

DetECCIÓN DE *Helicobacter* spp EN LA MUCOSA GÁSTRICA DE FELINOS DOMÉSTICOS CLÍNICAMENTE SANOS MEDIANTE LA PRUEBA RÁPIDA DE UREASA E HISTOPATOLOGÍA

Detection of *Helicobacter* spp in the gastric mucosa of clinically healthy domestic felines by the rapid urease test and histopathology

Pamela Thomson², Paola Lara¹, Liliana Maier¹, Paola Ledesma¹, Oscar López¹, Rubén Moreira¹

RESUMEN

El objetivo del estudio fue detectar *Helicobacter* spp a través de la prueba rápida de ureasa e histopatología en felinos domésticos (*Felis silvestris catus*) clínicamente sanos y establecer el grado de concordancia entre ambos métodos. Se incluyeron 15 gatos sin signos clínicos de enfermedad gastrointestinal, entre 2 y 7 años, sin distinción de raza y sexo, sin cambios dietarios y sin haber sido sometidos a terapias con antibióticos o inhibidores de la bomba de protones en los últimos 90 días. Se realizó la endoscopia para evaluar macroscópicamente la mucosa gástrica y obtener biopsias del fondo y cuerpo gástrico. Se determinó, con ambas pruebas, que 86.6% de las muestras fueron positivas a la presencia de *Helicobacter* spp, encontrándose 100% de concordancia entre las dos pruebas. En el 40% (6/15) de los felinos se observaron lesiones macroscópicas en mucosa gástrica, pero no se encontró asociación entre las lesiones con la presencia de *Helicobacter* spp. Se concluye que 86.6% de los felinos presentaron colonización por *Helicobacter* spp, y que la prueba rápida de ureasa constituye un método confiable para el diagnóstico de infección por *Helicobacter* spp.

Palabras clave: *Helicobacter*, prueba rápida de ureasa, histopatología, felinos

¹ Escuela de Medicina Veterinaria, Facultad de Recursos Naturales y Medicina Veterinaria, Universidad Santo Tomás, Santiago, Chile

² Escuela de Medicina Veterinaria, Facultad de Ciencias de la Vida, Universidad Andrés Bello, Santiago, Chile

³ E-mail: pamela.thomson@unab.cl

Recibido: 18 de febrero de 2020

Aceptado para publicación: 25 de septiembre de 2020

Publicado: 21 de diciembre de 2020

ABSTRACT

The aim of this study was to detect *Helicobacter* spp through the rapid urease test and histopathology in clinically healthy domestic felines (*Felis silvestris catus*) and to establish the degree of concordance between both methods. Fifteen cats without clinical signs of gastrointestinal disease, between 2 and 7 years old, without distinction of breed and sex, without dietary changes and without having undergone antibiotic or proton pump inhibitor therapy in the last 90 days were included. Endoscopy was performed to macroscopically evaluate the gastric mucosa and obtain biopsies of the gastric fundus and body. It was determined, with both tests, that 86.6% of the samples were positive for the presence of *Helicobacter* spp, finding 100% concordance between the two tests. In 40% (6/15) of the felines macroscopic lesions were observed in the gastric mucosa, but no association was found between the lesions with the presence of *Helicobacter* spp. It is concluded that 86.6% of the felines presented colonization by *Helicobacter* spp, and that the rapid urease test constitutes a reliable method for the diagnosis of infection by *Helicobacter* spp.

Key words: *Helicobacter*, rapid urease test, histopathology, felines

INTRODUCCIÓN

El género *Helicobacter* está compuesto por más de 40 especies de bacterias Gram negativas, microaerófilas y espiriladas (Flahou *et al.*, 2016), que tienen la capacidad de colonizar el estómago de distintos huéspedes mamíferos como perros y gatos, incluyendo al hombre (Morales y Bermúdez 2008; Kubota *et al.*, 2013; Pozdeev *et al.*, 2015; Kubota-Aizawa *et al.*, 2017; Ménard y Smet, 2019; Sharafutdinov *et al.*, 2020).

