

THIAGO PIRES ANACLETO

**ESTUDO DA RECORRÊNCIA DO *HELICOBACTER*
spp. NA MUCOSA GÁSTRICA DE CÃES APÓS
TERAPIA TRÍPLICE**

Campinas
UNICAMP
2010

THIAGO PIRES ANACLETO

**ESTUDO DA RECORRÊNCIA DO *HELICOBACTER*
spp. NA MUCOSA GÁSTRICA DE CÃES APÓS
TERAPIA TRÍPLICE**

Dissertação de Mestrado apresentada à Pós-graduação da
Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual
de Campinas para obtenção do título de Mestre em
Cirurgia, área de concentração Pesquisa Experimental.

ORIENTADOR: PROF. DR. LUIZ ROBERTO LOPES
CO-ORIENTADOR: PROF. DR. NELSON ADAMI ANDREOLLO

Campinas
UNICAMP
2010

**FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA DA FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS DA UNICAMP**
Bibliotecário: Sandra Lúcia Pereira – CRB-8ª / 6044

An13h Anacleto, Thiago Pires
Avaliação da recorrência do *Helicobacter* spp. na mucosa gástrica de
cães após terapia tripla / Thiago Pires Anacleto. Campinas, SP :
[s.n.], 2010.

Orientadores : Luiz Roberto Lopes; Nelson Adami Andreollo
Dissertação (Mestrado) Universidade Estadual de Campinas.
Faculdade de Ciências Médicas.

1. Helicobacter. 2. Endoscopia. 3. Estômago. 4. Cães. I.
Lopes, Luiz Roberto. II. Andreollo, Nelson Adami. III.
Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Ciências Médicas.
IV. Título.

Título em inglês: *Helicobacter* spp. recurrence study in gastric mucosal after triple therapy in dogs

Keywords: . *Helicobacter*
. Endoscopy
. Stomach
. Dog

Titulação: Mestre em Cirurgia
Área de concentração: Pesquisa Experimental

Banca examinadora:

Prof. Dr. Luiz Roberto Lopes
Prof. Dr. José Murilo Robilotta Zeitune
Prof. Dr. Luiz Carlos de Andrade

Data da defesa: 12 – 08 - 2010

Banca Examinadora da Dissertação de Mestrado

Thiago Pires Anacleto

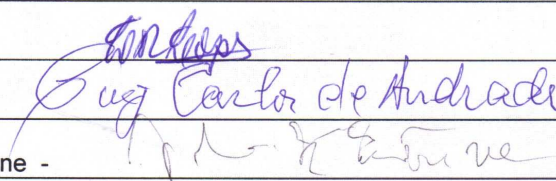
Orientador: Prof. Dr. Luiz Roberto Lopes

Membros:

1. Prof. Dr. Luiz Roberto Lopes -

2. Prof. Dr. Luiz Carlos de Andrade -

3. Prof. Dr. Jose Murilo Robilotta Zeitune -



Curso de Pós-Graduação em Cirurgia da Faculdade de Ciências Médicas
da Universidade Estadual de Campinas.

Data: 12/08/2010

DEDICATÓRIA

*“Médico Cirurgião.
57 anos dedicados à medicina.
No interior de Minas Gerais, foi pioneiro.
De atendimentos e partos em vilarejos, às toracotomias com ombredane.
Doutor íntegro, de extrema competência e habilidade. Calmo, dedicado e HUMANO.
Praticou a medicina com benignidade e honradez.
Sorte, tinham seus pacientes em tê-lo ao lado deles.
Salvou muitas vidas. E trouxe outras tantas por suas mãos. Inclusive, eu.
Obrigado Dr. Maurício Antônio Anacleto!
Meu grande amigo, meu orgulho, meu herói, meu guardador e MEU PAI.
Que me incentivou e me motivou neste estudo.
Oh, mestre!
À sua memória dedico nosso trabalho.”*

Thiago Pires Anacleto

AGRADECIMENTOS

Ao **Prof. Dr. Luiz Roberto Lopes**, que se dispôs em me orientar neste trabalho. Sempre muito atencioso, compreensivo, dedicado. Sua postura e seus conselhos contribuíram de forma marcante no meu aprendizado científico e profissional.

Ao **Prof. Dr. Nelson Adami Andreollo**, profissional de grande respeito, por quem tenho grande admiração, agradeço por me receber como aluno, pela confiança, pela paciência e ajuda no projeto, pela aquisição dos medicamentos e pela grande oportunidade de convivência e aprendizado.

Ao **Prof. Dr. Norair Salviano dos Reis**, que me deu a oportunidade de ingressar no curso de mestrado desta escola. Obrigado pela convivência agradável, ensinamentos, conselhos, pelo incentivo desde a iniciação científica e por me mostrar a importância da pesquisa experimental.

À minha esposa **Graziella Souza Vilhena Anacleto**, pelo amor e companheirismo diários, paciência e compreensão nos meus momentos de ausência durante este estudo.

À minha filha **Maria Eduarda**, que me inspira, me motiva e ilumina minha vida.

Ao meu pai **Maurício Antônio Anacleto** (*in memoriam*), por ter sido tão bom, de coração puro, por ter me feito um filho muito feliz, satisfeito e por continuar a iluminar meu caminho.

À minha querida e amada mãe **Ione Pires Anacleto**, por sempre acreditar na minha capacidade e com muito amor e bondade, me dá força e sabedoria para saber gerir minhas emoções e meus pensamentos.

Aos meus irmãos **Alexandre, Tereza Cristina, Fernando, Dilermando, Valéria, Patrícia e Manoel** pela grande união e amizade que temos. E mesmo longe me dão apoio, segurança e amparo.

À **Profa. Dra. Maria Aparecida Mesquita e Profa. Dra. Raquel Leal**, membros da banca da Aula de Qualificação, pelas valiosas contribuições e sugestões para o trabalho e apresentação da tese.

Ao **Prof. Dr. José Murilo Ribilotta Zeitune e Prof. Dr. Luiz Carlos de Andrade**, membros da banca examinadora da defesa de tese, por se disponibilizarem em avaliar e contribuir com nosso trabalho.

Ao **Prof. Dr. Mário Mantovani, Prof. Dr. Nelson Adami Andreollo, Prof. Dr. Sebastião Araújo, Prof. Dr. Paulo César Rodrigues Palma e Prof. Dr. Willian Dias Belangero** pelas agradáveis e influentes aulas de Pedagogia Médica e Didática Especial em Cirurgia.

À **Profa. Dra. Maria Cristina Costa Resck**, sempre presente, com opiniões, críticas, apoio pessoal e profissional. Obrigado pela confiança, pela amizade saudável, sólida e leal. Pelas viagens repletas de histórias, pelo incentivo e auxílio incondicional.

À **Profa. Dra. Taís Maria Pinheiro Soares** pelo apoio, aprendizagem constante, pelas várias viagens a Campinas regadas a histórias, risadas e descontração.

Ao **Prof. Msc. Rodolfo Malagó** pela oportunidade da docência, pela confiança no meu trabalho, troca de experiências profissionais e pela amizade.

À **Marina Rachel Araújo**, bióloga do Laboratório de Enzimologia e Carcinogênese, por nos receber sempre de braços abertos no Núcleo de Medicina e Cirurgia Experimental FCM-UNICAP, pelo apoio, pela sua alegria e pela ajuda providencial com as lâminas histopatológicas.

Ao Prof. Dr. Walter Octaviano Bernis Filho, pelos ensinamentos e apoio neste trabalho, pela amizade e coleguismo nas viagens e nas aulas na Unicamp.

Ao Prof. Dr. Venilton José Siqueira pelo apoio na iniciação científica e em minha iniciação profissional, pelos ensinamentos e incentivo para a pós-graduação.

À Prof. Dra. Ângela Akamatzu pela amizade, pelo convívio profissional, interesse e acompanhamento clínico dos cães durante o experimento.

À Profa. Msc. Valéria Magro Octaviano Bernis Filho por suas constantes e valiosas opiniões e conselhos sobre o nosso estudo.

Ao Prof. Msc. Paulo Afonso Oliveira Ferreira por sempre me apoiar permitindo a utilização do espaço físico e dos animais do Hospital Veterinário da Universidade José do Rosário Velano-UNIFENAS na realização das endoscopias piloto do experimento.

Ao Prof. Dr. Adriano Macedo, docente da disciplina de Patologia da Faculdade de Ciências Médicas-UNIFENAS, por disponibilizar o equipamento e o laboratório para confecção das fotos das lâminas de histopatologia.

À Faculdade de Ciências Médicas da UNICAMP, pela oportunidade da pós-graduação e desenvolvimento científico.

À Comissão de Pós-graduação da FCM-UNICAMP pelo apoio didático e científico, assim como o apoio e informação por parte do secretariado.

Ao Departamento de Estatística da FCM-UNICAMP pela elaboração da análise estatística.

À Paula Léa Flauzino da Costa Ferreira, secretária da pós-graduação em cirurgia pela disposição em ajudar nos assuntos acadêmicos.

A todos os profissionais e funcionários do **Núcleo de Medicina e Cirurgia Experimental FCM-UNICAMP**, que estiveram sempre disponíveis em ajudar.

À **Fundação de Ensino e Pesquisa de Itajubá-FEPI**, por confiar no meu trabalho, pela credibilidade e oportunidade da docência, por apoiar nosso estudo e ceder espaço físico para a realização do experimento.

À **Maria do Rosário de Moraes**, administradora do Hospital Escola de Medicina Veterinária da Fundação de Ensino e Pesquisa de Itajubá-FEPI, que contribuiu ativamente para o desenvolvimento do experimento.

Ao **Sr. José**, funcionário do Hospital Escola de Medicina Veterinária da Fundação de Ensino e Pesquisa de Itajubá-FEPI, que com grande presteza auxiliou na higienização dos canis, manutenção dos cães e na administração dos medicamentos aos animais.

À **Universidade José do Rosário Veloso-UNIFENAS**, na pessoa do **Prof. Dr. Mário Sérgio Oliveira Swerts** por apoiar nosso trabalho e manter disponível o Hospital Veterinário para realização das endoscopias e experimento piloto.

Ao laboratório **EMS -Sigma Pharma**, por nos ceder o medicamento Helicopac®.

	Pág.
RESUMO.....	xix
ABSTRACT.....	xxi
1- INTRODUÇÃO.....	23
1.1 – Revisão de literatura.....	25
1.1.1 - o gênero <i>Helicobacter</i>	25
1.1.2 - <i>Helicobacter</i> spp. no estômago de cães.....	29
1.1.3 - Epidemiologia.....	31
1.1.4 – Diagnóstico do <i>Helicobacter</i> spp.....	32
1.1.4.1 - Teste da urease.....	32
1.1.4.2 - Citologia.....	33
1.1.4.3 - Cultura.....	33
1.1.4.4 - Histopatologia.....	34
1.1.4.5 - Sorologia.....	34
1.1.4.6 - PCR.....	34
1.1.4.7 - Teste respiratório.....	35
1.1.4.8 - Antígeno Fecal Específico – Premier Platinum HpSA.....	35
1.1.5 - Transmissão.....	35
1.1.6 – Tratamento	37
1.1.7 – Recorrência da infecção.....	40
1.2 – Objetivos	41
2 – MATERIAL E MÉTODOS.....	43
2.1 – Animais.....	44
2.2 – Ambiente de experimentação.....	45
2.3 – Alimentação.....	46
2.4 – Anestesia.....	47
2.4.1 – Procedimentos pré-anestésicos.....	47
2.4.2 – Equipamentos.....	47

2.4.3 – Fármacos.....	47
2.4.4 – Procedimento anestésico.....	48
2.5 – Endoscopia digestiva alta.....	48
2.5.1 – Equipamentos e instrumentais.....	48
2.5.2 – Agentes desinfetantes.....	50
2.5.3 – Agentes fixadores.....	51
2.5.4 – Fármacos antimicrobianos.....	51
2.5.5 – Esofagogastroduodenoscopia.....	51
2.6 – Grupos de animais.....	52
2.6.1 - Grupo I.....	52
2.6.2 - Grupo II.....	53
2.6.2.1 Grupo experimento.....	53
2.6.2.2 Grupo controle.....	54
2.7 - Teste da urease.....	56
2.8 – Conservação e processamentos das amostras.....	56
2.9 – Análise histopatológica.....	57
2.10 – Análise clínica.....	57
2.11 – Análise estatística.....	57
3 - RESULTADOS.....	59
3.1 - Morfologia das bactérias.....	60
3.2 – Prevalência e distribuição do <i>Helicobacter</i> spp.....	60
3.2.1 – Grupo controle.....	64
3.2.1.1 – Terapia.....	64
3.2.1.2 – Recorrência da infecção.....	64
3.2.2 – Grupo experimento.....	67
3.2.2.1 – Terapia.....	67
3.2.2.2 – Recorrência da infecção.....	68
3.3 – Análise do teste rápido da urease e da histopatologia.....	72
3.4 – Análise clínica.....	72
4 – DISCUSSÃO.....	73
4.1- Endoscopia digestiva em cães.....	74

4.2 – <i>Helicobacter</i> spp. em cães.....	76
4.3 – Teste da urease versus Histopatologia.....	78
4.4 – Erradicação versus recorrência do <i>Helicobacter</i> spp.....	79
4.5 – Transmissão do <i>Helicobacter</i> spp.....	81
4.6 – Potencial zoonótico do <i>Helicobacter</i> spp.....	83
4.7 – Pesquisa experimental.....	84
5 – CONCLUSÕES.....	85
6 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	87
7 – APÊNDICES.....	97

LISTA DE ABREVIATURAS

ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
et al	e colaboradores
FEPI	Fundação de Ensino e Pesquisa de Itajubá
1ª ENDO	Primeira endoscopia
2ª ENDO	Segunda endoscopia
3ª ENDO	Terceira endoscopia
MALT	Mucosa Associated Lymphoid Tissue
spp.	espécies
H.E.	Hematoxilina e eosina
PCR	Polymerase Chain Reaction
¹³C-uréia	uréia marcada com carbono estável
¹⁴C-uréia	uréia marcada com carbono radioativo
HpSA	<i>Helicobacter pylori</i> Stool Antigens
HCl	ácido clorídrico
Kg	Quilograma
g	grama
mg	miligrama
L	litros
mL	mililitros
m²	milímetros quadrados
nº	número
W	watts

LISTA DE TABELAS

	Pág.
Tabela 1 Análise descritiva de frequências para variáveis categóricas nos 20 cães na primeira endoscopia.....	99
Tabela 2 Análise descritiva de frequências para variáveis categóricas nos 10 cães na segunda endoscopia.....	99
Tabela 3 Análise descritiva de frequências para variáveis categóricas nos 5 cães do grupo controle na terceira endoscopia.....	99
Tabela 4 Análise descritiva de frequências para variáveis categóricas nos 5 cães do grupo experimento na terceira endoscopia.....	99
Tabela 5 Análise descritiva e concordância entre os métodos de avaliação em cada região do estômago.....	100
Tabela 6 Análise descritiva e comparação da recorrência da infecção entre os grupos.....	100

LISTA DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1 Canil coletivo utilizado no experimento.....	45
Figura 2 Canis individuais utilizados no experimento.....	46
Figura 3 Sala de endoscopia digestiva do centro cirúrgico do Hospital Escola de Medicina Veterinária do Centro Universitário de Itajubá-FEPI.....	46
Figura 4 Gastrofibróscópio Pentax FG-29P.....	49
Figura 5 Pinça de biópsia.....	50
Figura 6 Uretest® - Teste rápido da urease.....	50
Figura 7 Procedimento de endoscopia digestiva alta e fragmento de mucosa gástrica após coleta com pinça de biópsia tipo fórceps.....	52
Figura 8 Relação entre a visão endoscópica e desenho representativo das regiões do estômago onde foram colhidas as amostras.....	53
Figura 9 Helicopac®. Especialidade farmacêutica utilizada para erradicação do <i>Helicobacter pylori</i> em humanos à base de claritromicina, amoxicilina e lansoprazol.....	55
Figura 10 Fluxograma da divisão dos grupos e realização das endoscopias durante a pesquisa.....	55
Figura 11 Teste rápido da urease demonstrando viragem de cor rosa para amostra com	

resultado positivo e manutenção da cor laranja para amostra com resultado negativo.....	56
Figura 12 Fotomicroscopia de corpo gástrico demonstrando bactérias longilíneas com morfologia em espiral evidente; Giemsa modificado, 1000x.....	60
Figura 13 Fotomicroscopia gástrica demonstrando os locais onde foram visibilizadas as helicobactérias.....	61
Figura 14 Fotomicroscopia de antro gástrico demonstrando helicobactérias colonizando o muco;Giemsa, 400x.....	61
Figura 15 Fotomicroscopia de fundo gástrico realizada, antes da terapia, demonstrando helicobactérias junto ao muco e na superfície epitelial (setas); Giemsa, 400x.....	62
Figura 16 Fotomicroscopia de fundo gástrico realizada em animal do grupo experimento, antes da terapia, demonstrando helicobactérias no fundo das criptas e lúmen das glândulas (setas); Giemsa, 400x.....	62
Figura 17 Fotomicroscopia gástrica realizada antes da terapia, demonstrando helicobacterias no fundo das criptas; Giemsa modificado, 400x.....	63
Figura 18 Fotomicroscopias gástricas realizadas em animal do grupo controle, 1 dia após o término da terapia tríplice, demonstrando ausência de helicobactérias na superfície do epitélio (A) e no muco (seta) e no lúmen das glândulas (B); Giemsa, 400x.....	66
Figura 19 Fotomicroscopia gástrica realizada em animal do grupo controle, 1 dia após o término da terapia tríplice, demonstrando ausência de helicobactérias no fundo das criptas gástricas; Giemsa modificado, 400x.....	66

Figura 20	Fotomicroscopia de fundo gástrico realizada em animal do grupo controle, 60 dias após a terapia tríplice, demonstrando ausência de helicobactérias; Giemsa, 400x.....	67
Figura 21	Fotomicroscopia gástrica realizada em animal do grupo experimento, 1 dia após o término da terapia tríplice, demonstrando ausência de helicobactérias no fundo das criptas; Giemsa, 400x.....	69
Figura 22	Fotomicroscopia gástrica realizada em animal do grupo experimento, 1 dia após o término da terapia tríplice, demonstrando ausência de helicobactérias no muco e no fundo das criptas; Giemsa modificado, 400x.....	70
Figura 23	Fotomicroscopia gástrica realizada em animal do grupo experimento, após 60 dias de contato com grupo I, demonstrando a presença de helicobactérias na superfície do epitélio; Giemsa, 400x.....	70
Figura 24	Fotomicroscopias gástricas realizadas em animal do grupo experimento, após 60 dias de contato com grupo I, demonstrando helicobactérias na superfície do epitélio e nas criptas gástricas; Giemsa, 400x.....	71
Figura 25	Fotomicroscopias gástricas realizadas em animal do grupo experimento, após 60 dias de contato com grupo I, demonstrando helicobactérias presentes no muco e superfície do epitélio (setas); Giemsa modificado, 400x.....	71

LISTA DE GRÁFICOS

	Pág.
Gráfico 1 Frequência do <i>Helicobacter</i> spp. nas diferentes regiões do estômago dos 20 cães antes da terapia pelo teste da urease e pela histopatologia.....	63
Gráfico 2 Frequência do <i>Helicobacter</i> spp. nas diferentes regiões do estômago no grupo controle através do teste rápido da urease. Antes da terapia (1ª ENDO), um dia após o término da terapia (2ª ENDO) e após 60 dias em isolamento (3ª ENDO).....	65
Gráfico 3 Frequência do <i>Helicobacter</i> spp. nas diferentes regiões do estômago no grupo controle através da histopatologia. Antes da terapia (1ª ENDO), um dia após o término da terapia (2ª ENDO) e após 60 dias em isolamento (3ª ENDO).....	65
Gráfico 4 Frequência do <i>Helicobacter</i> spp. nas diferentes regiões do estômago no grupo experimento através do teste rápido da urease. Antes da terapia (1ª ENDO), um dia após o término da terapia (2ª ENDO) e após 60 dias de contato com grupo I (3ª ENDO).....	68
Gráfico 5 Frequência do <i>Helicobacter</i> spp. nas diferentes regiões do estômago no grupo experimento através da histopatologia. Antes da terapia (1ª ENDO), um dia após o término da terapia (2ª ENDO) e após 60 dias de contato com grupo I (3ª ENDO).....	69

RESUMO

Após a comprovação da relação entre a presença da bactéria *Helicobacter pylori* e a gênese da gastrite, úlcera gástrica e duodenal em humanos, outras espécies de bactérias espiraladas foram identificadas e descritas em diversas espécies de animais incluindo os cães. A associação da amoxicilina, metronidazol e um inibidor de secreção ácida tem sido utilizada na erradicação do *Helicobacter* spp. em cães e geralmente são acompanhados de recorrência ou recrudescência a longo prazo. Os mecanismos de transmissão das helicobactérias ainda não estão bem esclarecidos. O objetivo deste trabalho foi avaliar a eficácia da terapia tripla à base de claritromicina, amoxicilina e lansoprazol em cães naturalmente infectados pelo *Helicobacter* spp. e analisar a recorrência da infecção. Neste estudo, foram utilizados 20 cães naturalmente infectados, submetidos à endoscopia digestiva alta seguida de biópsia gástrica usando teste rápido da urease e histopatologia corada pelo Giemsa. Dez animais foram tratados com terapia tripla preconizada para humanos e divididos em grupo controle e experimento. O grupo controle foi mantido em isolamento enquanto que o grupo experimento foi colocado em contato com os animais positivos durante 60 dias. A prevalência da infecção nos animais deste experimento foi de 100% e mais frequente no fundo e corpo gástrico. A terapia por 7 dias foi eficaz em 100% dos animais. Houve recorrência da infecção em 80% dos cães do grupo experimento enquanto que o grupo controle manteve-se erradicado após 60 dias. Ambientes aglomerados e o íntimo contato com cães infectados por helicobactérias é fator determinante para transmissão do *Helicobacter* spp entre caninos.

