número de bactérias, o que sugere que tais bactérias podem ser responsáveis por essa alteração histopatológica no estômago de cães;
- Neste trabalho, a presença da bactéria estava associada a gastrite que variou de leve a moderada.

Apêndice

Tabela 1: Estimativa de idade de cães por meio de estudo da arcada dentária.

Idade	Arcada Dentária
4-5 semanas	Erupção dos dentes decíduos - incisivos
6-8 semanas	Erupção dos pré- molares
5 meses	Erupção dos incisivos permanentes
6 meses	Erupção dos caninos permanentes
7 meses	Erupção dos molares permanentes
1 e ½ ano	Desgaste da cúspide do I ₁ inferior
2 e ½ anos	Desgaste da cúspide do I ₂ inferior
3 e ½ anos	Desgaste da cúspide I ₁ superior
4 e ½ anos	Desgaste da cúspide I ₂ superior
5 anos	Ligeiro desgaste da cúspide do I ₃ superior; incisivos inferiores retangulares e ligeiro desgaste dos caninos.
6 anos	Desgaste da cúspide I ₃ inferior, desgaste dos caninos
7 anos	I ₁ inferior desgastado até a raiz
8 anos	I ₁ inferior com aparência biselada
10 anos	I ₂ inferior e I ₁ superior alargados no sentido labiolingual (raiz dos incisivos)
12 anos	Começam a cair os primeiros incisivos
16 anos	Caem todos os incisivos
20 anos	Perda dos caninos

Tabela 2: Distribuição dos animais por faixas etárias e suas respectivas frequências.

Distribuição de Frequências		
Classe¹	Frequências	Frequência Relativa
0 † 2 anos	14	23,3 %
2 † 4 anos	12	20,0 %
4 † 6 anos	27	45,0 %
6 ou + anos	7	11,7 %
Total	60	100,0 %

¹ O símbolo † na segunda classe, por exemplo, significa que valores “2 anos” não estão incluídos enquanto valores “4 anos” estão incluídos.

Tabela 3: Distribuição da intensidade da reação pelo teste da urease de acordo com a região do estômago e idade dos animais avaliados.

Região Gástrica	Faixa de Idade	Negativo	Fracamente Positivo	Fortemente Positivo	Total
Ca	0 2 anos	36,4%	18,2%	45,5%	100,0%
	2 4 anos	66,7%	16,7%	16,7%	100,0%
	4 6 anos	38,9%	44,4%	16,7%	100,0%
	6 ou + anos	16,7%	33,3%	50,0%	100,0%
	total	39,0%	31,7%	29,3%	100,0%
F	0 2 anos	9,1%	18,2%	72,7%	100,0%
	2 4 anos	0,0%	16,7%	83,3%	100,0%
	4 6 anos	5,6%	5,6%	88,9%	100,0%
	6 ou + anos	0,0%	0,0%	100,0%	100,0%
	total	4,9%	9,8%	85,4%	100,0%
Co	0 2 anos	9,1%	0,0%	90,9%	100,0%
	2 4 anos	0,0%	16,7%	83,3%	100,0%
	4 6 anos	5,6%	5,6%	88,9%	100,0%
	6 ou + anos	0,0%	0,0%	100,0%	100,0%
	total	4,9%	4,9%	90,2%	100,0%
P	0 2 anos	9,1%	9,1%	81,8%	100,0%
	2 4 anos	0,0%	16,7%	83,3%	100,0%
	4 6 anos	22,2%	16,7%	61,1%	100,0%
	6 ou + anos	0,0%	0,0%	19,4%	100,0%
	total	12,2%	12,2%	75,6%	100,0%

- Resultados baseados em amostra de 41 animais (para os quais foram realizados o Teste da Urease).

Tabela 4. Distribuição da intensidade da reação pelo teste da urease de acordo com a idade dos animais avaliados (Teste de Kruskal-Wallis – II).