Helicobacter pylori es la especie más prevalente en humanos y está asociada a diversas enfermedades gástricas (Hu *et al.*, 2020; Li *et al.*, 2020). Sin embargo, en felinos se ha reportado en escasas ocasiones (Akhtardanesh *et al.*, 2006; Canejo-Teixeira *et al.*, 2014; Sasani *et al.*, 2014). Otros *Helicobacter* también han sido detectados en la mucosa gástrica de felinos domésticos, como *H. heilmannii* y *H. felis*, con prevalencias entre 41 y 100% (Haesebrouck *et al.*, 2009); así como *H. bizzozeronii* y *H. salomonis* (Gómez *et al.*, 2006). La infec-

ción por *H. felis* se ha asociado a gastritis, fibrosis y atrofia de la mucosa gástrica (Leib *et al.*, 2007; Bridgeford *et al.*, 2008; Takemura *et al.*, 2009), mientras que, la presencia de folículos linfoides e inflamación se han relacionado a *Helicobacter* spp y *H. heilmannii* (Canejo-Teixeira *et al.*, 2014; Sousa *et al.*, 2019). Se ha sugerido, que de manera similar a lo que ocurre en humanos infectados con *H. pylori*, la presencia de *H. heilmannii* en pacientes felinos se encuentra relacionada al linfoma alimentario (Bridgeford *et al.*, 2008; Sousa *et al.*, 2019).

Para su detección, hay diferentes métodos diagnósticos. Los invasivos, como el cultivo microbiológico y la histopatología, que permiten visualizar directamente al microorganismo (Majalca *et al.*, 2001; Leib, 2007); la prueba rápida de la ureasa, que detecta la actividad derivada del metabolismo de la bacteria (Gómez *et al.*, 2006; Moncayo *et al.*, 2006) y otros, como técnicas de biología molecular, que apuntan a la detección de ADN e identificación del agente (Sekhar *et al.*, 2019; Rodríguez-Gómez *et al.*, 2020). Dentro de los métodos no invasivos, se en-

cuentran la detección tanto de antígenos, como anticuerpos circulantes (Fang *et al.*, 2020).

Estudios epidemiológicos han demostrado una relación entre el contacto con los animales y el estado de colonización o infección por *Helicobacter* spp a humanos (Shojaee Tabrizi *et al.*, 2015; Smet *et al.*, 2018), por lo que actualmente existe una creciente preocupación por el potencial rol zoonótico de estas bacterias (Pozdeev *et al.*, 2015). En este contexto, es importante contar con métodos diagnósticos que permitan resultados rápidos y confiables. El objetivo de este estudio fue detectar la presencia de *Helicobacter* spp desde la mucosa gástrica de felinos domésticos clínicamente sanos, mediante la prueba rápida de ureasa e histopatología.

MATERIALES Y MÉTODOS

Pacientes

Durante el primer semestre del 2019 se realizó un muestreo dirigido, para seleccionar 15 gatos clínicamente sanos, sin signos clínicos de enfermedad gastrointestinal, con edades entre 2 y 7 años, sin considerar raza o sexo, sin cambios dietarios y sin haber sido sometidos a terapias con antibióticos o inhibidores de la bomba de protones (IBP) en los últimos 90 días. Todos los felinos, fueron examinados y muestreados, previo consentimiento informado, en el hospital de la Escuela de Medicina Veterinaria de la Universidad Santo Tomás, en Santiago de Chile.