ABSTRACT

After stating the relation between the presence of the *Helicobacter pylori* bacteria and the gastritis genesis, gastric and duodenal ulcer in human, other species of spiral bacteria were identified and described in many animal species including dogs. Metronidazol, amoxiciline and acid secretion inhibitor are the most used drugs of *Helicobacter* spp. eradication in dogs, as a general to occur recurrence or recrudescence. The helicobacter transmission mechanisms aren't clear yet. The purpose of this study was to analyze the triple antimicrobial therapy, with claritromicine, amoxiciline and lansoprazol in positive *Helicobacter* spp. dogs and investigate recurrence. Twenty dogs were submitted to superior endoscopy, gastric biopsy, urease test and histopathology blushed with Giemsa. Ten dogs were submitted the triple therapy in isolate kennel, divided in control group and experiment group. The experiment group were to keep in touch with infected dogs for sixty days. The prevalence of *Helicobacter* spp. was 100%. The triple therapy was effective in all dogs after 7 days. Recurrence was observed in 80% of the experiment group after sixty days. The triple antimicrobial therapy is effective in eradication gastric *Helicobacter* spp. in dogs. The contact with infected dogs determine recurrence cases.

1 - INTRODUÇÃO

Desde que MARSHALL e WARREN, em 1982, comprovaram a relação entre bactérias espiraladas, especificamente o *Helicobacter pylori*, e a gênese da gastrite e úlcera gástrica e duodenal, rapidamente, esta bactéria tornou-se alvo de incontáveis estudos microbiológicos, histológicos, epidemiológicos, imunológicos, clínicos, entre outros. Conseqüentemente em curto período de tempo, os avanços do conhecimento na área puderam ser utilizados, de forma revolucionária, na prática médica diária de clínicos e gastroenterologistas.

Strauss-Ayali & Simpson (1999), citam que os primeiros organismos espiralados gástricos em humanos foram descritos por Bottcher (1874). Em animais, tais bactérias também tem sido observadas há mais de um século (Happonen et al, 2000). Rappin em 1881 e Bizzozero em 1893, confirmaram a presença da bactéria no estômago de cães (Vieira, 2004). Salomon 1896, citado por Strauss-Ayali & Simpson (1999), investigou animais domésticos e silvestres constatando a presença de organismos em espiral no lúmen de glândulas fúndicas e em canalículos intracelulares de células parietais gástricas em cães, gatos e ratos.

Atualmente diversas espécies compõem o gênero *Helicobacter*, e compartilham propriedades comuns, especialmente aquelas relacionadas com a vida no estômago, onde podem localizar-se no fundo, no corpo e no antro.

A espécie *Helicobacter pylori* está relacionada á patogênese da gastrite, da úlcera gástrica, duodenal, como indutor do carcinoma gástrico e do linfoma gástrico tipo MALT (Mucosa-Associated Lymphoid Tissue) primário em humanos.

A avaliação histológica do estômago da espécie canina revelou a presença de helicobactérias diferentes ao *Helicobacter pylori*, com ocorrência predominante no corpo e fundo gástricos, tanto em cães sadios quanto naqueles com sintomas de doença gástrica.

Trabalhos recentes demonstraram taxas de até 100% de prevalência da bactéria na mucosa gástrica de cães, o que sugere que o *Helicobacter* spp possa ser um dos componentes normais da flora gástrica do cão.

Estudos epidemiológicos mostram que mais metade da população mundial possa estar infectada e que a maioria das pessoas é colonizada ainda na idade escolar. A prevalência da infecção aumenta com a idade, é maior nos países em desenvolvimento e em pessoas de baixo nível sócio-econômico.

A forma exata pela qual a transmissão de bactérias do gênero *Helicobacter* ocorre, em humanos e em animais, ainda não está bem esclarecida.

Os esquemas terapêuticos preconizados para a erradicação do *Helicobacter pylori* constituem-se de dois antibióticos e um anti-secretor.

A recidiva da infecção após tratamento parece ser comum e está diretamente relacionada às vias de transmissão da bactéria.

Trabalhos não específicos sobre a transmissão destes microorganismos sugerem que, um novo exame endoscópico, a ingestão de alimentos ou água contaminados, o contato direto com indivíduos infectados principalmente em situações de aglomerados familiares poderiam funcionar como importantes vias de contágio.

1.1 - REVISÃO DE LITERATURA

1.1.1 - O gênero *Helicobacter*

As bactérias espiraladas observadas na mucosa gástrica de humanos e animais foram inicialmente classificadas no gênero *Campylobacter*, mas devido à diferenças microbiológicas observadas, o novo gênero *Helicobacter* foi sugerido em 1989 (Hermanns *et al*, 1995).

O gênero *Helicobacter* foi definido por estudos de composição do RNA ribossômico, de seqüenciamento e hibridação do DNA da bactéria. Pertence à superfamília VI de bactérias gram-negativas juntamente com os gêneros *Campylobacter*, *Aerobacter* e *Wolinella* (Ladeira, 2003).

São bactérias microaerófilas, espiraladas ou encurvadas, de superfície lisa e medem aproximadamente 0,1 µm a 0,5µm de largura por 3µm de comprimento. Possuem extremidades arredondadas acompanhadas de tufo de flagelos unipolares ou bipolares (Ladeira, 2003).

Cerca de vinte e sete espécies já foram descobertas e relatadas colonizando órgãos do sistema digestivo de homens e animais. Há espécies em que ainda não se demonstrou ação patogênica na espécie humana, mas que desempenham papel importante em pesquisas experimentais com animais. Tais espécies compartilham propriedades comuns, especialmente aquelas relacionadas a vida e o parasitismo do estômago e intestino. Helicobactérias intestinais podem ser encontradas em órgãos como o intestino grosso e fígado, relacionadas a quadros de gastroenterites (Oliveira, 2008).

As espécies *Helicobacter cinaedi*, *Helicobacter canis*, *Helicobacter pullorum*, *Helicobacter fennelliae*, *Helicobacter hepaticus*, *Helicobacter cholecystus*, *Helicobacter parametensis*, *Helicobacter muridarum* pertencem ao gênero de helicobactérias intestinais. (Oliveira, 2007).

O gênero de bactérias que parasitam o estômago é representado principalmente pelas espécies *Helicobacter pylori*, *Helicobacter heilmannii*, *Helicobacter felis*, *Helicobacter bizzozeronii*, *Helicobacter salomonis*, *Helicobacter suis*, *Helicobacter mustellae*, *Helicobacter nemestrinae*, *Helicobacter acinonychis* (Oliveira, 2008).

Segundo Ladeira *et al* (2003) a infecção pelo *Helicobacter pylori* induz inflamação persistente na mucosa gástrica de humanos, com diferentes lesões, tais como gastrite crônica, úlcera péptica e câncer gástrico.

Evidências recentes demonstram que cepas do *Helicobacter pylori* apresentam diversidade genotípica, cujos produtos acionam o processo inflamatório por meio de mediadores e citocinas, que podem levar a diferentes graus de resposta inflamatória do hospedeiro, resultando em diferentes destinos patológicos. (Ladeira *et al*, 2003).

Segundo Oliveira (2008) o *Helicobacter heilmannii* também é um microorganismo associado à presença de gastrite em humanos adultos e crianças. A incidência de gastrite causada por esta espécie é menor do que pelo *Helicobacter pylori* e a infecção mista é rara.

Eaton *et al* (1996) relata que o *Helicobacter heilmannii* e o *Helicobacter bizzozeroni* são espécies morfollogicamente semelhantes. Apresentam formato em espiral evidente e comprimento menor que o *Helicobacter pylori*.

Em 1997, Jalava *et al* descreveram o *Helicobacter salomonis* como um microorganismo mais espesso e com ondulações mais discretas que as demais espécies.

Lee *et al.* (1988) descreveram pela primeira vez a cultura de um microorganismo espiralado com fibrilações periplasmáticas na membrana citoplasmática. Esta bactéria foi isolada do estômago de gatos, com características bioquímicas semelhantes às bactérias do gênero *Helicobacter* e o designaram *Helicobacter felis*.

Felinos selvagens, de parques zoológicos, como os guepardos, tem sido reportados com gastrite crônica associada à helicobacterias de menor tamanho semelhantes ao *Helicobacter pylori*, designadas *Helicobacter acinonychis* (Solnick & Schauer, 2001).

Happonen (1999) cita que as espécies *Helicobacter helimanni*, *Helicobacter bizzozeroni*, *Helicobacter felis*, *Helicobacter salomonis* tem sido encontradas comumente associadas à mucosa gástrica de animais domésticos.

De acordo com Ladeira *et al* (2003), as helicobactérias distribuem-se de maneira focal, segmentar ou difusa ao longo da mucosa gástrica. Possuem afinidade pelo epitélio gástrico e células produtoras de muco. Movem-se facilmente devido sua morfologia em espiral e a presença de flagelos e, assim atravessam a camada de muco estabelecendo íntimo contato com o epitélio gástrico. Lipases e proteases produzidas pela bactéria, degradam o gel viscoelástico facilitando sua progressão e neste local encontram pH neutro se protegendo fisicamente da ação deletéria do suco gástrico.

Além desta proteção física, um mecanismo químico oferece alta resistência ao ácido clorídrico e dá à bactéria a capacidade de desfrutar de uma vida parasitária longa. A

produção da enzima urease pelo *Helicobacter* spp. induz hidrólise da uréia, presente na secreção gástrica em condições normais. O produto desta reação é o dióxido de carbono e a amônia que atua como receptor de íons H⁺, gerando pH neutro em seu interior. (Ladeira *et al.*, 2003)

A maior parte da urease produzida fica no citoplasma e a quantidade de amônia produzida depende da quantidade de uréia que entra em seu citoplasma. (Ladeira *et al.*, 2003).

Estudos específicos demonstraram que a entrada de uréia na bactéria é acelerada em pH 5 e diminuída em pH 7 (Ladeira *et al.*, 2003).

Ladeira *et al.*, (2003), também descrevem que outras enzimas, tais como superóxido desmutase, catalase e arginase, conferem proteção, à bactéria, contra a atividade lítica de macrófagos e neutrófilos, impedindo uma resposta eficaz do hospedeiro.

O contato íntimo entre a bactéria e a mucosa gástrica estimula a liberação de citocinas e conseqüente migração de infiltrado inflamatório geralmente composto por neutrófilos, linfócitos e células gigantes, caracterizando quadros de gastrite. Ocorre liberação de radicais livres, danos oxidativos ao DNA da célula, podendo gerar morte celular, atrofia de epitélio e metaplasia intestinal. A multiplicação de células com DNA defeituoso pode evoluir tanto para gastrite atrófica e metaplasia quanto para o câncer gástrico. (Ladeira *et al.*, 2003)

A presença do *Helicobacter pylori*, em humanos, associado à gastrite e ao adenocarcinoma gástrico é maior na região do antro do que nas demais localidades do estômago. (Ladeira *et al.*, 2003; Pereira *et al.*, 2001).

Muller *et al.* (2007), cita que além da presença da bactéria, possivelmente outros fatores de estão envolvidos no processo da carcinogênese gástrica.

Hiperplasias linfóides também estão associadas à infecção crônica e se caracterizam como linfoma do tipo MALT (Mucosa-Associated Lymphoid Tissue). Tais lesões tem sido frequentemente diagnosticada em humanos associadas à infecção crônica

pelo *Helicobacter pylori* e em menor frequência ao *Helicobacter heilmannii* (Pereira *et al*, 2001; Souza *et al*, 2004; Groote *et al*, 2005).

1.1.2 - *Helicobacter* spp. no estômago de cães

A avaliação histológica do estômago de cães, sadios e com doença gástrica, tem mostrado a presença de bactérias espiraladas, principalmente as espécies *Helicobacter heilmannii*, *Helicobacter bizzozeronii* e *Helicobacter salomonis* (Takemura, 2007; Happonen, 1999).

A ocorrência de infecção mista em cães pelas espécies *Helicobacter bizzozeronii* e *Helicobacter felis* foi descrita por Happonen (1999).

De acordo com Souza (2004), apesar das helicobactérias colonizarem todas as regiões do estômago de cães, a frequência parece ser maior nas regiões do corpo e do fundo gástricos.

Vieira (2004) também descreve que, de acordo com o teste da urease, todas as regiões do estômago de cães são colonizadas pelo *Helicobacter* spp. sendo que, o corpo e fundo são as regiões mais frequentes. Pela histopatologia são encontradas parasitando o muco, o epitélio e as glândulas gástricas.

Souza (2004) realizou estudo histopatológico e sorológico específico para *Helicobacter pylori* em cães e observou colonização por helicobactérias diferentes ao *Helicobacter pylori* sugerindo infecção pela espécie *Helicobacter heilmannii* diferenciada morfológicamente por microscopia ótica e conclui que a sorologia pode apresentar reação cruzada entre espécies gerando resultados falsos positivos para *Helicobacter pylori*.

Segundo Niger e Simpson (2008) o *Helicobacter pylori* é encontrado raramente em gatos domésticos e ainda não foi relatada sua presença no estômago de cães naturalmente infectados.

Rossi *et al* (1999) criaram um modelo experimental inoculando cepas de *Helicobacter pylori* no estômago de cães da raça beagle, os quais foram acompanhados,

cl clinicamente, endoscopicamente e histologicamente por 24 semanas. Este trabalho demonstrou uma fase aguda seguida por vômitos, diarreia, gastrite caracterizada por infiltrado polimorfonuclear e sorologia positiva específica para *Helicobacter pylori*. A fase crônica foi marcada por erosões superficiais, gastrite e folículos linfóides.

Simpson *et al* (1999) já haviam relatado o desenvolvimento de gastrite provocada por *Helicobacter felis* em cães experimentalmente infectados.

Sinais clínicos de gastropatia como vômitos são freqüentes em cães (Geyer *et al*, 1993). As helicobactérias foram descritas em animais clinicamente sadios e em animais com gastropatia, e seu significado patológico é controverso (Eaton *et al*, 1996; Happonen, 1996; Geyer *et al*, 1993).

As helicobactérias gástricas que infectam naturalmente os cães são encontradas no muco, na superfície do epitélio gástrico, no fundo das criptas e no interior das glândulas. (Souza *et al*, 2004; Vieira 2004, Takemura, 2007).

A maioria dos casos de infecção natural pelo *Helicobacter* spp. em cães são caracterizados por gastrite linfocítica leve assintomática (Eaton *et al*, 1996; Happonen, 1996).

Geyer *et al* (1993) Yamasaki *et al* (1998), observaram alterações como hiperplasia, vacuolização, necrose de células parietais, infiltrado inflamatório com predomínio de linfócitos e histiócitos. Ocasionalmente, o lúmen glandular e os canálculos intracelulares estão dilatados na presença dos microorganismos.

Takemura *et al* (2007) identificou a presença das espécies *Helicobacter bizzozeroni* e *Helicobacter salomonis* nos cães de seu estudo através da técnica da Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) e histologicamente observou infiltrado linfoplasmocitário compatível com gastrite crônica associado à helicobactérias tanto em cães sadios, quanto em cães com sinais de gastropatia.

Vieira (2004) utilizando análise quantitativa encontrou relação direta entre o número de helicobactérias, células inflamatórias e nódulos linfóides demonstrando que, em

seu estudo, a presença da bactéria estava associada à gastrite que variou de leve a moderada.

Segundo Vieira (2004) e Simpson (1997) ao contrário do que acontece na infecção pelo *Helicobacter pylori* em humanos, o verdadeiro papel da infecção gástrica por organismos do gênero *Helicobacter* em cães ainda necessita de estudos mais aprofundados para o esclarecimento da relação entre, sintomatologia, lesões e a presença da bactéria, apesar da alta prevalência nesta espécie.

1.1.3 - Epidemiologia

Mais da metade da população mundial está infectada pelo *Helicobacter pylori*. Ocorre em cerca de 40% em países desenvolvidos, 70% em países em desenvolvimento e em comunidades de baixo nível socioeconômico e de baixa higiene alcança níveis ainda mais elevados. A infecção geralmente ocorre no período da infância e a prevalência aumenta com a idade. A alta prevalência parece estar relacionada a condições ambientais precárias, a situações de aglomerados humanos e ao contato mais íntimo entre crianças e adultos infectados (Perez-Perez et al, 2004; Fonsceca e Kawakami, 1999).

Estudos mais recentes, desenvolvidos no Brasil por Zaterca *et al* (2007) demonstram índices de 65% de prevalência na população do estado de São Paulo e taxas de até 80% em comunidades carentes da cidade de Belo Horizonte por Coelho *et al* (1987).

Em trabalho realizado em cães da Finlândia, Happonen (1999) encontrou prevalência de helicobactérias de 95% em cães com gastrite e 100% em cães clinicamente saudáveis.

No Brasil Moutinho *et al*, (2007) e Souza *et al*, (2004) observaram prevalência de 96% a 100% de helicobactérias na mucosa gástrica de cães provenientes das ruas e mantidos em coletividade em canis municipais e experimentais.