Variável	Posto Médio			Qui-Quadrado	p
	Teste de Urease				
	Negativo	Fracamente Positivo	Fortemente Positivo		
Idade	20,9	23,8	18,1	1,4	0,49

Tabela 5. Distribuição da intensidade da reação do teste da urease associados ao número de folículos linfóides, número de células inflamatórias e número de bactérias (Teste de Kruskal-Wallis – I).

Variável	Posto Médio			Qui-Quadrado	p
	Teste de Urease				
	Negativo	Fracamente Positivo	Fortemente Positivo		
Número de folículos linfóides	20,4	23,5	19,2	1,1	0,58
Número de células inflamatórias	18,5	18,6	27,0	4,3	0,12
Número de bactérias	13,2	20,1	31,4	17,9	0,00*

* Resultado significativo ao nível de 5%.

Tabela 6. Distribuição da casuística considerando a reatividade pelo teste da urease e o número de bactérias na região cárdica do estômago.

Tempo até Mudança de Cor	Número de Bactérias no Cárdia				
	0	<10	10 – 50	51 – 100	101 –200
Até 3 Horas	4%	20%	20%	0%	0%
Após 3 Horas até 24 horas	24%	20%	12%	0%	0%

Tabela 7. Distribuição da casuística considerando a reatividade pelo teste da urease e o número de bactérias na região fúndica do estômago.

Tempo até Mudança de Cor	Número de Bactérias no Fundo				
	0	<10	10 – 50	51 – 100	101 –200
Até 3 Horas	5,12%	25,65%	61,55%	0%	0%
Após 3 Horas até 24 horas	2,56%	2,56%	2,56%	0%	0%

Tabela 8. Distribuição da casuística considerando a reatividade pelo teste da urease e o número de bactérias na região do corpo do estômago.

Tempo até Mudança de Cor	Número de Bactérias no Corpo				
	0	<10	10 – 50	51 – 100	101 –200
Até 3 Horas	2,56%	28,20%	64,1%	2,56%	0%
Após 3 Horas até 24 horas	0%	2,56%	0%	0%	0%

Tabela 9. Distribuição da casuística considerando a reatividade pelo teste da urease e o número de bactérias na região pilórica do estômago.

Tempo até Mudança de Cor	Número de Bactérias no Píloro				
	0	<10	10 – 50	51 – 100	101 –200
Até 3 Horas	0%	0%	55,55%	22,22%	8,33%
Após 3 Horas até 24 horas	0%	2,77%	8,33%	0%	2,77%

Tabela 10. Variação da densidade de células inflamatórias nas diferentes regiões gástricas.

Número de Células Inflamatórias			
Regiões Gástricas	0,1 – 10	11 -50	≥ 50
Cárdia	13,33%	85%	1,66%
Fundo	1,66%	91,66%	6,66%
Corpo	1,66%	95%	3,33%
Piloro	5%	91,66%	3,33%

Tabela 11. Variação do número de nódulos linfóides nas diferentes regiões gástricas.

Número de Nódulos			
Regiões Gástricas	0	0,1 – 2	≥ 2
Cárdia	48,33%	51,66%	-
Fundo	5%	95%	-
Corpo	11,66%	88,34%	-
Piloro	20%	78,34%	1,66%

Tabela 12. Relação entre número de nódulos linfóides e grau de colonização bacteriana na região cárdica do estômago.