Hernández *et al* (2007) na Colômbia, realizou estudo endoscópico em cães que vivem em residências e observou prevalência de 55%.

Vieira (2004) analisou 60 estômagos de cães necropsiados no Hospital Veterinário da Universidade Federal de Viçosa no período de julho de 2002 e Janeiro de 2003 e observou que 96% dos estômagos apresentaram helicobactérias sem variação quanto ao sexo e idade dos animais.

1.1.4 - Diagnóstico do *Helicobacter* spp.

Custódio *et al* (2005) cita que os testes diagnósticos para detecção do *Helicobacter* spp. são classificados como invasivos, quando se utiliza de técnica endoscópica ou cirúrgica e não invasivos, baseados em evidências indiretas da presença da bactéria.

Segundo Happonen *et al* (2008) e Strauss-Ayali e Simpson (1999) em medicina veterinária os métodos invasivos ainda são os mais utilizados.

1.1.4.1 - Teste rápido da urease

Este teste se baseia na detecção da enzima urease produzida pela bactéria. A técnica consiste na coleta de fragmento de mucosa gástrica de pacientes submetidos à gastroscopia (Ferreira *et al*, 2001) ou colhidos durante procedimento cirúrgico de gastrotomia (Souza *et al*, 2004).

Segundo Ferreira *et al* (2001), o fragmento colhido é colocado em um meio que contenha uréia e um indicador de pH. Quando há presença da bactéria no fragmento, a enzima urease produzida causa hidrólise da uréia, liberando amônia (NH₄) e gás carbônico (CO₂). A amônia livre eleva o pH da solução, ocorrendo mudança de coloração do indicador.

Em seu estudo Ferreira *et al* (2001) concluiu que, a utilização de inibidores da bomba de prótons, como omeprazol, suprime a urease da bactéria. Quando utilizado por um período de 7 dias é capaz de negativar o teste, sendo então fator importante na realização de novos exames em pacientes com recidivas ou tratamento prévio.

1.1.4.2 - Citologia

A citologia é um método que consiste na identificação do *helicobacter spp.* pela da escovação da mucosa gástrica através de instrumental endoscópico especial e posterior esfregaço do material em lâmina de vidro (Custódio, 2005).

Em cães as bactérias espirais gástricas frequentemente estão associadas ao muco e são mais comumente observadas em preparações citológicas obtidas por raspado coradas pela técnica de Giemsa. (Andressem, 2003)

Happonen (1999) descreve que as espécies de bactérias semelhantes ao *Helicobacter spp.* observadas em estômago de cães dificilmente podem ser diferenciadas por microscopia óptica. E Andreasen (2003) comenta que o citologista experiente pode diferenciá-las ao *Helicobacter pilory* devido ao seu menor tamanho.

A citologia gástrica é um método mais simples, mais rápido e agride menos a mucosa gástrica. Em trabalhos recentes a citologia tem mostrado ser eficiente na identificação do *Helicobacter pylori* e com sensibilidade semelhante ou maior que a histopatologia (Happonen,1999; Custódio, 2005).

1.1.4.3 - Cultura

A análise microbiológica de fragmentos de biópsia gástrica é útil na identificação das espécies de helicobactérias. No entanto, a sensibilidade da cultura pode ser reduzida pela presença de outros microorganismos, ficando por muitas vezes em segundo plano quando comparada às demais técnicas diagnósticas. (Ribeiro, 2004).

A baixa positividade de culturas deve-se às características da bactéria, a qual necessita, para seu cultivo, da presença de meio de cultura constituído por Agar-sangue, enriquecido com soro bovino fetal, possuindo alta umidade, baixas concentrações de oxigênio e suplementação com antibióticos como trimetropina, vancomicina, polimixina B e anfotericina B por período de cinco a sete dias de incubação (Eaton *et al*, 1996; Jalava *et al*, 1998; Happonen, 1999).

1.1.4.4 - Histopatologia

O exame histológico convencional, com o método de coloração pela hematoxilina e eosina (H.E), permite identificar a bactéria quando a densidade de colonização é alta. As técnicas histológicas de impregnação pela prata (Warthin-Starry), destacando os microorganismos em negro, e da técnica de Giemsa e Giemsa modificado, que as destacam em roxo, permitem a identificação de helicobactérias mesmo em situações de baixa densidade de colonização (Mendonça *et al.*, 1999).

1.1.4.5 - Sorologia

A sorologia visa detectar antígenos circulantes. Os testes sorológicos impossibilitam a distinção entre infecção pelo *Helicobacter* atual ou no passado (Doorn *et al.*, 2000), além da possibilidade de reação cruzada entre espécies (Souza, 2004).

1.1.4.6 - Reação em Cadeia da Polimerase (PCR)

A Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) é uma técnica biotecnológica que tem como finalidade amplificar ou reproduzir *in vitro* um número de cópias de uma região específica de DNA, reproduzindo quantidade suficiente de um fragmento para sua avaliação. Sua sensibilidade e especificidade tem demonstrado ser muito útil no diagnóstico de vírus e bactérias de difícil cultivo, pois oferece resultado rápido e confiável (Premoli *et al*, 2004; Camargo *et al*, 2003).

1.1.4.7 - Teste respiratório ^{13}C -uréia e ^{14}C -uréia

O teste respiratório é realizado pela ingestão de solução contendo uréia marcada com isótopo radioativo (^{14}C) ou estável (^{13}C). Em pacientes contaminados, após ingestão da solução ocorre hidrólise da uréia liberando excesso de dióxido de carbono marcado exalado pela expiração. A amostra de ar expirado é analisado por espectrofotômetro de massa (Castro *et al*, 2004).

Níger e Simpson (2008) citam a utilização do teste respiratório no diagnóstico não invasivo do *Helicobacter* spp. em cães e gatos. No Brasil ainda não se encontram publicações que descrevam a técnica e a adaptação do teste respiratório para uso em animais.

1.1.4.8 - Antígeno Fecal Específico - Premier Platinum HpSA

O HpSA é um teste imunoenzimático não invasivo, de baixo custo, introduzido recentemente para diagnóstico da infecção pelo *Helicobacter pylori*, e demonstra alta acurácia no diagnóstico pré-tratamento e alta especificidade. O teste detecta antígenos anti *Helicobacter pylori* nas fezes de pacientes infectados, foi desenvolvido no norte da América e esta em estudo no Brasil visando sua utilização no controle da erradicação como uma alternativa ao exame de endoscopia digestiva (Suzaki e Zeitune, 2006).

Parente *et al* (2006), utilizou o teste HpSA em crianças da região nordeste do Brasil, demonstrando maior prevalência em pacientes com baixo nível socioeconômico.

1.1.5 - Transmissão

Fonsceca e Kawakami (1999) citam que os mecanismos de transmissão do *Helicobacter* spp. ainda não estão bem esclarecidos.

A infecção iatrogênica foi estudada por Coelho *et al* (1995) e Langenberg *et al* (1990) que sugeriram transmissão paciente-médico e paciente-paciente durante exames

clínicos e endoscópicos, através de equipamentos mal desinfetados, onde a reinfeção poderia ocorrer durante um novo exame endoscópico de seguimento.

Ribeiro *et al* (2004) cita que a imersão do endoscópio em solução de glutaraldeído 2% por 20 a 30 minutos resulta em desinfecção adequada do equipamento prevenindo a transmissão entre pacientes e contaminação da amostra encaminhada a técnica de cultura.

As vias oral-oral e fecal-oral são tidas como as mais prováveis. (Fonseca e Kawakami 1999).

A transmissão fecal-oral foi sugerida a princípio devido ao isolamento do microorganismo em fezes diarreicas de crianças, e em pacientes dispépticos infectados (Fonseca e Kawakami,1999; Strauss-Ayali,1999).

Recordati et al (2009) e Carvalho (2008) citam que a espécie *Helicobacter canis* foi isolada em fezes de cães com e sem episódio de diarreia e na mucosa do intestino grosso.

Strauss-Ayali e Simpson (1999) relatam que fezes que contenham helicobactérias poderiam contaminar alimentos e Fox (1995) cita como fator determinante na contaminação de reservatórios de água consumida por humanos ou animais.

A contaminação de alimentos, pelas fezes contaminadas, também foi sugerida por Gomes e Martins (2004) visto que cepas inoculadas de *Helicobacter pylori* em hortaliças como alfaces e cenouras permaneceram viáveis por até 120 horas em atmosfera normal.

A via oral-oral foi sugerida após isolamento do *Helicobacter pylori* na saliva, na placa dentária de pessoas infectadas por Pereira (2005) e de *Helicobacter* spp. na cavidade oral de animais domésticos por Strauss-Ayali e Simpson (1999).

Peronne *et al* (2007) propôs que a cavidade oral poderia ser um reservatório para o *Helicobacter pylori* devido à sua identificação na placa dentária de indivíduos adultos mesmo após a terapia de erradicação na mucosa gástrica.

Mendall (1995) descreve que familiares de indivíduos infectados podem apresentar maior taxa de infecção.

De acordo com Escobar e Kawakami (2004) existe maior prevalência da infecção em crianças quando há soropositividade conjunta dos cônjuges, o que sugere transmissão por fonte de comum ou direta de pessoa a pessoa.

Recordati *et al* (2007) sugere que a cavidade oral de cães também poderia ser importante fonte de transmissão devido à presença de helicobactérias neste local.

Recordati *et al* (2007) analisaram 38 cães através do método de PCR e detectaram a presença do *Helicobacter* spp. na mucosa gástrica em 94,7% dos animais, na saliva em 50% e na placa dentária em 44,7%. Observaram que não houve diferença significativa na prevalência entre animais saudáveis e animais apresentando vômito. Neste estudo reforçou-se a hipótese da transmissão oral-oral entre cães e de cães para humanos.

Radin *et al* (1990) analisaram o resultado do contato entre cães experimentalmente infectados com *Helicobacter pylori* e cães não infectados, concluindo que houve transmissão da bactéria através do contato próximo entre os grupos após 30 dias.

1.1.6 - Tratamento

O esquema terapêutico atualmente preconizado para a erradicação do *Helicobacter pylori* em humanos é a terapia tríplice, que inclui um inibidor de secreção ácida em combinação com dois antibióticos. (Coelho et al, 2004).

Segundo Morais Filho (2000), dentre os inibidores de secreção ácida estão o grupo dos bloqueadores de receptor H₂ da histamina e o grupo dos inibidores da bomba de prótons.

Os principais fármacos bloqueadores de receptor H₂ da histamina são a cimetidina, ranitidina, famotidina e a nizatidina. (Morais Filho, 2000)

Em sua pesquisa com camundongos infectados com *Helicobacter pylori*, Marostica (2007) comparou um grupo tratado com ranitidina e outro com bloqueador da bomba de prótons. Observou que o grupo tratado com ranitidina apresentou baixos níveis de inibição da secreção ácida e aumento dos níveis de dano oxidativo às células.

Os bloqueadores da bomba de prótons são drogas com maior ação anti-secretora e de período de ação mais prolongado. Dentre as drogas desta classe estão o omeprazol, pantoprazol, lansoprazol e o rabeprazol. Constituem-se em derivados benzimidazólicos que inibem a enzima $H^+ K^+ ATPase$ da célula parietal, impedindo a etapa metabólica final da produção do HCl. Ocorre diminuição do volume de secreção ácida e elevação do pH intragástrico reduzindo o risco de lesões epiteliais pelo contato direto da camada mucosa com o suco gástrico (Morais Filho, 2000).

De acordo com Ferreira (2001) tanto o omeprazol, quanto o lansoprazol e o pantoprazol apresentam atividade antimicrobiana *in vitro* contra o *Helicobacter pylori*, por inibirem a urease da bactéria.

Além disso, Sachs *et al* (1997) cita que a promoção de um ambiente mais alcalino facilita a replicação bacteriana, fase em que estas estão mais vulneráveis à ação de alguns antibióticos.

O pH elevado também aumenta os mecanismos de defesa do hospedeiro, incluindo aumento da concentração de imunoglobulinas específicas para *Helicobacter pylori* no suco gástrico, melhorando a função de neutrófilos (Ferreira, 2001).

Em pacientes a administração isolada do omeprazol por 7 dias pode suprimir temporariamente a bactéria no antro e resulta em maior recrudescência da infecção que quando utilizado conjuntamente com antibióticos específicos (Ferreira, 2001).

O *Helicobacter pylori* é susceptível à maioria dos antibióticos *in vitro*, mas apenas alguns são capazes de erradicar a bactéria em pacientes com helicobacteriose. A incapacidade de algumas drogas não alcançarem níveis apropriados na mucosa gástrica e a inativação pelo pH ácido parecem ser as principais causas de ineficiência do tratamento *in vivo* (David, 1998; Graham, 1998).

Atualmente o metronidazol, claritromicina, amoxicilina, tetraciclina e furazolidona são as drogas antimicrobianas mais eficientes no tratamento de erradicação do *Helicobacter pylori* em humanos (Coelho et al, 2004).

O regime terapêutico utilizando associação da claritromicina, amoxicilina e um inibidor da bomba de prótons, é tratamento eficaz nos quadros de gastrite, úlcera péptica e duodenal quando estão relacionados à infecção pelo *Helicobacter pylori* (Coelho et al, 2004). De acordo com o II Consenso Brasileiro sobre *Helicobacter pylori* este é o tratamento de primeira opção na erradicação da bactéria em humanos (Coelho e Zaterca, 2005).

Godoy (2002), Salvatti (2001) e Granhan (1998) demonstraram a necessidade de se realizar cultura e testes de susceptibilidade da bactéria devido ao uso generalizado dos antimicrobianos e um recente aumento da resistência do *Helicobacter pylori* a esses medicamentos.

Estudos no Brasil demonstram que alguns medicamentos utilizados na erradicação, como a amoxicilina, podem alterar a expressão de genes envolvidos na adaptação do *Helicobacter pylori* gerando aumento da resistência bacteriana a estas drogas. Esta atual situação tem exigido do clínico maior critério na prescrição da terapia. (Godoy, 2002).

Kato et al (2004) observou em seu estudo que a espécie *Helicobacter heilmannii* mostrou-se mais sensível à tetraciclina, amoxicilina e eritromicina *in vitro*, porém resistente ao metronidazol. Entretanto, cita que em pacientes pediátricos a terapia com amoxicilina associada ao metronidazol ou claritromicina tem demonstrado boa eficácia.

Segundo Flatland (2002) o tratamento para a infecção do *Helicobacter* spp. em cães e gatos é bastante controverso. A eficácia do tratamento ainda é desconhecida e a resistência às drogas é um problema para pacientes veterinários.

Baillon e Marshal-Jones (2004) descrevem que a maior parte dos estudos terapêuticos em cães não conseguiram demonstrar erradicação a longo prazo.

Os benefícios da erradicação do *Helicobacter* spp. em cães com gastrite ainda não estão estabelecidos, mas estudos recentes tem demonstrado boa resposta clínica (Wiinberg et al , 2005).

A terapia a base de amoxicilina, metronidazol e associado a um inibidor ácido, tem sido estudada em cães positivos para *Helicobacter* spp. como terapia relativamente eficaz, sendo necessária terapia complementar em cerca de 20% a 25% dos casos. A terapia acompanhada ou não por complementação tem apresentado resultado na melhora dos sinais clínicos, mas não te demonstrado efeito significativo nas alterações histopatológicas (Happonen *et al*, 2008; Leib *et al*, 2008).

Terapias alternativas foram analisadas por Costa (2005) apresentando resultados promissores em relação à utilização de fitoterápicos na erradicação do *Helicobacter* spp. em cães, como o óleo de alho e o estrato de própolis.

1.1.7 - Recorrência da infecção

Além da alta prevalência, a taxa de recorrência da infecção pelo *Helicobacter pylori* em países em desenvolvimento também parece ser maior do que nos países desenvolvidos (Fonsceca e Kawakami, 1999).

Fuccio *et al* (2008) estimam um risco total de reinfecção em 3,4% por doente por ano nos países desenvolvidos e 8,7% nos países em desenvolvimento.

Segundo Chehter (2005), informações sobre a recorrência da infecção por *Helicobacter pylori* ainda são restritas e relata que a falha na terapêutica, decorre com maior a reinfecção e recorrência da doença péptica.

A reinfecção pelo *Helicobacter pylori* foi relatada por Schütze (1995) em pacientes cônjuges após 14 meses erradicados com amoxicilina e metronidazol.

Coelho *et al*, (1995) acompanharam 228 pacientes, em que o *Helicobacter pylori* foi erradicado, por um período de 8 a 48 meses. Observaram um índice de reinfecção

de 42,6% e sugeriram a hipótese da reinfecção ocorrer pelos instrumentais endoscópicos por ocasião de exames de seguimento.

Em seu estudo com pacientes apresentando úlcera péptica por *Helicobacter pylori*, Silva (2009) demonstrou que mesmo tendo alta prevalência, o Brasil pode possuir taxas de reinfecção semelhantes a países desenvolvidos.

Chehter *et al* (2005), em estudo retrospectivo realizado no Hospital da Escola Paulista de Medicina-UNIFESP em pacientes com doença péptica ulcerosa, causada por *Helicobacter pylori*, observaram taxa de reinfecção com recorrência de doença ulcerosa foi de 9,6% ao ano. Considerando pacientes tratados com a associação da claritromicina, amoxicilina e lansoprazol, a média caiu para 6% ao ano. Também observaram que o um controle pós-tratamento de três meses é mais adequado que o controle de apenas um mês, permitindo diferenciar de quadros de recrudescência e de reinfecção.

Happonen (1999) analisaram a mucosa gástrica de 8 cães erradicados com terapia tripla e observaram recorrência da infecção em 50% após 3 meses. E Happonen *et al* (2008) também observaram que a taxa de recorrência aumentou em seguimento após 3 anos.

O entendimento das vias de transmissão parece ser de fundamental importância para estabelecer estratégias para um tratamento eficiente e principalmente para o controle pré e pós tratamento na helicobacteriose em humanos e animais.

1.2 - OBJETIVOS

- Avaliar a frequência quanto à distribuição do *Helicobacter* spp. nas regiões do fundo, corpo e antro gástrico em cães.
- Comparar o teste rápido da urease e a histopatologia na detecção da bactéria através de biópsia gástrica.

- Avaliar a eficácia da terapia tripla preconizada para humanos à base de claritromicina, amoxicilina e lansoprazol na erradicação das helicobactérias gástricas em cães.
- Verificar se há recorrência da infecção, através do contato entre cães erradicados e cães naturalmente infectados pelo *Helicobacter* spp.

2 - MATERIAL E MÉTODO

2.1 - Animais

O trabalho recebeu aprovação prévia da Comissão de Ética no Uso de Animais do Instituto de Biologia da Universidade Estadual de Campinas-Unicamp, sob protocolo nº 1801-1 (Apêndice I).

Nesta pesquisa foram utilizados 20 cães (*Canis familiares*), adultos, 10 fêmeas e 10 machos, com peso corpóreo de 20 Kg.

Os animais deste experimento foram capturados em nas ruas da cidade de Itajubá-MG de forma aleatória e mantidos no canil do Hospital Escola da Faculdade de Medicina Veterinária do Centro Universitário de Itajubá - FEPI.

Antes do início do experimento, todos os animais receberam protocolo de vermifugação com praziquantel, pamoato de pirantel e febantel. Eliminação de ectoparasitas com Fipronil top spot. Vacinados com Duramune® Max 5Cvk/4L¹.