	Categorias	Bactérias - Região cárdica				Total	
		0	0 10	10 50	+ de 50		
Nódulos Linfóides - Região Cárdica	0	Frequência	15	10	4	0	29
		Percentual de linha	51,7%	34,5%	13,8%	0,0%	100,0%
		Percentual de coluna	57,7%	50,0%	30,8%	0,0%	48,3%
	0 0,2	Frequência	4	6	4	0	14
		Percentual de linha	28,6%	42,9%	28,6%	0,0%	100,0%
		Percentual de coluna	15,4%	30,0%	30,8%	0,0%	23,3%
	> 0,2	Frequência	7	4	5	1	17
		Percentual de linha	41,2%	23,5%	29,4%	5,9%	100,0%
		Percentual de coluna	26,9%	20,0%	38,5%	100,0%	28,3%
Total	Frequência	26	20	13	1	60	
	Percentual de linha	43,3%	33,3%	21,7%	1,7%	100,0%	
	Percentual de coluna	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	

Tabela 13. Relação entre número de nódulos linfóides e grau de colonização bacteriana na região fúndica do estômago.

	Categorias	Bactérias - Região do Fundo				Total	
		0	0 10	10 50	+ de 50		
Nódulos Linfóides - Região Fundo	0	Frequência	0	2	1	0	3
		Percentual de linha	0,0%	66,7%	33,3%	0,0%	100,0%
		Percentual de coluna	0,0%	11,1%	2,7%	0,0%	5,0%
	0 0.2	Frequência	4	5	6	0	15
		Percentual de linha	26,7%	33,3%	40,0%	0,0%	100,0%
		Percentual de coluna	80,0%	27,8%	16,2%	0,0%	25,0%
	> 0.2	Frequência	1	11	30	0	42
		Percentual de linha	2,4%	26,2%	71,4%	0,0%	100,0%
		Percentual de coluna	20,0%	61,1%	81,1%	0,0%	70,0%
Total	Frequência	5	18	37	0	60	
	Percentual de linha	8,3%	30,0%	61,7%	0,0%	100,0%	
	Percentual de coluna	100,0%	100,0%	100,0%	-	100,0%	

Tabela 14. Relação entre número de nódulos linfóides e grau de colonização bacteriana na região do corpo do estômago.

	Categorias		Bactérias - Região do Corpo				Total
			0	0 10	10 50	+ de 50	
Nódulos Linfóides	0	Frequência	0	6	1	0	7
		Percentual de linha	0,0%	85,7%	14,3%	0,0%	100,0%
		Percentual de coluna	0,0%	27,3%	2,9%	0,0%	11,7%
- Região Gástrica	0 0,2	Frequência	1	4	2	0	7
		Percentual de linha	14,3%	57,1%	28,6%	0,0%	100,0%
		Percentual de coluna	33,3%	18,2%	5,9%	0,0%	11,7%
Corpo	> 0,2	Frequência	2	12	31	1	46
		Percentual de linha	4,3%	26,1%	67,4%	2,2%	100,0%
		Percentual de coluna	66,7%	54,5%	91,2%	100,0%	76,7%
Total		Frequência	3	22	34	1	60
		Percentual de linha	5,0%	36,7%	56,7%	1,7%	100,0%
		Percentual de coluna	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%

Tabela 15. Relação entre número de nódulos linfóides e grau de colonização bacteriana na região pilórica do estômago.

	Categorias		Bactérias - Região Gástrica Píloro				Total
			0	0 10	10 50	+ de 50	
Nódulos Linfóides - Região Gástrica Píloro	0	Frequência	2	4	4	2	12
		Percentual de linha	16,7%	33,3%	33,3%	16,7%	100,0%
		Percentual de coluna	50,0%	66,7%	11,8%	12,5%	20,0%
	0 0.2	Frequência	0	1	6	2	9
		Percentual de linha	0,0%	11,1%	66,7%	22,2%	100,0%
		Percentual de coluna	0,0%	16,7%	17,6%	12,5%	15,0%
	> 0.2	Frequência	2	1	24	12	39
		Percentual de linha	5,1%	2,6%	61,5%	30,8%	100,0%
		Percentual de coluna	50,0%	16,7%	70,6%	75,0%	65,0%
Total	Frequência	4	6	34	16	60	
	Percentual de linha	6,7%	10,0%	56,7%	26,7%	100,0%	
	Percentual de coluna	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	

Tabela 16. Relação entre a densidade de células inflamatórias com o grau de colonização bacteriana na mucosa da região cárdica do estômago.