Os animais receberam água e alimentação a base de ração sólida adequada durante todo processo de experimentação.

A apresentação de sinais clínicos de doença do trato gastrointestinal foram utilizados como critérios de exclusão dos animais para este estudo.

Todos os cães foram submetidos à endoscopia digestiva alta seguida de biópsia gástrica para confirmação da presença do *Helicobacter* spp., sendo este o critério de inclusão dos animais na pesquisa.

Os testes utilizados na pesquisa do *Helicobacter* spp. foram o teste rápido da urease e a histopatologia corada pela técnica de Giemsa e Giemsa modificado. Foram considerados infectados os animais que obtiverem resultado positivo na histopatologia em pelo menos uma região do estômago.

¹ Duramune® Max 5Cvk/4L – FORT DODGE Animal Health, Iowa, USA.

2.2 - Ambiente de experimentação

Todos os animais foram submetidos ao protocolo de observação 15 dias antes do início do estudo, no canil do Hospital Escola da Faculdade de Medicina Veterinária do Centro Universitário de Itajubá-FEPI, onde foram mantidos durante todo o experimento.

O ambiente do canil coletivo possui área de 50 m² em ambiente comunitário possuindo bebedouros e comedouros comuns (Figura 1).

Canis individuais com área de 3 m² cada foram utilizados para isolamento dos animais no período de terapia e para o grupo controle. Estes ambientes possuem comedouros e bebedouros individuais (Figura 2).

O interior destes ambientes foi higienizado e desinfetado diariamente com solução a base de amônia quaternária.

Os procedimentos de endoscopia digestiva alta foram realizados no centro cirúrgico do Hospital Escola da Faculdade de Medicina Veterinária do Centro Universitário de Itajubá-FEPI (Figura 3).



Figura 1- Canil coletivo utilizado no experimento.



Figura 2- Canis individuais utilizados para isolamento dos animais durante o experimento.



Figura 3- Sala de endoscopia digestiva do centro cirúrgico do Hospital Escola de Medicina Veterinária do Centro Universitário de Itajubá-FEPI.

2.3 - Alimentação

Os animais receberam ração canina industrializada e água em quantidade adequada com livre acesso durante todo período de experimentação. A exceção ocorreu no período de jejum que antecedeu os procedimentos anestésicos e endoscópicos.

2.4 - Anestesia

2.4.1 - Procedimentos pré-anestésicos

Os animais foram mantidos em restrição hídrica e alimentar por 12 horas antecedentes ao procedimento.

2.4.2 - Equipamentos

Para a realização dos procedimentos anestésicos foram utilizados os seguintes equipamentos:

- Cateter Angiocath 20
- Equipo macrogotas
- Sonda endotraqueal n° 7,5
- Aparelho de anestesia inalatória Takaoka® KT-15
- Monitor cardíaco
- Oxímetro de pulso

2.4.3 - Fármacos

Para a realização dos procedimentos anestésicos foram utilizados os seguintes fármacos:

- Solução fisiológica para uso intravenoso

- Sulfato de atropina 0,5 mg/mL ²
- Acetato de acepromazina 1% ³
- Citrato de Fentanila 0,05 mg/mL ⁴
- Propofol 1% ⁵

2.4.4 - Procedimento anestésico

Administrou-se uma associação de 0,04 mg/Kg de sulfato de atropina, 1mg/Kg de acetato de acepromazina e 0,004 mg/Kg de citrato de fentanila por via intramuscular como medicação pré-anestésica.

O Propofol foi utilizado por via intravenosa, na dose de 3 mg/Kg, como indução à anestesia geral e manutenção anestésica quando necessário.

Os animais foram intubados por sonda endotraqueal, recebendo oxigênio a 100 vol% e acompanhados por monitorização eletrocardiográfica e por oximetria de pulso.

2.5 - Endoscopia Digestiva Alta

2.5.1 - Equipamentos e instrumentais

Para a realização do procedimento de endoscopia digestiva alta foram utilizados os seguintes equipamentos e instrumentais:

- Gastrofibroscópio Pentax FG-29P (Figura 4).

²Atropion® - Ariston Industrias Químicas e Farmacêuticas Ltda, São Paulo, Brasil.

³Acepran® - Univet S.A, São Paulo, Brasil.

⁴Fentanest® - Cristália Produtos químicos e Farmacêuticos Ltda., Itapira, Brasil.

⁵Fresofol® - Fresenius Kabi Brasil Ltda., Campinas, Brasil.

- Fonte de Luz halógena de 250W⁶.
- Pinça de biópsia tipo fórceps, oval, com janela, sem espícula⁷ (Figura 5).
- Escova de limpeza de nylon⁸
- Teste rápido da urease⁹ (Figura 6).
- Autocalve 12 L¹⁰

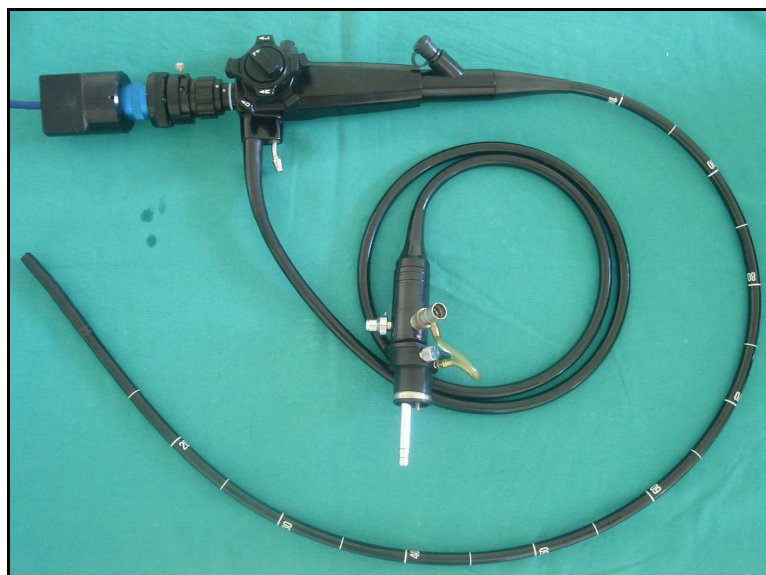


Figura 4- Gastrofibroscópio Pentax FG-29P

⁶ H.Ozawa Ltda, São Paulo, Brasil.

^{7,8} US Endoscopy, Mentor, Ohio, Estados Unidos.

⁹ Uretest® - Renylab Química e Farmacêutica Ltda, Barbacena, Brasil.

¹⁰ Odontobras Ltda, Ribeirão Preto, Brasil.

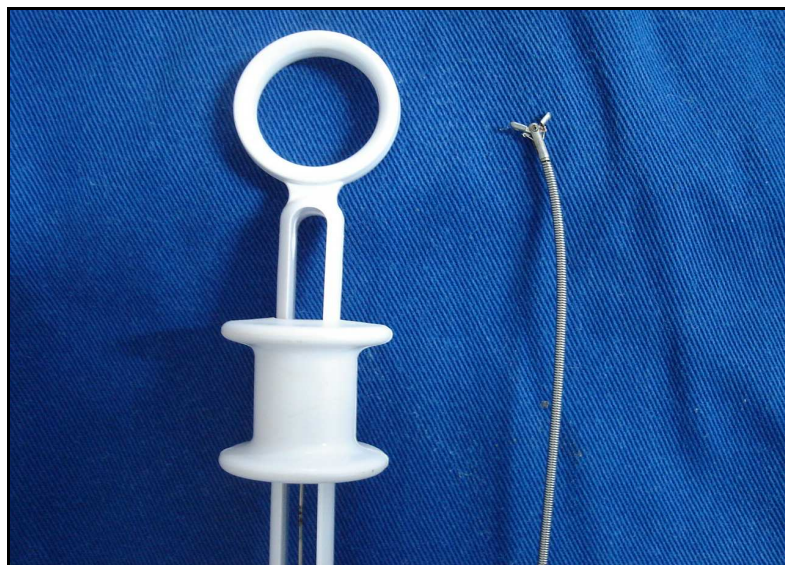


Figura 5- Pinça de biópsia.



Figura 6- Uretest® - Teste rápido da urease. Laboratório Renylab Química e Farmacêutica LTDA. ANVISA: 80002670044.

2.5.2 - Agentes desinfetantes

- Solução degermante à base de triclosan

- Glutaraldeído 2%¹¹

2.5.3 - Agentes fixadores

- Formol 10%

2.6.2.1 - Fármacos antimicrobianos

Todos os tratamentos foram realizados com especialidade farmacêutica utilizada na erradicação do *Helicobacter pylori* em humanos:

- Blísteres contendo 500mg Claritromicina, 1g Amoxicilina, 30mg Lanzoprazol¹² (Figura 9).

2.5.4 - Esofagogastroduodenoscopia

Esôfago, estômago e duodeno foram primeiramente avaliados quanto à presença ou não de alterações macroscópicas. Os achados endoscópicos foram classificados de acordo com os critérios de Sydney (Tytgat, 2006; Dixon, 1996).

As biópsias foram realizadas com auxílio de pinça de biópsia de acordo com as técnicas de amostragem descritas por Rösch (2006). Foram colhidas 2 amostras do fundo gástrico através de manobra de retrovisão, 2 do corpo gástrico, 2 do antro gástrico (Figuras 7 e 8).

¹¹ Glutaron® - Industria Farmacêutica Rioquímica Ltda., São José do Rio Preto, Brasil.

¹² Helicopac® - EMS Sigma Pharma, São Bernardo do Campo, Brasil.

Uma amostra de cada região foi imediatamente colocada em solução-padrão para o teste rápido da urease. A outra amostra foi imersa em solução de formol a 10% para posterior exame histopatológico corado pelo método de Giemsa e Giemsa modificado. Após cada procedimento o endoscópio foi imerso em solução de glutaraldeído 2% por no mínimo 30 minutos após limpeza mecânica prévia dos mesmos. A pinça de biópsia foi tratada pela autoclave em ciclos a 134°C.



Figura 7- Procedimento de endoscopia digestiva alta e fragmento de mucosa gástrica após coleta com pinça de biópsia tipo fórceps.

2.6 - Grupos de animais

Após a primeira endoscopia os vinte animais foram divididos, por sorteio, em grupo I e II (Figura 10).

2.6.1 - Grupo I

Composto por 10 animais positivos para *Helicobacter* spp. mantidos em canil coletivo com comedouros e bebedouros coletivos.

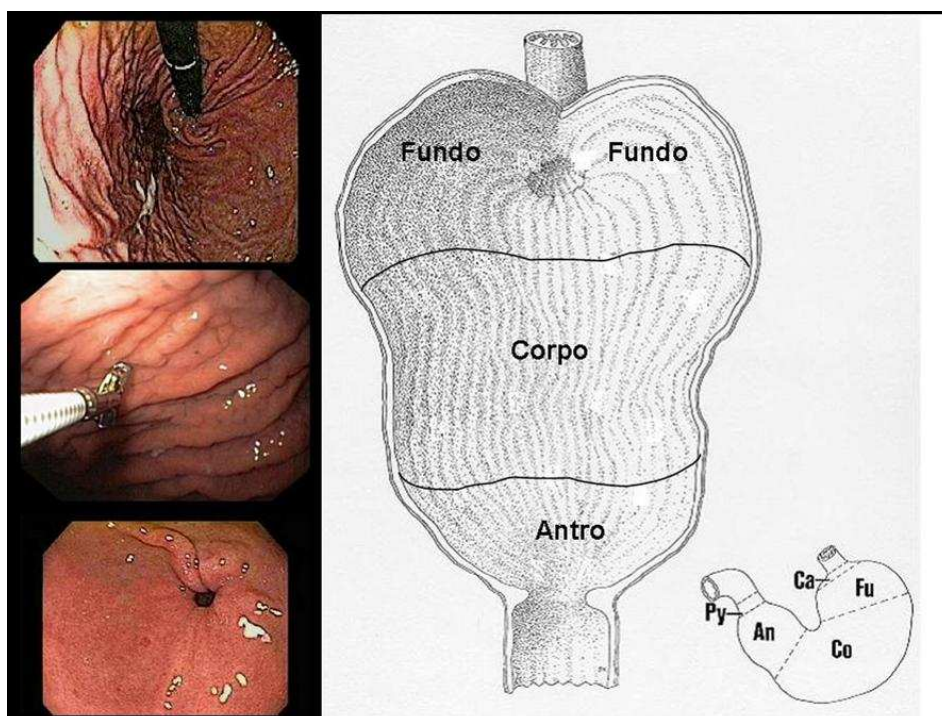


Figura 8- Relação entre a visão endoscópica e desenho esquemático das regiões do estômago onde foram colhidas as amostras. Cárdia (Ca), fundo (Fu), corpo (Co), antro (An), piloro (Py).

2.6.2 - Grupo II

Composto por 10 animais positivos para *Helicobacter* spp. mantidos em canis individuais e submetidos à terapia tríplice. Após os testes para confirmação da erradicação este grupo foi subdividido, por sorteio, em grupo experimento e grupo controle contendo 5 animais tratados cada (Figura 10).

2.6.2.1 - Grupo experimento

Foram administrados em cada animal 500mg de claritromicina, 1g de amoxicilina e 30 mg lansoprazol por via oral a cada 12 horas durante 7 dias. Durante todo período de terapia os cães foram mantidos em isolamento.

Um dia pós o término da terapia, os animais foram submetidos ao segundo exame de endoscopia seguido de biópsia gástrica do fundo, corpo e antro.

Os animais deste grupo após a confirmação da erradicação foram retirados do isolamento e colocados novamente em contato com o grupo GI. Após 60 dias em contato com o grupo GI, foram submetidos ao terceiro exame de endoscopia digestiva alta, seguido também por biópsia gástrica do fundo, corpo e antro (Figura 10).

2.6.2.2 - Grupo controle

Foram administrados em cada animal 500mg de claritromicina, 1g de amoxicilina e 30 mg de lansoprazol por via oral a cada 12 horas durante 7 dias. Durante todo período de terapia os cães foram mantidos em isolamento.

No primeiro dia após o término da terapia, os animais foram submetidos ao segundo exame de endoscopia seguido de biópsia gástrica do fundo, corpo e antro.

Os animais deste grupo após a confirmação da erradicação foram mantidos em isolamento durante 60 dias, quando se realizou a terceira endoscopia digestiva alta seguida de biópsia do fundo, corpo e antro (Figura 10).



Figura 9- Helicopac®. Especialidade farmacêutica utilizada para erradicação do *Helicobacter pylori* em humanos à base de claritromicina, amoxicilina e lansoprazol.

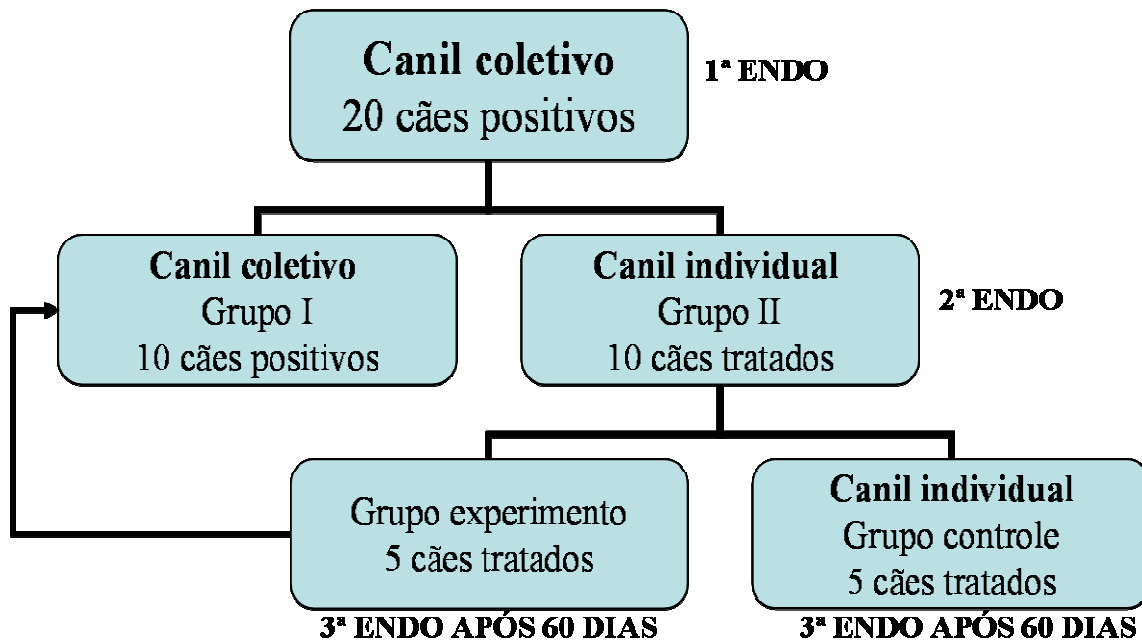


Figura 10- Fluxograma da divisão dos grupos e realização das endoscopias durante a pesquisa.

2.7 - Teste rápido da urease

Uma amostra de cada região do estômago foi introduzida na solução de teste rápido da urease com auxílio de agulha hipodérmica estéril.

A reação foi acompanhada durante 12 horas para confirmação e análise do tempo de viragem de cor na solução (Figura 11). Os testes que apresentaram viragem de cor após 12 horas foram considerados negativos.

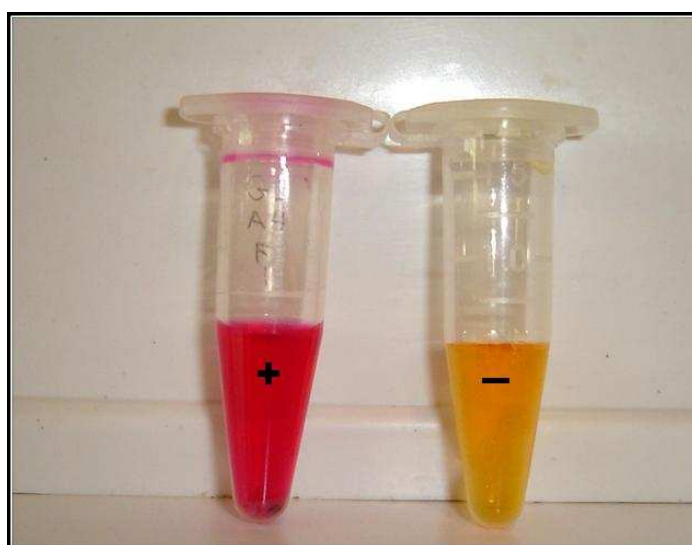


Figura 11- Teste rápido da urease demonstrando viragem de cor rosa para amostra com resultado positivo para *Helicobacter* spp. e manutenção da cor laranja para amostra com resultado negativo para *Helicobacter* spp.

2.8 - Conservação e processamento das amostras

O material de biópsia permaneceu em solução de formol 10% até serem processados. Os fragmentos foram destinados à inclusão em parafina, microtomia e coloração pelo método de Giemsa (Andreasen, 2003; Riddell, 2006; Mendonça *et al* 1999) e Giemsa modificado (Vieira, 2004), pelo Laboratório de Histopatologia do Núcleo de Medicina e Cirurgia Experimental da Universidade Estadual de Campinas- UNICAMP.

2.9 - Análise histopatológica

O exame histopatológico foi realizado utilizando microscópio ótico comum no aumento de 400x e 1000x em imersão. Os cortes foram analisados quanto à presença ou não de bactérias espiraladas no muco, na superfície da mucosa, nas críptas e no lúmen das glândulas gástricas (Vieira, 2004).