	Categorias		Bactérias - Região Gástrica Cárdica				Total
			0	0 10	10 50	+ de 50	
Células Inflamatórias - Região Gástrica Cárdica	0	Frequência	0	0	0	0	0
		Percentual de linha	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	-
		Percentual de coluna	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%
	0 10	Frequência	5	1	2	0	8
		Percentual de linha	62,5%	12,5%	25,0%	0,0%	100,0%
		Percentual de coluna	19,2%	5,0%	15,4%	0,0%	13,3%
	10 50	Frequência	21	19	10	1	51
		Percentual de linha	41,2%	37,3%	19,6%	2,0%	100,0%
		Percentual de coluna	80,8%	95,0%	76,9%	100,0%	85,0%
	> 50	Frequência	0	0	1	0	1
		Percentual de linha	0,0%	0,0%	100,0%	0,0%	100,0%
		Percentual de coluna	0,0%	0,0%	7,7%	0,0%	1,7%
Total	Frequência	26	20	13	1	60	
	Percentual de linha	43,3%	33,3%	21,7%	1,7%	100,0%	
	Percentual de coluna	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	

Tabela 17. Relação entre o número de células inflamatórias e o grau de colonização bacteriana na mucosa da região fúndica do estômago.

	Categorias		Bactérias - Região Gástrica Fundo				Total
			0	0 10	10 50	+ de 50	
Células Inflamatórias - Região Gástrica Fundo	0	Frequência	0	0	0	0	0
		Percentual de linha	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	-
		Percentual de coluna	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%
	0 10	Frequência	0	1	0	0	1
		Percentual de linha	0,0%	100,0%	0,0%	0,0%	100,0%
		Percentual de coluna	0,0%	5,6%	0,0%	0,0%	1,7%
	10 50	Frequência	5	17	33	0	55
		Percentual de linha	9,1%	30,9%	60,0%	0,0%	100,0%
		Percentual de coluna	100,0%	94,4%	89,2%	0,0%	91,7%
	> 50	Frequência	0	0	4	0	4
		Percentual de linha	0,0%	0,0%	100,0%	0,0%	100,0%
		Percentual de coluna	0,0%	0,0%	10,8%	0,0%	6,7%
Total	Frequência	5	18	37	0	60	
	Percentual de linha	8,3%	30,0%	61,7%	0,0%	100,0%	
	Percentual de coluna	100,0%	100,0%	100,0%	-	100,0%	

Tabela 18. Relação entre o número de células inflamatórias e o grau de colonização bacteriana na mucosa do corpo do estômago.

	Categorias		Bactérias - Região Gástrica Corpo				Total
			0	0 10	10 50	+ de 50	
Células Inflamatórias - Região Gástrica Corpo	0	Frequência	0	0	0	0	0
		Percentual de linha	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	-
		Percentual de coluna	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%
	0 10	Frequência	0	1	0	0	1
		Percentual de linha	0,0%	100,0%	0,0%	0,0%	100,0%
		Percentual de coluna	0,0%	4,5%	0,0%	0,0%	1,7%
	10 50	Frequência	3	21	32	1	57
		Percentual de linha	5,3%	36,8%	56,1%	1,8%	100,0%
		Percentual de coluna	100,0%	95,5%	94,1%	100,0%	95,0%
	> 50	Frequência	0	0	2	0	2
		Percentual de linha	0,0%	0,0%	100,0%	0,0%	100,0%
		Percentual de coluna	0,0%	0,0%	5,9%	0,0%	3,3%
Total	Frequência	3	22	34	1	60	
	Percentual de linha	5,0%	36,7%	56,7%	1,7%	100,0%	
	Percentual de coluna	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	

Tabela 19. Relação entre o número de células inflamatórias e o grau de colonização bacteriana na mucosa da região pilórica do estômago.

	Categorias		Bactérias - Região Gástrica Píloro				Total
			0	0 10	10 50	+ de 50	
Células Inflamatórias - Região Gástrica Píloro	0	Frequência	0	0	0	0	0
		Percentual de linha	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	-
		Percentual de coluna	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%
	0 10	Frequência	0	0	2	0	2
		Percentual de linha	0,0%	0,0%	100,0%	0,0%	100,0%
		Percentual de coluna	0,0%	0,0%	5,9%	0,0%	3,3%
	10 50	Frequência	4	5	31	16	56
		Percentual de linha	7,1%	8,9%	55,4%	28,6%	100,0%
		Percentual de coluna	100,0%	83,3%	91,2%	100,0%	93,3%
	> 50	Frequência	0	1	1	0	2
		Percentual de linha	0,0%	50,0%	50,0%	0,0%	100,0%
		Percentual de coluna	0,0%	16,7%	2,9%	0,0%	3,3%
Total	Frequência	4	6	34	16	60	
	Percentual de linha	6,7%	10,0%	56,7%	26,7%	100,0%	
	Percentual de coluna	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	

Referências Bibliográficas

- AEBISCHER, T.; LUCAS, B.; KOESLING, J.; BUMANN, D.; MEYER, T. F. How CD4+ cells may eliminate extracellular gastric Helicobacter? **Journal of Biotechnology**, v. 83, p. 77-84, 2000.
- ARAÚJO, I. C. *Helicobacter ssp* em gatos domésticos (*Felis catus*) – Utilização de Diferentes Testes de Diagnóstico e Correlação com Achados Histopatológicos na Mucosa Gástrica. **Universidade Federal Fluminense**, Niterói, Tese de mestrado, 2002.
- BANKS, J. W. Sistema Digestivo I- Canal Alimentar. In: *Histologia Veterinária Aplicada*, Editora Manole, 2 ed., 1992.
- BARBOSA, A. J. A.; SILVA, J. C. P.; NOGUEIRA, A. M. M. F.; PAULINO, E. JR.; MIRANDA, C. R. Higher incidence of *Gastrospirillum sp.* in swine with gastric ulcer of the Pars Oesophagea. **Veterinary Pathology**, v. 32, n.2, p.134- 139, 1995.
- BARKER, I. K.; VAN DREUMEL, A. A.; PALMER, N. The alimentary system. In: JUBB, K. V. F.; KENNEDY, P. C.; PALMER, N., **Pathology of Domestic Animals**, 4 ed., v. 2, p.61, 1992.
- BERGER, A. Scientists discover how *Helicobacter* survives gastric acid. **British Medical Journal**, vol. 320, p. 268, 2000.
- BOENISCH, F. Beitrag zur Altersbestimmung des Hundes nach den Schneidezähnen. **Archives Tierheilk**, vol. 39, p. 289-327, 1913.
- CASTRO, L. P.; OLIVEIRA, C. A.; ANDRADE, J. M. Gastrites. In: DANI, R.; CASTRO, L. P., **Gastroenterologia Clínica**. cap.38, v. 1, p. 763-764., 1993.

DOOLEY, C. P. Background and historical considerations of *Helicobacter pylori*. **Gastroenterology Clinics of North America**, v.22, n. 1, p. 1-2, 1993.

DORE, M. P.; BILOTTA, M.; VAIRA, D.; MANCA, A.; MASSARELLI, G.; LEANDRO, G.; ATZEI, A.; PISANU, G.; GRAHAM, D. Y.; REALDI, G. High prevalence of *Helicobacter pylori* infection in Shepherds. **Digestive Diseases and Sciences**, v. 44, n. 6,p. 1161-1164 , 1999.

DUBOIS, A. Spiral bacteria in the human stomach: the gastric *Helicobacter*. **Emerging Infectious Disease**, v.1, n.3, p.79-88, 1995.