2.10 - Análise Clínica

Realizou-se avaliação clínica dos cães semanalmente, durante todo o período da pesquisa. A exceção ocorreu durante os sete dias de terapia medicamentosa, quando os mesmos receberam avaliação clínica diária, no intuito de observar possíveis efeitos adversos.

2.11 - Análise estatística

Análise estatística das variáveis encontradas no experimento foi realizada com auxílio do Programa computacional SAS – Systems for Windows (Statistical Analysis Systems), versão 9.2 SAS Institute Inc., 2002-2008, Cary, NC, USA.

A prevalência de helicobactérias, sua distribuição na mucosa gástrica e a eficácia da terapia tripla foram determinadas pela análise percentual descritiva com apresentação de tabelas de frequências para variáveis categóricas.

Para verificar a concordância entre os resultados dos testes da urease e histopatologia foi utilizado o coeficiente Kappa. A magnitude do coeficiente é definida como: valores maiores ou iguais a 0,75 indicam excelente concordância, valores entre 0,75 e 0,4 indicam boa concordância e valores inferiores a 0,4 não indicam concordância entre os testes.

Para comparação das proporções de reinfecção foi utilizado o teste exato de Fisher.

O nível de significância adotado para os testes estatísticos foi de 5%, ou seja, $p \leq 0,05$.

3 - RESULTADOS

3.1 - Morfologia das helicobactérias

A morfologia das bactérias encontradas foi similar em todos os cães. Tanto no grupo experimento como no grupo controle, foram observadas bactérias com morfologia longilínea em espiral. (Figura 12).



Figura 12 - Fotomicroscopia de corpo gástrico demonstrando bactérias longilíneas com morfologia em espiral evidente; Giemsa modificado, 1000x.

3.2 - Prevalência e distribuição do *Helicobacter* spp.

Nas amostras analisadas foram identificadas bactérias espiraladas no muco, na superfície do epitélio, no fundo das criptas e no lúmen das glândulas gástricas (Figura 13) visibilizadas tanto pela técnica de Giemsa (Figuras 14, 15 e 16) quanto pela técnica de Giemsa modificado (Figura 17).

A prevalência do *Helicobacter* spp. na população estudada foi de 100% (Gráfico 1), sendo os microorganismos, detectados em pelo menos duas regiões do estômago de cada animal tanto pelo teste da urease, quanto pela histopatologia (Apêndice II).

Na análise dos 20 animais utilizados neste estudo demonstrou que todas as regiões do estômago são colonizadas pelo *Helicobacter* spp.. O teste rápido da urease

demonstrou a região do fundo e do corpo gástrico com 100% de prevalência, enquanto que a região do antro a frequência foi de 65%. A positividade para helicobactérias na histopatologia foi de 100% no fundo, 90% no corpo e apenas 50% na região do antro (Gráfico 1).

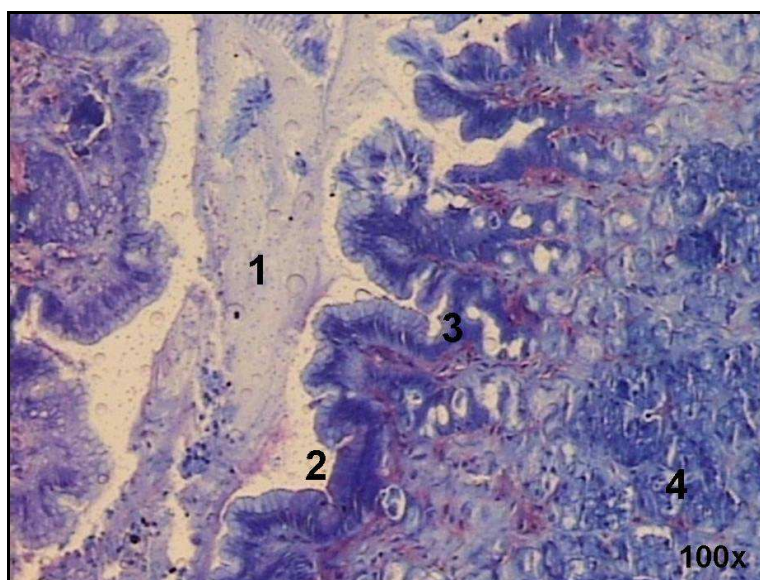


Figura 13- Fotomicroscopia gástrica demonstrando os locais onde foram visibilizadas as helicobactérias. No muco (1), na superfície do epitélio (2), no fundo das criptas (3) e no lúmen das glândulas (4); Giemsa, 100x.

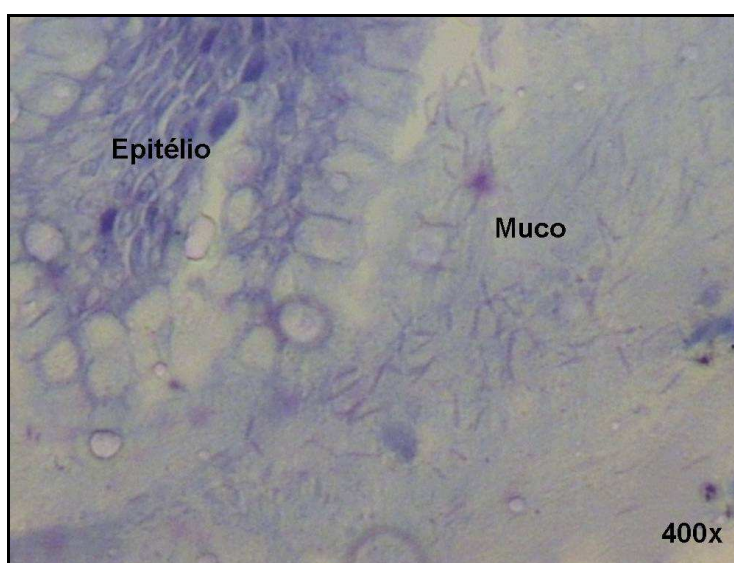


Figura 14- Fotomicroscopia de antro gástrico demonstrando helicobactérias

colonizando o muco; Giemsa, 400x.



Figura 15- Fotomicroscopia de fundo gástrico realizada, antes da terapia, demonstrando helicobactérias junto ao muco e na superfície epitelial (setas); Giemsa, 400x.

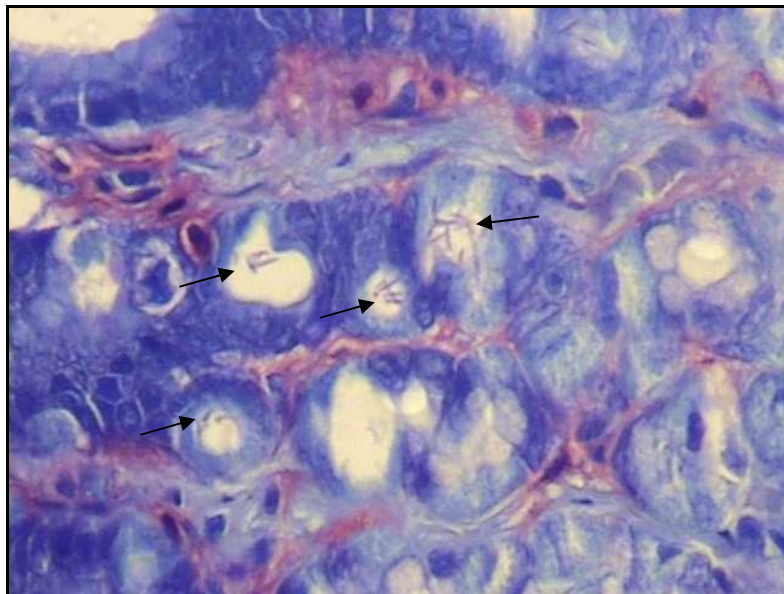


Figura 16- Fotomicroscopia de fundo gástrico, realizada antes da terapia, demonstrando helicobactérias no fundo das criptas e lúmen das glândulas (setas); Giemsa, 400x.

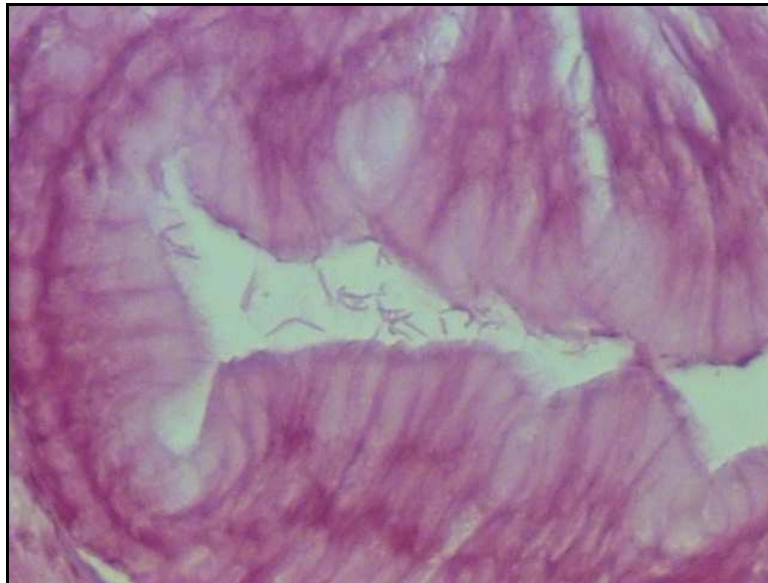


Figura 17- Fotomicroscopia de corpo gástrico realizada antes da terapia, demonstrando helicobacterias no fundo das criptas; Giemsa modificado 400x.

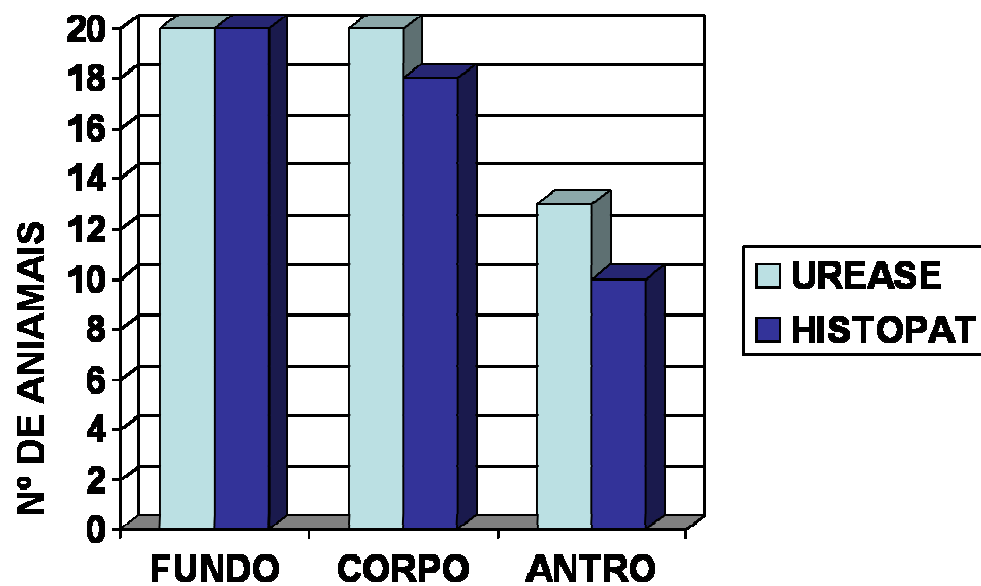


Gráfico 1- Frequência do *Helicobacter* spp. nas diferentes regiões do estômago dos 20 cães, antes da terapia, pelo teste da urease e pela histopatologia.

3.2.1 – Grupo controle

Após a divisão dos grupos, a análise isolada dos animais do grupo controle na primeira endoscopia resultou em 100% de positividade no fundo e corpo e 60% no antro pelo teste rápido da urease (Gráfico 2). Pela histopatologia a frequência de helicobactérias foi de 100% no fundo, 80% no corpo e 60% no antro (Gráfico 3).

3.2.1.1 – Terapia

A análise dos fragmentos coletados durante a segunda endoscopia digestiva, ou seja, 1 dia após o término da terapia, demonstrou que a terapia tríplice foi eficaz em 100% dos animais. O resultado negativo para *Helicobacter* spp. foi observado no teste rápido da urease (Gráfico 2) e na histopatologia (Gráfico 3).

Não foram visibilizadas helicobactérias no epitélio, no fundo das criptas, no lúmen das glândulas gástricas ou no muco das regiões biopsiadas. (Figuras 18 e 19).

3.2.1.2 – Recorrência da infecção

A terceira endoscopia digestiva seguida de biópsia, ou seja, 60 dias após a terapia tríplice demonstrou que o grupo controle manteve-se erradicado (ApêndiceIV).

A análise do teste rápido da urease (Gráfico 2) e da histopatologia (Gráfico 3) demonstraram que as helicobactérias estavam ausentes em todas as amostras (Figura 20).

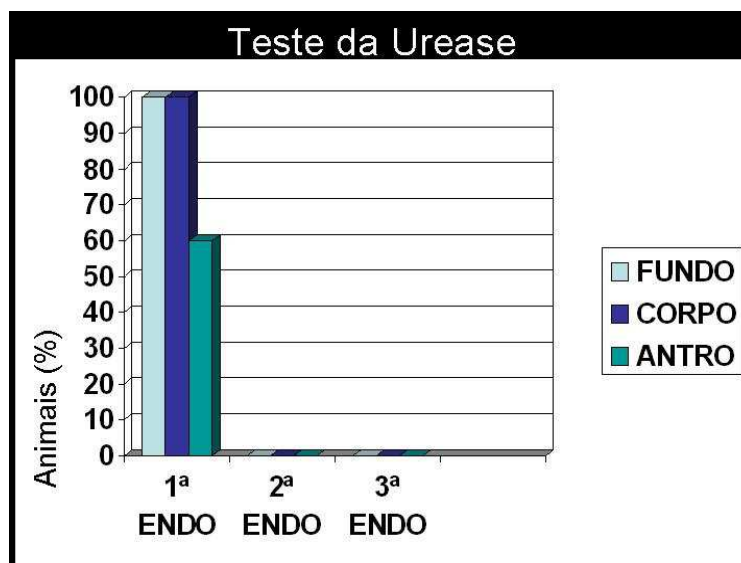


Gráfico 2- Frequência do *Helicobacter* spp. nas diferentes regiões do estômago no grupo controle através do teste rápido da urease. Antes da terapia (1ª ENDO), um dia após o término da terapia (2ª ENDO) e após 60 dias em isolamento (3ª ENDO).

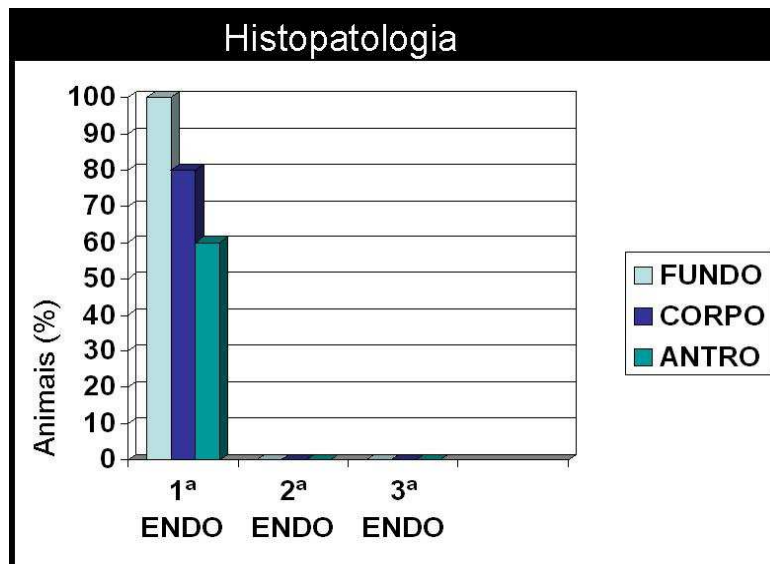


Gráfico 3- Frequência do *Helicobacter* spp. nas diferentes regiões do estômago no grupo controle através da histopatologia. Antes da terapia (1ª ENDO), um dia após o término da terapia (2ª ENDO) e após 60 dias em isolamento (3ª ENDO).

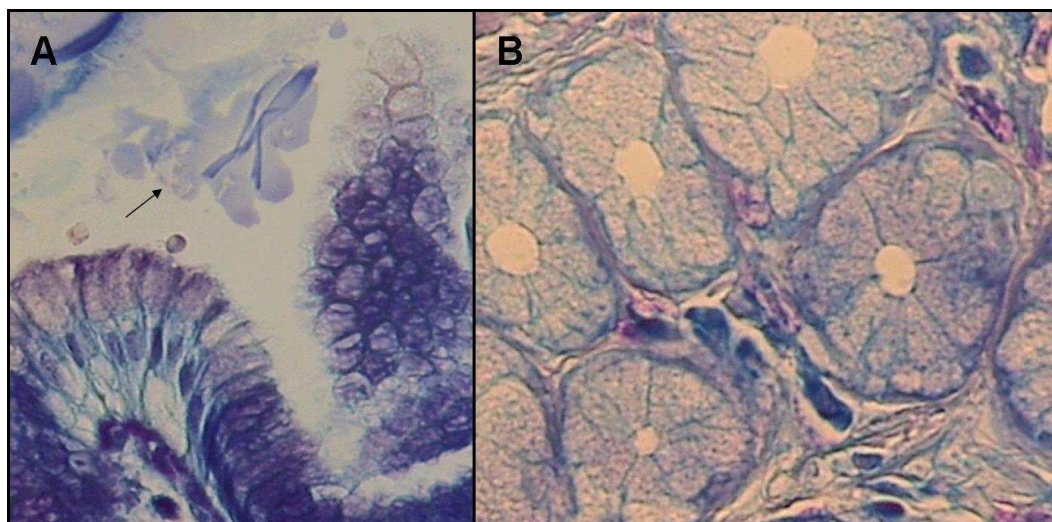


Figura 18- Fotomicroscopias gástricas realizadas em animal do grupo controle, 1 dia após o término da terapia tríplice, demonstrando ausência de helicobactérias na superfície do epitélio (A) no muco (seta) e no lúmen das glândulas (B); Giemsa, 400x.



Figura 19. Fotomicroscopia gástrica realizada em animal do grupo controle, 1 dia após o término da terapia tríplice, demonstrando ausência de helicobactérias no fundo das criptas gástricas; Giemsa modificado, 400x.



Figura 20- Fotomicroscopia de fundo gástrico realizada em animal do grupo controle, 60 dias após a terapia tríplice, demonstrando ausência de helicobactérias; Giemsa, 400x.

3.2.2 – Grupo experimento

A análise do grupo experimento demonstrou frequência de 100% no fundo e corpo e de 80 % no antro gástrico de acordo com o teste rápido da urease (Gráfico 4). Pela histopatologia observou-se 100% de prevalência no fundo e corpo e 40% no antro (Gráfico 5).

3.2.2.1 – Terapia

A análise dos fragmentos coletados durante a segunda endoscopia digestiva, ou seja, 1 dia após o término da terapia, demonstrou que a terapia tríplice também foi eficaz em 100% dos animais com resultados negativos no teste rápido da urease (Gráfico 2), e na histopatologia (Gráfico 3) em todas as regiões gástricas. A histopatologia revelou ausência

de helicobactérias na superfície do epitélio, no fundo das criptas (Figura 21), no lúmen das glândulas e no muco (Figura 22).