EATON, K. A.; DEWHIRST, F. E.; PASTER, B. J.; TZELLAS, N.; COLEMAN, B. E.; PAOLA, J.; SHERDING, R. Prevalence and varieties of *Helicobacter* Species in dogs from random sources and pet dogs: animal and public health implications. **Journal of Clinical Microbiology**, v.34, n.12, p.3165-3170, 1996.

FERGUSON, D. A; LI, C.; PATEL, N. R.; MAYBERRY, W. R.; CHI, D. S.; THOMAS, E. Isolation of *Helicobacter pylori* from saliva. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 31, n.10, p.2802-2804, 1993.

FIGURA, N. Are *Helicobacter pylori* differences important in the development of *Helicobacter pylori* related diseases? **Italian Journal of Gastroenterology and Hepatology**, v. 29, n.4, p. 367-374, 1997.

FIGURA, N.; TABAQCHALI, S. Bacterial pathogenic factors. **Current Opinion in Gastroenterology**, v. 12,suppl. 1, p. 11-15, 1996.

FOX, J. G.; BATCHELDER, M.; MARINI, R.; YAN, L.; HANDT, L.; SHAMES, B.; HAYWARD, A.; CAMPBELL, J.; MURPHY, J. C. *Helicobacter pylori* induced gastritis in the domestic cat. **Infection and Immunity**, v. 63, n. 7, p. 2674-2681, 1995.

FOX, J. G. Non-Human reservoirs of *Helicobacter pylori*. **Alimentary Pharmacology Therapeutics**, v. 9 (suppl. 2), p. 93-103, 1995.

GENTA, R. M.; HAMNER, H. W. The significance of lymphoid follicles in the interpretation of gastric biopsy specimens. **Archives of Pathology and Laboratory Medicine**, v118, p.740-743, 1994.

GENTA, R. M.; ROBASON, G. O.; GRAHAM, D. Y. Simultaneous visualization of *Helicobacter pylori* and gastric morphology: A new stain. **Human Pathology**, v. 25, n. 3, 1994.

GEYER, C.; COLBATZKY, F.; LECHNER, J.; HERMANN, W. Occurrence of spiral-shaped bacteria in gastric biopsies of dogs and cats. **The Veterinary Record**, v. 133, p.18-19, 1993.

GOODMAN, K. J.; CORREA, P. The transmission of *Helicobacter pylori*. A critical review of the evidence. **International Journal of Epidemiology**, v.24, n.5, p. 875-887, 1995.

GRUBEL, P.; HOFFMANN, C.; CAVE, D. R. Vector potential of houseflies (*Musca domestica*) for *Helicobacter pylori*. **Journal of Clinical Microbiology**, v.35, n.6, p. 1300 – 1303, 1997.

HAHN, M.; FENNERTY, M. B.; CORLESS, C. L.; MARGARET, N.; LIEBERMAN, D. A.; FAIGEL, D. O. Noninvasive tests as a substitute for histology in the diagnosis of *Helicobacter pylori* infection. **Gastrointestinal Endoscopy**, v. 52, n. 1, p. 20-26, 2000.

HANDT, L. K.; FOX, J. G.; STALIS, I. H.; RUFO, R.; LEE, G.; LINN, J.; LI, X.; KLEANTHOUS, H. Characterization of feline *Helicobacter pylori* stains and associated gastritis in a colony of domestic cats. **Journal of Clinical Microbiology**, v.33, n.9, p.2280-2289, 1995.

HAPPONEN, I.; SAARI, S.; CASTREN, L.; TYNI, O; HÄNNINEN, M. L.; WESTERMARCK, E. Comparison of diagnostic methods for detecting gastric *Helicobacter*- like organisms in dogs and cats. **Journal of Comparative Pathology**, v.115, n.2, p.117-127, 1996, a.