3.2.2.2 – Recorrência da infecção

No terceiro exame de endoscopia digestiva alta, após 60 dias de contato com o grupo I, 80% dos animais apresentaram novamente a presença das helicobacterias no estômago demonstrando que houve recorrência da infecção, sendo estatisticamente significativo com $p < 0,05$ (Apêndice IV).

Nos cães em que houve a recorrência da infecção pelo *Helicobacter* spp. o fundo e o corpo gástricos apresentaram-se positivos em 100% das amostras e o antro em 80%, de acordo com o teste da urease e pela histopatologia (Gráfico 4).

A histopatologia identificou as bactérias no fundo das criptas (Figura 23), no interior das glândulas (Figura 24) e no junto ao muco (Figura 25).

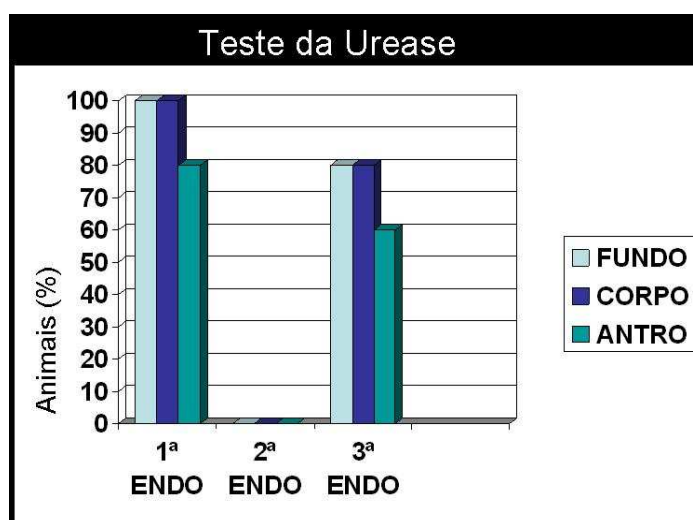


Gráfico 4- Frequência do *Helicobacter* spp. nas diferentes regiões do estômago no grupo experimento através do teste rápido da urease. Antes da terapia (1ª ENDO), um dia após o término da terapia (2ª ENDO) e após 60 dias de contato com grupo I (3ª ENDO).

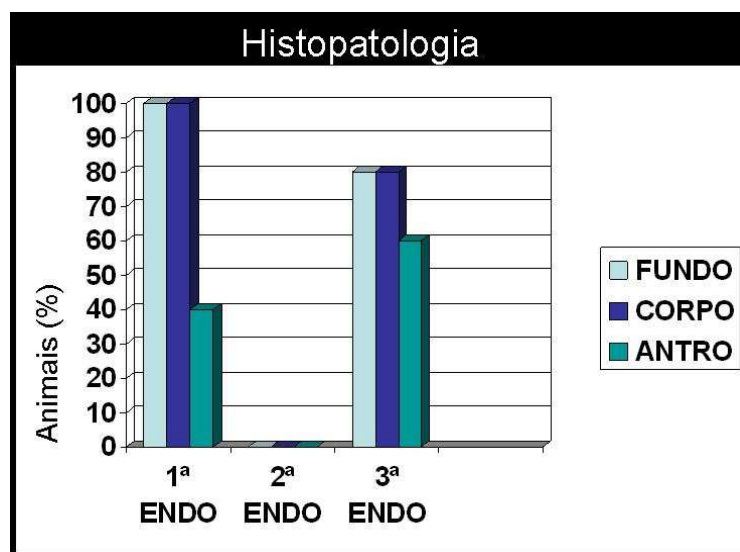


Gráfico 5- Frequência do *Helicobacter* spp. nas diferentes regiões do estômago no grupo experimento através da histopatologia. Antes da terapia (1ª ENDO), um dia após o término da terapia (2ª ENDO) e após 60 dias de contato com grupo I (3ª ENDO).

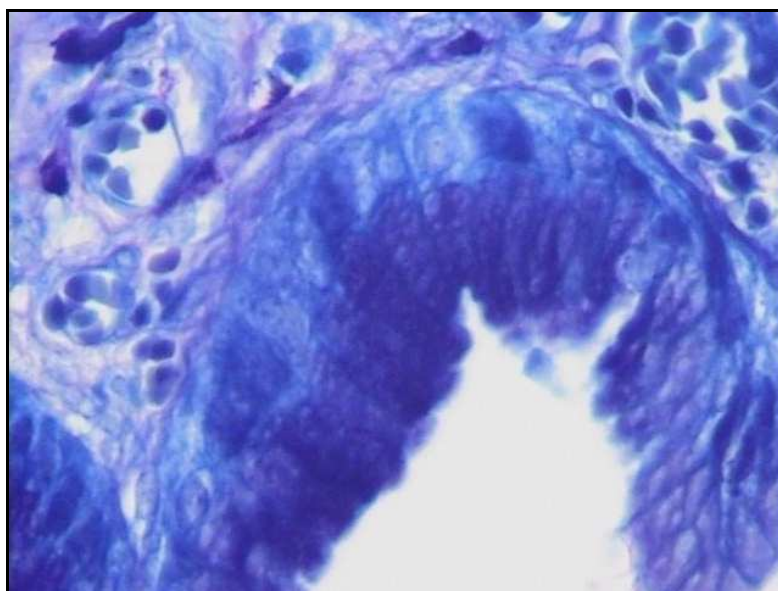


Figura 21- Fotomicroscopia gástrica realizada em animal do grupo experimento, 1 dia após o término da terapia tríplice, demonstrando ausência de helicobactérias no fundo das criptas; Giemsa, 400x.



Figura 22- Fotomicroscopia gástrica realizada em animal do grupo experimento, 1 dia após o término da terapia tríplice, demonstrando ausência de helicobactérias no muco e no fundo das criptas; Giemsa modificado, 400x.

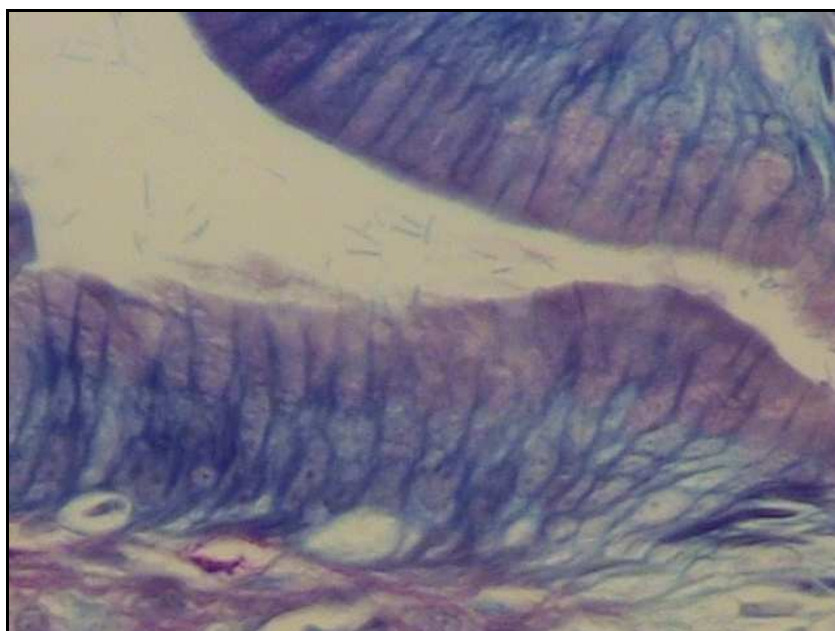


Figura 23- Fotomicroscopia gástrica realizada em animal do grupo experimento, após 60 dias de contato com grupo I, demonstrando a presença de helicobactérias na

superfície do epitélio; Giemsa, 400x.

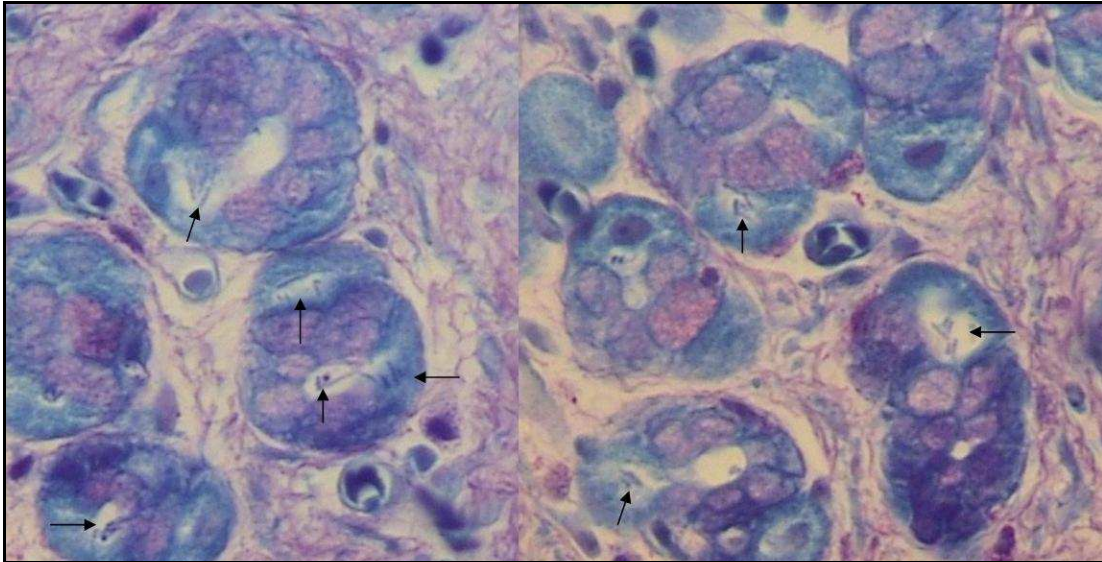


Figura 24- Fotomicroscopias gástricas realizadas em animal do grupo experimento, após 60 dias de contato com grupo I, demonstrando helicobactérias presentes no lúmen das glândulas gástricas (setas); Giemsa, 400x.



Figura 25- Fotomicroscopias gástricas realizadas em animal do grupo experimento, após 60 dias de contato com grupo I, demonstrando helicobactérias presentes no muco e superfície do epitélio (setas); Giemsa modificado, 400x.

3.3 - Análise do Teste rápido da urease e Histopatologia

As helicobactérias foram facilmente visibilizadas pela microscopia ótica em aumento de 400x e 1000x nas regiões onde o teste da urease demonstrou com viragem de cor inferior a duas horas.

As amostras de regiões em que o teste da urease obteve viragem de cor entre duas e doze horas foram diretamente relacionados a campos, visibilizados na histopatologia, com baixa colonização ou ausência de helicobactérias. Este fato foi observado na região do corpo e antro gástrico.

A análise estatística dos resultados obtidos no teste rápido da urease e da técnica de histopatologia corada tanto pelo Giemsa quanto pelo Giemsa modificado demonstraram boa concordância de acordo com o valor do coeficiente Kappa = 0,7. (Apêndice III).

3.4 - Análise clínica

Não foram observados, em nenhum momento do experimento, sinais de distúrbios gastrointestinais ou de qualquer alteração clínica nos cães desta pesquisa.

Os possíveis efeitos adversos que acompanham a utilização dos medicamentos em questão neste estudo não foram clinicamente detectados.

4 - DISCUSSÃO

4.1 – Endoscopia digestiva em cães

Manifestações clínicas relacionadas ao sistema digestivo são freqüentes na clínica de pequenos animais (Willard, 2003). O trato gastrointestinal alto, particularmente o estômago, é constantemente sede de afecções localizadas e difusas como inflamação, parasitismo, defeitos anatômicos, infecções, neoformações, entre outras. De acordo com Geyer *et al* (1993) e Willard (2003), sinais clínicos inespecíficos como vômitos podem representar um desafio para o clínico de pequenos animais e descrevem que a endoscopia, apesar de introduzida recentemente na rotina médica veterinária deve ser indicada no diagnóstico diferencial de doenças do trato gastrointestinal alto e baixo.

Segundo Costa (2005), a realização de endoscopia digestiva alta em cães não requer equipamentos diferenciados para esta espécie. Em nosso estudo, a similaridade anatomofisiológica do trato gastrointestinal alto de humanos e cães nos permitiu boas condições para realização do exame, manobras diagnósticas e biópsias através de gastrofibroscópio humano modelo Pentax FG-29P com 7 mm de diâmetro.

Classen e Tytgat (2006) descrevem que técnicas endoscópicas tem sido utilizadas em humanos há 50 anos como uma ferramenta indispensável na rotina clínica e cirúrgica de gastroenterologistas, e na pesquisa científica.

Em pesquisa experimental no Brasil a endoscopia digestiva em cães tem sido utilizada na análise de afecções gástricas induzidas por antiinflamatórios não-esteroidais, sendo que a utilização destas drogas ainda é conhecida como a principal causa de gastrite, úlceras gástricas e duodenais nesta espécie (Bicalho, 2007; Costa *et al*, 2007).

Polanco *et al* (2006) descrevem sobre a importância da realização de videoendoscopia seguida de biópsia em cães. A histopatologia revelou lesões gástricas inflamatórias, associadas ou não ao helicobacter, compatíveis com os achados endoscópicos.

Estudos utilizando gastroscopia em cães revelam que edema, enantema, erosões e hemorragias petequiais são achados frequentemente associados à gastrite crônica, de grau leve a moderado (Costa, 2005; Vieira 2004). A lesão aparece tanto em animais

assintomáticos quanto em cães com sinais clínicos de doença gástrica (Moutinho *et al*, 2007; Takemura *et al*, 2007).

Happonen (1999) e Simpson *et al* (1999) descrevem que a gastrite crônica endoscópica e a densidade das helicobactérias não possuem relação direta, assim como citam também Moutinho *et al* (2007) e Takemura (2007).

Moutinho *et al* (2007) desenvolveu uma escala de graduação das alterações endoscópicas observadas na mucosa gástrica de cães incluindo mucosa normal, edema, enantema, edema e enantema, erosões únicas ou multifocais e úlceras, diferentemente da escala da escala de Sidney adotada por endoscopistas médicos descrita por Tytgat, 2006 e Dixon, 1996.

Moutinho *et al* (2007), analisou endoscopicamente e microscopicamente o estômago de 50 cães utilizando esta escala e relatou associação de edema e enantema com infiltrado mononuclear e presença de helicobactérias.

Bicalho (2007), Vieira (2004) e Simpson (1999) observaram relação direta entre alterações macroscópicas, o número de helicobactérias, o número de células inflamatórias e nódulos linfóides.

E Flatland (2002), mostrou que mesmo após o tratamento de erradicação o padrão endoscópico e histológico compatível com gastrite crônica pode permanecer inalterado.

A contribuição da endoscopia na experimentação animal mostra que este recurso é cada vez mais indispensável na rotina médica veterinária, no diagnóstico de lesões inflamatórias ou não do trato gastrointestinal, no seguimento e estadiamento de doenças agudas ou crônicas, como terapêutica menos invasiva e principalmente melhor qualidade do atendimento clínico-cirúrgico de animais domésticos.

4.2 – *Helicobacter* spp. em cães

Diferentes espécies de helicobactérias parasitam o trato gastrointestinal de cães. Tanto as helicobactérias intestinais quanto as helicobactérias gástricas ainda não tem seu papel muito bem esclarecido na espécie canina.

Recordati *et al* (2009) estudaram a distribuição de helicobactérias no trato gastrointestinal de cães utilizando amostras de estômago, duodeno, íleo, ceco, cólon, pâncreas, fígado e bile. No duodeno foram identificados antígenos e DNA tanto de helicobactérias gástricas e quanto de helicobactérias intestinais em baixas quantidades. No ceco e cólon foram identificadas em todos os animais a presença do *Helicobacter bilis*, *Helicobacter cinaedi* e *Helicobacter canis*, localizados na superfície da mucosa e dentro das criptas. O DNA de helicobactérias gástricas também foi identificado ocasionalmente no intestino grosso.

Oliveira (2007) cita que dentre as helicobactérias gástricas estão o *Helicobacter pylori*, *Helicobacter heilmannii*, *Helicobacter felis*, *Helicobacter bizzozeronii*, *Helicobacter salomonis*, *Helicobacter suis*, *Helicobacter mustellae*, *Helicobacter nemestrinae*, *Helicobacter acinonyx*.

Neiger e Simpson (2008) & Rossi (1999) citam que a infecção natural pelo *Helicobacter pylori* ainda não foi descrita em cães e em nosso estudo todas as bactérias visibilizadas foram morfológicamente diferentes ao *Helicobacter pylori*.

Happonen (1999) descreve que as helicobactérias encontradas em cães podem ser morfológicamente identificadas e diferenciadas por microscopia eletrônica através do comprimento, espessura bacteriana, números de flagelos, presença ou ausência de fibrilações periplasmáticas.

Souza (2004) cita que as helicobactérias encontradas nos cães de seu estudo, analisadas por microscopia ótica se assemelham ao *Helicobacter heilmannii*. Eaton *et al* (1996) descreve que esta espécie se assemelha morfológicamente ao *Helicobacter bizzozeronii* e estas apresentam formato em espiral evidente assim como os microorganismos visibilizados em nosso estudo.

Helicobactérias são encontradas frequentemente na mucosa gástrica de cães (Happonen, 1999), tanto em animais saudáveis, como observou Moutinho *et al* (2007), quanto em cães com sintomas de gastropatia, por Takemura *et al* (2007).

Assim como Vieira (2004) as helicobactérias foram visibilizadas no muco, na superfície do epitélio, no fundo das criptas e no interior das glândulas gástricas, acrescentando que em nossa pesquisa a densidade de bactérias foi maior em áreas que continham maior quantidade de muco.

De acordo com Ladeira *et al*, (2003) o *Helicobacter pylori* é mais freqüente na região do antro gástrico em humanos, enquanto que em cães as regiões do fundo e corpo tem se apresentado como áreas com maior densidade bacteriana e maior probabilidade de se encontrar helicobactérias como concluíram Moutinho *et al*, (2007), Souza (2004) e Happonen (1999). Em nosso estudo as regiões do fundo e corpo também foram as regiões com maior incidência da bactéria, observados tanto no teste rápido da urease quanto na histopatologia.

Hernández *et al* (2007) pesquisou endoscopicamente cães venezuelanos que vivem em residências demonstrando que a prevalência do *Helicobacter* spp. nestes animais foi de 50%, fato também observado por Takemura *et al* (2007) no Brasil.

A prevalência da bactéria em cães de rua e em cães que vivem em aglomerados como os canis municipais e experimentais no Brasil é alta e varia de 80% a 100% (Moutinho *et al* ,2007; Vieira, 2004; Souza, 2004), fato que parece ser semelhante em países desenvolvidos (Leib et al, 2008; Happonen, 1999; Strauss-Ayali, 1999).

Os resultados encontrados nos animais da presente pesquisa se mostraram de acordo a literatura veterinária quanto à alta prevalência e se apóia em trabalhos epidemiológicos com pacientes humanos, infectados pelo *Helicobacter pylori*, que vivem em coletividade, principalmente em grupos com baixo nível socioeconômico e com baixa higiene, onde se observa altas taxas de infecção e recorrência da infecção após tratamento (Fonsceca e Kawakami, 1999).

4.3 – Teste da urease versus Histopatologia

Vieira (2004) descreve que o teste rápido da urease pode apresentar resultados falso-negativos e falso-positivos, sendo a histopatologia a técnica mais sensível e indispensável na detecção de helicobactérias gástricas em cães.

De acordo com Araújo (2002), alguns autores não recomendam a utilização do teste da urease como único método para o diagnóstico de *Helicobacter* devido à baixa especificidade.