HAPPONEN, I.; SAARI, S.; CASTREN, L.; TYNI, O; HÄNNINEN, M. L.; WESTERMARCK, E. Occurrence and topographical mapping of gastric *Helicobacter*- like organisms and their association with histological changes in apparently healthy dogs and cats. **Zentralblatt fur Veterinarmedizin**, v.43, n.5, p.305-315, 1996, b.

HARDIN, F.J.; WRIGTH, R.A. *Helicobacter pylori*: review and update. **Hospital Physician**, may, p. 23-31, 2002.

HERMANNNS, W.; KRENGEL, K.; BREUER, W.; LECHNER, J. *Helicobacter*-like organisms: histopatological examination of gastric biopsies from dogs and cats. **Journal of Comparative Pathology**, v.112, p.307-318, 1995.

HILDEBRAND, P.; MEYER-WYSS, B.M.; MOSSI, S.; BEGLINGER, C. Risk among gastroenterologists of acquiring *Helicobacter pylori* infection: case-control study. **British Medical Journal**, vol. 321, p. 149, 2000.

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

JALAVA, K.; ON, S. L. W.; VANDAMME, P. A. R.; HAPPONEN, I.; SUKURA, A; HÄNNINEN, M. Isolation and Identification of *Helicobacter sp.* from canine and feline gastric mucosa. **Applied and Environmental Microbiology**, v.64, p.3998-4006, 1998.

JENKINS, C. C.; BASSET, J. R. *Helicobacter* infection. **The compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinarian**, v.19, n.3, p.267-279, 1997.

KEKKI, M.; MAAROOS, H. I.; SIPPONEN, P.; UIBO, R.; TAMMUR, R.; TAMM, A.; VILLAKO, K. Grade of *Helicobacter pylori* colonisation in relation to gastritis: a six-year population-based follow-up study. **Scandinavian Journal Gastroenterology**, v. 26 (suppl 186), p. 142-150, 1991.

KODAIRA, M.S.; ESCOBAR, A.M.U.; GRISI, S. Aspectos epidemiológicos do *Helicobacter pylori* na infância e adolescência. **Revista Saúde Pública**, vol. 36(3), p. 356-369, 2002.

LAVELLE, J. P.; LANDAS, S.; MITROS, F. A; CONKLIN, J. L. Acute gastritis associated with spiral organisms from cats. **Digestive Diseases and Sciences**, v.39, n.4, p.744-750, 1994.

LECOINDRE, P.; CHEVALIER, M.; PEYROL, S.; BOUDE, M.; LABIGNE, A.; LAMOULIATTE, H.; PILET, C. Helicobactérioses de l' homme et des carnivores domestiques: quelques données comparatives. **Bulletin de L' Académie Nationale de Médecine.**, v.181, n. 3, p. 407-454, 1997.

LEE, A. Animal models for host pathogen interaction studies. **British Medical Bulletin**, v. 54, n. 1, p. 163-173, 1998.

LEE, A; KRAKOWKA, S.; FOX, J. G.; OTTO, G.; EATON, K. A; MURPHY, J. C. Role of *Helicobacter felis* in chronic canine gastritis. **Veterinary Pathology**, v.29, n.6, p.487-494, 1992.

MARSHALL, B. J. *Helicobacter pylori* in peptic ulcer: Have Koch's postulates been fulfilled? **Annals of Medicine**, v. 27, n. 5, p. 565-568, 1995.

MCISAAC, W. J.; LEUNG, G. M. Peptic ulcer disease and exposure to domestic pets **American Journal of Public Health**, v. 89, n.1, p. 81-84, 1999.

MEINING, A.; KROHER, G.; STOLTE, M. Animal reservoirs in the transmission of *Helicobacter heilmannii*. Results of a questionnaire based study. **Scandinavian Journal Gastroenterology**, v. 33, p. 795-798, 1998.