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 leituras feitas aos 30 e aos 60 minutos, respectivamente e a especificidade foi de 100% (Happonen *et al*, 1996). De acordo com Araújo (2002) quando a leitura é feita após 24 horas, a sensibilidade aumenta, mas a especificidade diminui, já que a possibilidade de contaminação por outras bactérias produtoras de urease aumentam, resultando em resultados falsos positivos. A sensibilidade também depende do número de bactérias presentes na amostra, sendo necessários pelo menos 10^4 organismos para um resultado positivo.

No presente trabalho realizou-se leitura do teste rápido da uréase até 12 horas após a imersão da amostra no meio.

A histopatologia corada pelo Giemsa e Giemsa modificado nos permitiu boa visibilização e identificação dos microorganismos nas regiões onde o teste da urease foi positivo. O resultado negativo no teste rápido da urease e os testes onde o tempo de viragem de cor ocorreu acima de 2 horas foram relacionados a exames histopatológicos com ausência de helicobactérias ou baixa densidade de colonização.

Moutinho *et al* (2007) e Souza (2004) visibilizaram as helicobactérias pelo método de Giemsa enquanto que Vieira (2004) também obteve fácil identificação dos microorganismos na mucosa gástrica pela coloração de Carbol-Fucsina fenicada, chamada de Giemsa modificado.

O fato da região do corpo e antro gástricos terem se apresentado com uma pequena variação na concordância entre os testes foi também descrito por Moutinho *et al*

(2007) que observou concordância de apenas 62% entre a histopatologia e o teste da urease na região do corpo gástrico e cita que tal fato pode ser explicado pelo corpo ser a maior região do estômago e das helicobactérias apresentarem uma distribuição mais esparsa nesta região em cães.

Em nosso trabalho houve boa concordância entre os testes nas três regiões do estômago de acordo com o a análise do coeficiente Kappa.

4.4 – Erradicação versus recorrência do *Helicobacter* spp.

Leib *et al* (2008) utilizou bloqueador de receptor H₂ da histamina em associação com terapia tríplice e observou que este medicamento não trouxe benefícios adicionais na erradicação do *Helicobacter* spp. em cães.

Já Ferreira *et al* (2001), descreve que o omeprazol, o pantoprazol e o lansoprazol além de suprimir satisfatoriamente a secreção ácida auxiliando a resolução de lesões gástricas, também podem agir, *in vitro*, como antimicrobianos por inibirem a urease da bactéria. Washabau (2010) cita que o uso do lansoprazol em cães no Norte da América tem demonstrado potência farmacológica e tempo de ação similar ao omeprazol, além de apresentar mínimos efeitos colaterais, o que justifica a boa tolerância deste medicamento nos cães do nosso experimento.

Happonen *et al* (2008) e Leib *et al* (2008) utilizaram terapia à base de amoxicilina e metronidazol com inibidores ácidos na erradicação das helicobactérias em cães com gastropatia resultando em erradicação de 77% e 75% respectivamente além da melhora significativa dos sinais clínicos. Nestes trabalhos foi descrita a necessidade de terapia complementar para erradicação em alguns animais e ambos relataram casos de recorrência da infecção detectada em exames de seguimento realizados em 3 anos e 6 meses respectivamente.

No Brasil, raros são os trabalhos científicos relacionados à terapêutica de cães infectados por helicobactérias.

Costa (2005) pesquisou terapia alternativa à base de estrato de própolis e óleo de alho em cães e observou que o estrato de própolis não foi eficaz na redução da colonização pelo *Helicobacter* spp. enquanto que os animais tratados com óleo de alho apresentaram redução significativa da infiltrado inflamatório, da degeneração glandular e na densidade do *Helicobacter* spp.

Costa (2005) também demonstrou em seu experimento que a associação da amoxicilina, metronidazol e omeprazol é eficaz na erradicação do *Helicobacter* spp em cães quando utilizado por quinze dias.

De acordo com Silva (2009), é possível a recorrência da bactéria em pacientes humanos, após a terapia de erradicação, sendo mais freqüente também em países em desenvolvimento.

Estudos realizados no Brasil por Mesquita *et al* (2005) e Coelho *et al* (1995) sugerem alta recorrência, porém não está claro se a taxa decorre de nova infecção ou de recrudescência como descreve Mesquita *et al* , 2005.

A falha na terapêutica como causa de maior taxa de reinfecção e recorrência da doença péptica, foi descrita por Chehter *et al* (2005) demonstrando em seu trabalho que a terapia tríplice a base de claritromicina, amoxicilina e lansoprazol reduziu de forma considerável os casos de reinfecção por *Helicobacter pylori* em humanos. Silva (2009) também cita que este esquema terapêutico por 7 dias apresentou alta eficácia na erradicação da bactéria nos pacientes estudados em seu trabalho, com taxa anual de reinfecção de 1,8%.

Happonen *et al* (2008) também citam que a reinfecção pelo *Helicobacter* spp. é rara após uma erradicação com sucesso, podendo ser confirmada de quatro a oito semanas após o término da terapia.

A utilização da claritromicina e amoxicilina associados ao lansoprazol como terapêutica de eleição em humanos na erradicação do *Helicobacter pylori* (Coelho e Zaterka, 2005), também se mostrou eficaz em nosso experimento, tanto na eliminação das helicobactérias gástricas, quanto na tolerância aos medicamentos pela espécie canina.

Destaca-se a importância deste experimento já que não foram encontradas publicações no Brasil de pesquisas experimentais utilizando esta terapia em cães.

O fato da terapia utilizada nesta pesquisa não ter sido acompanhada por efeitos adversos, foi também observado por Happonen *et al* (2008) utilizando amoxicilina, metronidazol e subcitrato de bismuto coloidal.

Baillon e Marshal-Jones (2004) descrevem que a maior parte dos estudos terapêuticos não conseguiram demonstrar erradicação do *Helicobacter* spp. em caninos a longo prazo e citam que ainda não está bem esclarecido se, este fato resulta de recorrência da infecção ou de recrudescência.

Nosso estudo demonstra que a terapêutica utilizada resultou na erradicação de 100% dos animais, analisada pelo teste rápido da urease e pela histopatologia, um dia após o término da terapia tríplice. Ocorreu recorrência natural da infecção em quatro dos cinco animais erradicados do grupo experimento, sugerindo transmissão do *Helicobacter* spp. entre os grupos

Estes resultados quando comparados ao grupo controle, mostram que mesmo com uma terapia tríplice eficaz, indivíduos erradicados podem ter maior probabilidade de adquirirem novamente a bactéria se mantiver íntimo contato com indivíduos positivos, principalmente em situações de aglomerados, assim como descrevem Fonsceca e Kawakami (1999) em sua revisão.

4.5 – Transmissão do *Helicobacter* spp.

Ribeiro *et al* (2004), cita que não há risco de transmissão por equipamentos endoscópicos, quando a desinfecção e esterilização forem adequadas e Elisalde (2007) concluiu em seu trabalho que médicos endoscopistas possuem alta prevalência de *Helicobacter pylori* e risco significativamente superior de se infectar.

A provável transmissão entre pessoas que vivem em aglomerados, entre paciente e médico e a transmissão iatrogênica são discutidas a mais de uma década em

decorrência de maior prevalência entre familiares (Escobar e Kawakami, 2004), entre profissionais da saúde e de recidivas em doentes erradicados (Fonsceca e Kawakami, 1999).

O conceito de que helicobactérias são transmitidas por via fecal-oral é aceita por muitos pesquisadores (Fonsceca e Kawakami, 1999).

Esta hipótese foi sugerida a princípio devido ao isolamento do *Helicobacter pylori* em fezes diarréicas de crianças na África por Thomas *et al* (1992) e por Kelly *et al* (1994) em pacientes dispépticos na Inglaterra (Fonsceca e Kawakami, 1999; Strauss-Ayali, 1999). Carvalho (2008) também cita o isolamento de *Helicobacter canis* em fezes de cães e Recordati *et al* (2007) na superfície da mucosa do cólon.

Fox (1995) sugeriu que as fezes com helicobactérias poderiam contaminar fonte de água e de alimentos, sendo importante fator na transmissão da bactéria. Esta via foi evidenciada por Fernández-Delgado *et al* (2008).

Pereira (2005) demonstrou a presença do *Helicobacter pylori* na saliva e na placa dentária de pacientes humanos que apresentaram a bactéria no estômago. E Perone *et al* (2007) cita que a cavidade oral seria um reservatório da bactéria, mesmo após erradicação no estômago, fato também descrito por Flatland (2002).

Gebara (2004) também detectou o microorganismo na cavidade oral de pacientes mesmo após erradicação no estômago e fortaleceu a hipótese deste local atuar como reservatório da bactéria. Tais estudos sugerem a ocorrência da transmissão pela via oral-oral, o que poderia explicar relatos de transmissão do *Helicobacter pylori* entre pessoas da mesma família, como a transmissão entre cônjuges descrita por Schütze (1995), entre mãe e filho por Escobar e Kawakami (2004), em aglomerados humanos por Fonsceca e Kawakami (1999) e nos cães deste experimento.

Helicobactérias diferentes ao *Helicobacter pylori* também foram identificadas por Recordati (2007) na cavidade oral de cães, tanto no saliva quanto na placa dentária dos mesmos. Lecoindre *et al* (1997) descreve que o vômito frequente e o hábito que os cães tem de se lambar, poderia contribuir de forma considerável para as altas taxas

de prevalência nesta espécie, destacando a possibilidade de existir transmissão da bactéria entre cães por esta via.

Os resultados do nosso trabalho demonstraram que a recorrência da infecção pelo *Helicobacter* spp. ocorreu pelo contato próximo entre cães mantidos em ambiente aglomerado, assim como descrevem Fonsceca e Kawakami (1999) em sua revisão.

4.6 - Potencial zoonótico do *Helicobacter* spp.

Flatland (2002) cita a existência de correlação entre a infecção por helicobactérias diferentes ao *Helicobacter pylori* em humanos com animais contaminados, considerando que existe maior prevalência de infecção pela espécie *Helicobacter heilmannii* em humanos nas comunidades rurais.

Revisões de literatura descritas no Brasil e no exterior citam que a infecção natural por bactérias diferentes ao *Helicobacter pylori* em humanos poderia ser indício de que também ocorra a transmissão do animal para o homem. Tais trabalhos sugerem, com muita cautela, um provável potencial zoonótico do *Helicobacter* spp. encontrado em cães, principalmente da espécie *Helicobacter heilmannii* (Carvalho *et al*, 2008; Recordati *et al*, 2007).

Dore *et al*, (1999) também descrevem que estudos epidemiológicos mostram elevada prevalência de anticorpos anti-*Helicobacter pylori* em funcionários de frigoríficos e médicos veterinários quando comparados com indivíduos que não tem contato com animais. Souza (2004) cita que kits de sorologia para diagnóstico do *Helicobacter pylori* podem apresentar reação cruzada em animais contaminados por espécies *Helicobacter* spp.

Já Silva (2005) descreve que a condição econômica e sanitária, a densidade intrafamiliar, a idade dos pacientes e a presença de animais no domicílio, não mostraram ser risco de reinfecção pela espécie *Helicobacter pylori* na população de pacientes estudada com baixa taxa de reinfecção.

Grande atenção deve ser dada a esses fatos, visto que boa parte da população mundial possui animais de companhia em casa, além do contato próximo entre animais e humanos em meios rurais.

4.7 – Pesquisa experimental

Ratos de laboratório infectados artificialmente com cepas de *Helicobacter pylori* são constantemente utilizados em pesquisa experimental (Mariosca, 2007).

Segundo Moutinho *et al* (2007) e Souza (2004) cães de rua e de canis experimentais possuem alta prevalência de *Helicobacter* spp. na mucosa gástrica.

Trabalhos realizados no exterior, também demonstram alta incidência em cães naturalmente infectados (Happonen, 1999; Happonen 2008) e já foi relatado que a inoculação de cepas de *Helicobacter pylori* em cães, podem induzir lesões gástricas semelhantes as que são encontradas em humanos naturalmente infectados (Rossi *et al*, 1999).

A semelhança anatomofisiológica do trato gastrointestinal entre humanos e cães, a alta prevalência na espécie canina e seu fácil manejo laboratorial justificam a utilização desta espécie animal em estudos experimentais visando melhor compreensão dos mecanismos da infecção pelo *Helicobacter* spp. como problema de saúde pública. Fato que ainda se contrasta na escassa literatura.

Assim como Fonsceca e Kawakami (1999) citam que as crianças representam a população ideal para grandes estudos epidemiológicos em relação ao papel do *Helicobacter pylori* na evolução do câncer gástrico, o cão se mostrou, a nosso ver, um bom modelo a ser utilizado na pesquisa experimental, visando esclarecer e detalhar o real mecanismo de transmissão e controle deste gênero de bactérias, em benefício tanto à medicina humana como à medicina veterinária.

5 – CONCLUSÕES

- Em cães, o *Helicobacter* spp. é encontrado com maior frequência nas regiões do fundo e corpo gástrico.
- Existe boa concordância entre o teste rápido da urease e a histopatologia corada pelo Giemsa e Giemsa modificado no diagnóstico do *Helicobacter* spp. em cães.
- A terapia tríplice a base de claritromicina, amoxicilina e lansoprazol é tratamento eficaz na erradicação de *Helicobacter* spp. em cães.
- A recorrência da infecção em cães erradicados ocorre após 60 dias de contato com cães naturalmente infectados.
- Ambientes aglomerados associado ao contato íntimo com animais infectados é fator determinante na transmissão do *Helicobacter* spp. na espécie canina.

6 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Andreasen CB, Jergens AE, Meyer DJ. Cavidade oral, trato gastrointestinal e estruturas anexas. In: Raskin RE, Meyer DJ. Atlas de citologia de cães e gatos. São Paulo: Roca; 2003. p.180-182.

Araújo-Filho I, Brandão-neto J, Pinheiro LAM, Mohana LA et al. Prevalence of *Helicobacter pylori* infection in advanced gastric carcinoma. Arq Gastroenterol 2006; 43(4):288-292.

Araújo IC, Ferreira AMR. Infecção por *Helicobacter* spp. em gatos – revisão. Rev. Clínica Veterinária 2002; 37: 41-50.

Baillon ML, Marshall-Jones Z. Bactérias enteropatogênicas em cães e gatos. Waltham Focus 2004; edição especial: 12-18.

Bicalho ALF. Efeito de diferentes anti-inflamatórios não esteróides na mucosa gástrica de cães. Avaliação endoscópica, histológica e bioquímica. [Tese- Mestrado] Belo Horizonte (MG). Universidade Federal de Minas Gerais; 2007.

Borges DR. Erradicação do *Helicobacter pylori* não traz benefício para pacientes com dispepsia não-ulcerosa. Rev. Assoc. Med. Bras. 2001; 47(3):170

Carvalho GD, Pinto PSA, Vilória MIV, Nero LA. Aspectos zoonóticos de *Helicobacter* spp. Biosci. J 2008; 24(4):121-30.

Castro APW, Gomes ATB, Padovan GJ, Oliveira RB, Marchini JS. Teste respiratório com isótopo estável (^{13}C -uréia) para detecção do *Helicobacter pylori*. J. Bras. Pat. Med. Lab. 2004; 40(2): 63-67.

Chether, L.; Rodrigues Júnior, L.; Faria, C.M. Recorrência da infecção por *H. pylori* na Unifesp. Gastroenterol. Endosc. Digest. 2005; 24(3):121-130.

Coelho LGV, Mattos AA, Francisconi CFM, Castro LP, Suraia AB. Eficácia do regime terapêutico empregando a associação de pantoprazol, claritromicina e amoxicilina, durante uma semana, na erradicação do *Helicobacter pylori* em pacientes com úlcera péptica. Arquivo de Gastroenterologia 2004; 41(1):71-76.

Coelho LGV, Passos MCF, Chausson Y, Castro FJ, Vieira WLS, Franco JMM, Moretzsohn LD, Andrade AM, Guedes LM, Miranda SC, Maciel CD, Fernandes MLM, Yazaki FR, Souza EMM, Castro LP. Factors involved in reinfection by *H. pylori* in Brazil. GUT, 1995; 37(1): 71.

Coelho LGV, Zaterca S. II Consenso Brasileiro sobre *Helicobacter pylori*. Arquivo de Gastroenterologia 2005; 42(2):128-132.

Coelho-Neto JS, Andreollo NA, Lopes LR, Nishimura NF, Brandalise NA, Leonardi LS. Avaliação tardia de doentes gastrectomizados por ulcera péptica: aspectos clínicos, endoscópicos e histopatológicos. Arquivo Gastroenterologia 2005;42(3):146-52.

Costa MC. Utilização do extrato de própolis, do óleo de alho e da terapia tripla no controle do *Helicobacter* spp. em cães. [Tese – Mestrado]. Viçosa (MG). Universidade Federal de Viçosa; 2005.

Costa MC, Costa PRS, Silva JCP, Maria REN, Moreira JCL, Carvalho RM. Utilizaçãodo óleo de alho e da amoxicilina , metronidazol e omeprazol no controle de *Helicobacter* spp. em cães. Arq. Brás. Med. Vet. Zootec.2009; 61(2):362-368.

Custódio RO, Daher RR, Ximenes YR, Silvério AO, Custódio NRO. Identificação do *Helicobacter pylori* pela citologia do escovado gástrico: comparação com o método histológico. Ver. Bras. Med. Trop. 2005; 38(4):322-325.

David FL. Estudo sobre a influencia do pH gástrico na absorção do metronidazol. [Tese – Mestrado]. Campinas (SP). Universidade Estadual de Campinas. 1998.

Dixon MF, Genta RM, Yardley JH, Correa P. Classification and gradin of gastritis. The updated Sydney System. International Workshop on the Histopathology of Gastritis. Am J Surg Patho 1996; 20:1161-81.

Dore MP, Bilotta M, Vaira D, Manca A, Massarelli G, Leandro G, Atzei A, Pinasu G, Grahah DY, Realgi G. High prevalence of *Helicobacter pylori* infection in Shepherds. Digestive Diseases and Sciences 1999; 44(6): 1161-1164.

Doorn LJ, Henskens Y, Nouhan N, Vreede R, Hernink P, Ponjee G et al. The biopsy specimens is related to bacterial density and vacA, cagA, and iceA

genotypes. J Clin Microbiol 2000; 38:13-17.

Eaton KA, Dewhirst FE, Paster BJ, Tzellas N, Coleman BE, Paola J, Sherding N. Prevalence and varieties of *Helicobacter* species in dogs from random sources and pet dogs: animal and public health implications. J.Clin. Microbiol. 1996; 34:3165-3170.

Elizalde CV, Ferrer MAF, Muniz NR. Diagnóstico serológico de *Helicobacter pylori* em endoscopistas. Revista Española de Enfermedades Digestivas 2007;99(2):88-93.

Escobar M.L, Kawakami E. Evidência da transmissão mãe-filho da infecção por *Helicobacter pylori*. Arquivos de Gastroenterologia, 2004; 41(4):239-244.

Fernández-Delgado M, Contreras M, García-Amado MA, Michelangeli F, Suarez P. Evidencias de La transmisión acuática de *Helicobacter pylori*. Interciência 2008; 33(6):412-417.

Ferreira LEVVC, Meirelles GSP, Vieira RC, Bragagnolo Jr MA, Chebli JMF, Souza AFM. Alterações no teste ultra-rápido da urease e no exame anatomopatológico para *Helicobacter pylori* induzidas por drogas anti-secretoras. Arquivos de Gastroenterologia 2001; 38(1):03-08.

Flatland B. *Helicobacter* infection in humans and animals. Compendium 2002; 24(9): 688-697.

Fleiss JL. Statistical methods for rates and proportions 1981; 2ª ed. Jonh Willey & Sons Inc. Nova York.

Fonseca JÁ, Kawakami E. Epidemiologia da infecção pelo *Helicobacter pylori*. Bras. Ped. News 1999; 1(1).

Fox JG. Non-human reservoirs of *Helicobacter pylori*. Alimentar Pharmacology Therapeutics, 1995; 9(2): 93-103.

Frota LC, Cunha MPSS, Luz CRL, et al. Erradicação de *Helicobacter pylori* com o uso de tetraciclina e furozolidona versus amoxicilina e azitromicina em terapia tripla com lansoprazol. Arquivo de Gastroenterologia 2005; 42(2):111-5.

Fuccio L, Laterza L, Zagari RM, Cennamo V, Grilli D, Bazzoli F. Treatment of *Helicobacter pylori* infection. BMJ, 2008; 337: a 1454.

Gebara ECE. Avaliação da cavidade bucal de pacientes com doença periodontal como reservatório de *Helicobacter pylori*. [Tese - Doutorado]. São Paulo (SP). Universidade de São Paulo; 2004.

Geyer C, Colbatzky F, Lechner J, Hermanns W. Occurrence of spiral-shaped bacteria in gastric biopsies of dogs and cats. *Veterinary Record* 1993; 133:18-19.

Godoy APO. Estudo da associação entre a resistência primária aos antimicrobianos amoxicilina, claritromicina, furazolidona, metronidazol e tetraciclina com os fatores de virulência *vacA*, *iceA*, *cagA*, *cagE* do *Helicobacter pylori*. [Tese – Mestrado]. Campinas (SP). Universidade Estadual de Campinas; 2002.

Gomes BC, Martins ECP. Fate of *Helicobacter pylori* artificially inoculated in lettuce and carrot samples. *Braz. J. Microbiol.* 2004; 35(1): 145-150.

Graham DY. Antibiotic resistance in *Helicobacter pylori*: Implications for therapy. *Gastroenterology* 1998; 115:1272-1277.

Groote D, Doorn LJV, Bulk KV, Vandamme P, Vieth M, Stolte M, Tel JC, Bureta A, Haesebrouck F, Ducatelle R. Detection of non-*pylori Helicobacter* species in “*Helicobacter heilmannii*” infect humans. *Helicobacter* 2005; 10(5):398-406.

Hanninen ML, Happonen I, Saari S, Javala K. Culture and characteristics of *Helicobacter bizzozeronii*: A new gastric canine *Helicobacter* sp. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 1996; 46: 160-166.

Happonen I. Canine and feline gastric helicobacters: diagnosis and significance in chronic gastritis. [Dissertação-Mestrado]. Finland. University of Helsinki, 1999.

Happonen Eu, Saari S, Castren L, Tyni O, Hänninen ML, Westermarck E. Comparison of diagnostic methods for detecting gastric *Helicobacter*-like organisms in dogs and cats. *Journal of Comparative Pathology* 1996; 115(2):117-27.

Happonen Eu, Linden J, Westermarck E. Effect of triple therapy on eradication of canine gastric helicobacters and gastric disease. *Journal of Small Animal Practice* 2008; 41(1): 1-6.

Hermanns W, Kregel K, Breuer W, Lechner J. *Helicobacter*-like organisms: Histopathological examination of gastric biopsies from dogs and cats. *Journal of Comparative Pathology*, 1995; 112(3): 307-318.

Hernández CA, Gallon G, Restrepo LF. Análisis de biópsias gástricas endoscópicas em caninos. *Revista Colombiana de Ciências Pecuárias* 2007; 20(3):250-259.

Kato S, Ozawa K, Sekine H, Ohyauchi M, Shimosegawa T, Minoura T, Inuma K. *Helicobacter heilmannii* infection in a child after successful eradication of *Helicobacter pylori*: case report and review of literature. *Journal of Gastroenterology*, 2004;40:94-97.

Ladeira MSP, Salvador DMF, Rodrigues MAM. Biopatologia do *Helicobacter pylori*. *Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial*. 2003; 39 (4):335-342.

Langenberg W, Rawus EA, Oudbier, JH, Tytgat GNJ. Patient to patient transmission of *Campylobacter pylori* infection by fiderotipic gastroduodenoscopy and biopsy. *Journal Infection Disease*, 1990; 161: 507-511.

Lee A, Hazell SL, O'rourke JL, Kouprach S. Isolation of a spiral-shaped bacterium from the cat stomach. *Infection and Immunity* 1988; 56(11): 2843-2850.

Lecoindre P, Chevalier M, Peyrol S, Boude M, Labigne A, Lamouliatte H, Pilet C. *Helicobacterioses de l'home et des carnivores domestiques: quelques données comparatives*. *Bulletin de L'academie Nationale de Médecine* 1997; 181(3): 407-454.

Leib MS, Duncan RB, Ward DL. Triple antimicrobial therapy and acid suppression in dogs with chronic vomiting and gastric *Helicobacter* spp. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 2008; 21(6): 1185-1192.

Louw JÁ, Luck W, Jaskiewicz K, Lastovica AJ, Winter TA, Marks N. *Helicobacter pylori* eradication in African Settins, with special reference to reinfection and duodenal ulcer recurrence. *GUT* 1995; 36: 544-7.

Marostica MC. Efeito do tratamento com inibidores de secreção ácida na infecção por *Helicobacter pylori* em camundongos. [Dissertação – Mestrado]. Campinas (SP). Universidade Estadual de Campinas; 2007

Marshall BJ, Warren JR. Unidentified curved bacilli in the stomach of patients with gastritis and peptic ulceration. *Lancet* 1984; 1:1311-1315.

Megraoud F, Doermann HP. Clinical relevance of resistant strains of *Helicobacter pylori*: a review of current data. *GUT: An International of Gastroenterology and Hepatology* 1998; 43(1): 61-65.

Mendall MA, Northfield TC. Transmission of *Helicobacter pylori* infection. *GUT* 1995; 37: 1-3.

Mendonça ALC, Meneses ACO, Chapadeiro E. Sensibilidade e especificidade de alterações histológicas da mucosa gástrica antral para o diagnóstico do *Helicobacter pylori*. *J Bras Patol* 1999;35:125-32.

Mesquita MA, Lorena SL, Zeitune JMR, Montes CG, Guerrazzi F, Carvalho Jr AF, Santos JOM, Almeida JRS. *Recurrence of Helicobacter pylori* infection after eradication therapy in brasilian patients with peptic ulcer. *Journal of Clinical Gastroenterology* 2005; 39(5): 447.

Mesquita MA, Lorena SLS, Almeida JRS, Montes CG, Campos LT, Zeitune JMR. One-week dual therapy with ranitidine bismute citrate and claritromicin for the treatment of *Helicobacter pylori* infection in Brazil patients with peptic ulcer. *World Journal of Gastroenterology*. 2005, 11: 3566-3569.

Moraes Filho JPP, Borges DR. Manual de gastroenterologia. São Paulo: Roca, 2000; 2:103-158.

Moutinho FQ, Thomassian A, Watanabe MJ, Suzano SMC, Sequeira JL. Prevalência de helicobacterias e alterações na mucosa gástrica de cães saudáveis. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia* 2007; 59(4):1080-1083.

Muller LB, Fagundes RB, Moraes CC, Rampazzo A. Prevalência da infecção por *Helicobacter pylori* e das lesões precursoras do câncer gástrico em pacientes dispépticos. *Arquivos de Gastroenterologia*. 2007; 44(2):93-98.

Neiger R, Simpson KW. *Helicobacter* infection in dogs and cats: facts and fiction. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 2008; 14(2): 125-33.

Oliveira CPMS. Gênero *Helicobacter*. Revista de Gastroenterologia da Fugesp[serial online] 2008 [acesso em nov de 2008], 1(7). Disponível em: URL: http://www.fugesp.org.br/fugesp_revistas.asp?id_publicacao=1&edicao_numero=7&menu_ordem=2.

Parente JML, Silva BB, Palha-Dias MPS, Zaterca S, Nishimura NF, Zeitune JMR. *Helicobacter pylori* infection in children of low and high socioeconomic status in northeastern Brazil. The American Society of Tropical Medicine and Hygiene, 2006; 75(3): 509-512.

Passos MCF. Infecção pelo *Helicobacter pylori*: Prevalência e associação com lesões gástricas. Arquivos de Gastroenterologia 2007;44(2):91-2.

Pereira GAS, Medeiros AC, Soares MSM, Küstner EC, Barreto RC, Lovera MP. Detección de *Helicobacter pylori* en placa dental y en mucosa gástrica de pacientes sometidos a endoscopia digestiva. Acta Odontológica Venezolana 2005;43(2):p. 113-118.

Pereira LPLB, Waisberg J, André EA et al. detecção do *Helicobacter pylori* no câncer gástrico. Arquivos de Gastroenterologia. 2001; 38(4):240-46.

Perrone M, Correnti M, Berroteran A, Lopez T, Ávila M, Cavazza ME, Lecuna V. La placa dental como reservorio de *Helicobacter pylori*. Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología. 2007;27(2):95-99.

Phadke AY, Desai HG. *Helicobacter pylori* reinfection. GUT 1996; 38:155.

Polanco RR, Bermúdez VM, Vivas I, Saldívia CM, Saldívia V, Arévalo L. Lesiones gástricas asociadas a La presencia de bacterias Del género *Helicobacter* em caninos. Revista Científica 2006, 16(6):585-592.

Radin MJ, Eaton KA, Krakowka S, Morgan DR, Lee A, Otto G, Fox J. *Helicobacter pylori* gastric infection in gnotobiotics beagle dogs. Infection and Immunity 1990; 58(8): 2606-2612.

Recordati C, Gualdi V, Craven M, Sala L, Luini M, Lanzoni A, Rishiniw M, Simpson KW, Scanziani E. Spatial distribution of *Helicobacter* spp. in the gastrointestinal tract of dogs. Helicobacter 2009; 14(3): 180-191.

Recordati C, Gualdi V, Tosi S, Facchini RV, Pengo G, Luini M, Simpson KW, Scanziana E. Detection of *Helicobacter* spp. DNA in the oral cavity of dogs. *Veterinary Microbiology* 2007; 119 (24):346-351.

Ribeiro ML, Godoy APO, Benvenuto YHB, Ecclissato SM, Mendonça S, Pedrazzoli Jr J. A influência dos procedimentos endoscópios na contaminação de culturas de *Helicobacter pylori*. *Arq. Gastroenterol.* 2004; 41(2): 100-3.

Riddell RH. Contribuição da histopatologia para a endoscopia. In: Classen M, Tytgat GNJ, Lightdale CJ. *Endoscopia Gastrointestinal*. Rio de Janeiro: Revinter; 2006. p. 188-196.

Rösch W. Técnicas de amostragem de tecidos. In: Classen M, Tytgat GNJ, Lightdale CJ. *Endoscopia Gastrointestinal*. Rio de Janeiro: Revinter; 2006. p. 183-4.

Rossi G, Rossi M, Vitali CG, Fortuna D, Burrone D, Pancotto L, Capecchi S, Sozzi S, Renzoni G, Braca G, Giudice G, Rappuoli R, Ghiara P, Taccini E. A conventional beagle dog model for acute and chronic infection with *Helicobacter pylori*. *Infection and Immunity* 1999; 67(6):3112-20.

Sachs G, Meyer-Rosberg K, Scott DR, Melchers K, Shin J, Besancon M. Acid secretion and *Helicobacter pylori*. *Digestion* 1997;58(1):8-13.

Salvatti CCE. Avaliação da resistência primária a antimicrobianos em linhagens de *Helicobacter pylori*, isoladas de pacientes da região de Bragança Paulista. [Tese – Mestrado]. Campinas (SP). Universidade Estadual de Campinas; 2001.

Schütze K, Hentschel E, Dragosics B, Hirsch AM. *Helicobacter pylori* reinfection with identical organisms: transmission by the patients' spouses. *GUT* 1995; 36:831-3.

Silva FM. Reinfecção pelo *Helicobacter pylori* em pacientes brasileiros com úlcera péptica, em seguimento de 5 anos. [Tese – Doutorado]. São Paulo (SP). Universidade de São Paulo; 2009.

Simpson KW, Burrows CF. Gastritis, ulcer and *Helicobacter* spp in humans, dogs and cats. *Waltham Focus* 1997;7(3):2-6.

Solnick JV, Schauer DB. Emergence of diverse *Helicobacter* species in the pathogenesis of gastric and enterohepatic diseases. *Clinical Microbiology reviews* 2001; 14(1): 59-97.

Souza ML. Prevalência de *Helicobacter* em cães oriundos do biotério central da Universidade Estadual de São Paulo (UNESP)-Botucatu. [Tese – Mestrado]. Botucatu (SP). Universidade Estadual de São Paulo; 2004.

Strauss-Ayali D, Simpson KW. Gastric *Helicobacter* infection in dogs. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice* 1999; 29(2): 397-414.

Suzaki RM, Zeitune JMR. Avaliação da pesquisa do antígeno nas fezes (HpSA) como um método para controle da erradicação do *Helicobacter pylori* em adultos. Congresso Interno de Iniciação Científica, 2006. Unicamp; Campinas (SP).

Takemura LS. *Helicobacter* spp gástrico em cães e gatos: relação entre as espécies infectantes, alterações histológicas e proliferação celular [Dissertação - Mestrado]. Londrina (PR): Universidade Estadual de Londrina; 2007.

Tytgat GNJ. Doenças gástricas. In: Classen M, Tytgat GNJ, Lightdale CJ. *Endoscopia Gastrointestinal*. Rio de Janeiro: Revinter; 2006. p. 489-519.

Vieira FT. Frequência e distribuição do *Helicobacter* spp na mucosa gástrica de cães. [Tese – Mestrado]. Viçosa (MG). Universidade federal de Viçosa; 2004.

Washabau RJ. Efficacy of Gastrointestinal Drugs in dogs. *World Small Animal Veterinary Association*. Vancouver. 2001.

Wiinberg Y, Spohr A, Dietz HH, Egelund T, Greiter-Wilke A, McDonough SP, Olsen J, Priestinall S, Chang YF, Simpson KW. Quantitative analysis of inflammatory and immune responses in dogs with gastritis and their relationship to *Helicobacter* spp. infection. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 2005; 19:4-14.

Willard MD. Afecções do Estômago. In: Ettinger SJ, Feldman EC. *Tratado de Medicina Interna Veterinária*, Barueri: Manole, 1997; 2:1583-1595.

Zaterka S, Eisig JN, Chinzon D, Rothstein W. factors related to *Helicobacter pylori* prevalence in an adult population in Brazil. *Helicobacter*, 2007; 12(1): 82-88.

7 – APÊNDICES

Apêndice I – Certificado da Comissão de Ética na Experimentação Animal



CEEAA/Unicamp

Comissão de Ética na Experimentação Animal CEEAA/Unicamp

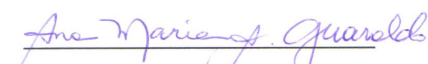
CERTIFICADO

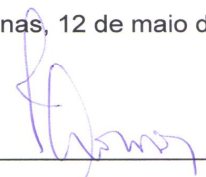
Certificamos que o Protocolo nº 1801-1, sobre "Avaliação da presença de *Helicobacter* na mucosa de cães após terapia de erradicação", sob a responsabilidade de Prof. Dr. Nelson Adami Andreolo / Thiago Pires Anacleto, está de acordo com os Princípios Éticos na Experimentação Animal adotados pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA), tendo sido aprovado pela Comissão de Ética na Experimentação Animal – CEEAA/Unicamp em 12 de maio de 2010.

CERTIFICATE

We certify that the protocol nº 1801-1, entitled "Assessment of gastric mucosal after treatment for *Helicobacter* in dogs", is in agreement with the Ethical Principles for Animal Research established by the Brazilian College for Animal Experimentation (COBEA). This project was approved by the institutional Committee for Ethics in Animal Research (State University of Campinas - Unicamp) on May 12, 2010.

Campinas, 12 de maio de 2010.


Profa. Dra. Ana Maria A. Guaraldo
Presidente


Fátima Alonso
Secretária Executiva

CEEAA – Unicamp
Caixa Postal 6109
13083-970 Campinas, SP – Brasil

Telefone: (19) 3521-6359
E-mail: comisib@unicamp.br
<http://www.ib.unicamp.br/ceea/>

Apêndice II – Prevalência do *Helicobacter* spp.

Tabela 1 - Análise descritiva de frequências para variáveis categóricas nos 20 cães na primeira endoscopia.

Nº de animais						
<i>Helicobacter</i> spp.	Teste rápido da urease			Histopatologia		
	Fundo	Corpo	Anstro	Fundo	Corpo	Anstro
Positivo	20	20	13	20	18	10
Negativo	0	0	7	0	2	10

Tabela 2 - Análise descritiva de frequências para variáveis categóricas nos 10 cães na segunda endoscopia.

Nº de animais						
<i>Helicobacter</i>	Teste rápido da urease			Histopatologia		
	Fundo	Corpo	Anstro	Fundo	Corpo	Anstro
Positivo	0	0	0	0	0	0
Negativo	10	10	10	10	10	10

Tabela 3 - Análise descritiva de frequências para variáveis categóricas nos 5 cães do grupo controle na terceira endoscopia.

Nº de animais						
<i>Helicobacter</i>	Teste rápido da urease			Histopatologia		
	Fundo	Corpo	Anstro	Fundo	Corpo	Anstro
Positivo	0	0	0	0	0	0
Negativo	5	5	5	5	5	5

Tabela 4 - Análise descritiva de frequências para variáveis categóricas nos 5 cães do grupo experimento na terceira endoscopia.

Nº de animais						
<i>Helicobacter</i>	Teste rápido da urease			Histopatologia		
	Fundo	Corpo	Anstro	Fundo	Corpo	Anstro
Positivo	4	4	3	4	4	3
Negativo	1	1	2	1	1	2

Apêndice III – Teste rápido da urease e Histopatologia

Tabela 5 – Análise descritiva e concordância entre os métodos de avaliação em cada região do estômago.

Fundo		Frequência Porcentagem	Histopatologia		Total
			+	-	
	Urease	+	20 100,00	0 0,00	20 100,00
		Total	20 100,00	0 0,00	20 100,00
Corpo		Frequência Porcentagem	Histopatologia		Total
			+	-	
	Urease	+	18 90,00	2 10,00	20 100,00
		Total	18 90,00	2 10,00	20 100,00
Antro		Frequência Porcentagem	Histopatologia		Total
			+	-	
		+	10 50,00	3 15,00	13 100,00
	Urease	-	0 0,00	7 35,00	7 100,00
		Total	10 50,00	10 50,00	20 100,00

Kappa = 0,7000, p-valor < 0,0001 IC95 ≠ (0,4014; 0,9986).

Apêndice IV: Recorrência da infecção

Tabela 6 – Análise descritiva e comparação da recorrência da infecção.

Frequência Porcentagem % Grupo		Infecção		Total
		sim	não	
Canil	Coletivo	4 40,00 80,00	1 10,00 20,00	5 50,00
		0 0,00 0,00	5 50,00 100,00	5 50,00
	Individual			
	Total	4 40,00	6 60,00	10 100,00

Fisher, p-valor = 0,0476.