MOBLEY, H. L. T.; CORTESIA, M. J.; ROSENTHAL, D. E.; JONES, D. Characterization of urease from *Campylobacter pylori*. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 26, p. 831-836, 1988.

MONTGOMERY, E. A.; MARTIN, D. F.; PEURA, D. A. . Rapid diagnosis of *Campylobacter pylori* by Gram's stain. **American Journal of Clinical Pathology**, v. 90, p. 606-609, 1988.

MYSOREKAR, V. V. A.; CHITRALEKHA; DANDEKAR, P.; PRAKASH, B. S. S. Antral histopathological changes in acid peptic disease associated with *Helicobacter pylori*. **Indian Journal Pathology Microbiology**, v. 42, n. 4, p. 427-435, 1999.

NEIGER, R.; DIETERICH, C.; BURNENS, A; WALDVOGEL, A; CORTHÉSY-THELAZ, I.; HALTER, F.; LAUTERBURG, B.; SCHMASSMANN, A. Detection and prevalence of *Helicobacter* infection in pet cats. **Journal of Clinical Microbiology** , v. 36, n.3, p.634-637, 1998.

NEIGER, R.; SIMPSON, K. W. Helicobacter infection in dogs and cats: facts and fiction. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, n. 14 (suppl. 2), p. 125-133, 2000.

OTTO, G.; HAZELL, H.; FOX, J. G.; HOWLETT, C. R.; MURPHY, J. C.; O' ROURKE, J. L.; LEE, A. Animal and public health implications of gastric colonization of cats by *Helicobacter* – like organisms. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 32, n. 4, p. 1043-1049, 1994.

PERKINS, S. E.; FOX, J. G.; WALSH, J. H. *Helicobacter mustelae* associated hypergastrinemia in ferrets (*Mustela putorius furo*).**American Journal Veterinary Research**, v. 57, n. 2, p. 147-150, 1996.

RADIM, M. J.; EATON, K. A.; KRAKOWKA, S.; MORGAN, D. R.; LEE, A.; OTTO, G.; FOX, J. G. *Helicobacter pylori* gastric infection in gnotobiotic Beagle dogs. **Infection and Immunity**, v. 58, p. 2606 – 2612, 1990.

ROSS, M. H.; ROMRELL, L. J. Sistema Digestivo II : Esôfago, estômago e intestino. In: - **Histologia, Texto e Atlas**, editora panamericana, 2 ed., cap. 16, 1993.

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

SIMPSON, K. W.; NEIGER, R.; DENOVO, R.; SHERDING, R. The relationship of *Helicobacter ssp* infection to gastric disease in dogs and cats. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v.14, p.223 – 227, 2000.

STINSON, A.W.; CALHOUN, M.L. Sistema Digestivo. In: **Histologia Veterinária**. DELLMANN, H.D.; BROWN, E.M. Editora Guanabara Koogan, cap. 10, p. 181-182, 1982.

STOLTE, M.; EIDT, S. Lymphoid follicles in antral mucosa: immune response to *Campylobacter pylori*? **Journal of Clinical Pathology**, v. 42, p. 1269-1271, 1989.

STRAUSS-AYALI-AYALI, D.; SIMPSON, K. W. Gastric *Helicobacter* infection in dogs. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, v. 29, n. 2, p.397-414, 1999.

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

VANDENPLAS, Y.; BADRIUL, H. *Helicobacter pylori* infection. **Acta Paediatrica Taiwanica**, v.40, p.212-224, 1999.

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

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

YAMASAKI, K.; SUEMATSU, H.; TAKAHASHI, T. Comparison of gastric lesions in dogs and cats with and without gastric spiral organisms. **Journal American Veterinary Medical Association**, v. 212, n. 4, p. 529-533, 1998.

YEOMANS, N.; KOLT, S. D. *Helicobacter heilmannii* (formerly *Gastrospirillum*): association with pig and human gastric pathology. **Gastroenterology**, v. 111, p. 244 – 247, 1996.