Previo a la toma de muestra, los animales fueron sometidos a ayuno líquido y sólido por 12 y 24 horas, respectivamente. Se les administró una dosis preanestésica compuesta por acepromacina maleato (0.01-0.05 mg/kg) (Dragpharma, Santiago, Chile), ketamina (5 mg/kg) (Hollyday-Scott, Argentina) y diazepam (0.25 mg/kg) (Laboratorios Chile). La mantención del plano anestésico fue realizada con isoflurano al 2.5% (Baxter

Latinoamérica, Chile) a una concentración mínima de oxígeno alveolar de 1.2%. Se realizó vía endoscópica (EF Type B3, Olympus) la inspección macroscópica de la mucosa gástrica, donde se describieron los cambios patológicos evidentes basados en la presencia o ausencia de hiperemia, erosión, úlceras y edema (Akhtardanesh *et al.*, 2006) y, seguidamente, se obtuvieron dos biopsias de 2-3 mm de diámetro de cada zona (región del fondo y cuerpo gástrico).

La presencia de *Helicobacter* spp se confirmó primeramente mediante la prueba rápida de ureasa, utilizando un kit comercial (He-Py Test, Laboratorio Bios-Chile) siguiendo las indicaciones del fabricante. En segundo lugar, se realizó la observación del microorganismo desde los cortes histológicos de cada región gástrica, previamente fijados y teñidos con tinción de Gram. Para esto, se utilizó un microscopio trinocular pentaobjetivo Leica DM LS2 con cámara digital Motic® 2000 z 1000X y software de procesamiento de figura Motic Image Pro, determinando como positiva la presencia de al menos un microorganismo espiralado compatible con la morfología de *Helicobacter* sp en la muestra y negativa cuando al recorrer completamente la preparación hubo ausencia de estos microorganismos.

Se utilizó el test exacto de Fisher para analizar la asociación entre variables dicotómicas y el coeficiente kappa para analizar la concordancia entre los métodos diagnósticos. Las lesiones se relacionaron con la presencia de *Helicobacter* sp. Se utilizó el software estadístico SPSS.

RESULTADOS

La edad promedio de los felinos fue de 3.3 años (2-5 años), mestizos con excepción de un gato de raza Siamés. La proporción de machos (53.3%) y hembras (46.6%) fue similar. De los 15 felinos muestreados, 13 (86.6%) fueron positivos a la detección de

Cuadro 1. Presencia de *Helicobacter* spp mediante prueba de la ureasa y visualización microscópica del microorganismo en muestras de tejido gástrico de 15 gatos clínicamente sanos (Santiago de Chile, 2019)

Felino	Edad (años)	Sexo	Raza ¹	Prueba ureasa	Micro-organismo	Lesión macroscópica
1	3	H	DPC	+	+	Hiperemia en el fondo gástrico
2	3	H	Siamés	+	+	Ausente
3	2	M	DPC	+	+	Hiperemia en el fondo y cuerpo
4	5	H	DPC	+	+	Hiperemia en el cuerpo gástrico
5	3.5	H	DPC	+	+	Ausente
6	4.5	M	DPL	-	-	Ausente
7	2.5	M	DPL	+	+	Ausente
8	2.8	M	DPC	+	+	Hiperemia en el cuerpo gástrico
9	3	H	DPC	+	+	Hiperemia en el fondo y cuerpo
10	2	M	DPC	+	+	Edema en el fondo gástrico
11	5	M	DPL	+	+	Ausente
12	3.5	M	DPC	+	+	Ausente
13	4.5	H	DPL	+	+	Ausente
14	2.5	H	DPC	+	+	Ausente
15	2.8	H	DPC	-	-	Ausente

¹ DPL: Doméstico pelo largo; DPC: Doméstico pelo corto

Helicobacter spp a través de la evaluación histopatológica (Cuadro 1). Los microorganismos fueron visualizados aislados o agrupados formando cúmulos bacterianos, tanto en la región del fondo como en el cuerpo gástrico, ubicándose principalmente en la superficie de la mucosa o mucus gástrico, fosas gástricas y en menor cantidad en las glándulas (Figura 1).

Del total de las endoscopías, seis (40%) estuvieron asociadas a signología macroscópica en la mucosa, dos presentaron hiperemia en la región del fondo y cuerpo gástrico, una presentó hiperemia en la región del fondo y dos en la región del cuerpo, mientras que un paciente presentó edema en la región del fondo gástrico. El resto de los individuos presentaron un examen endoscópico

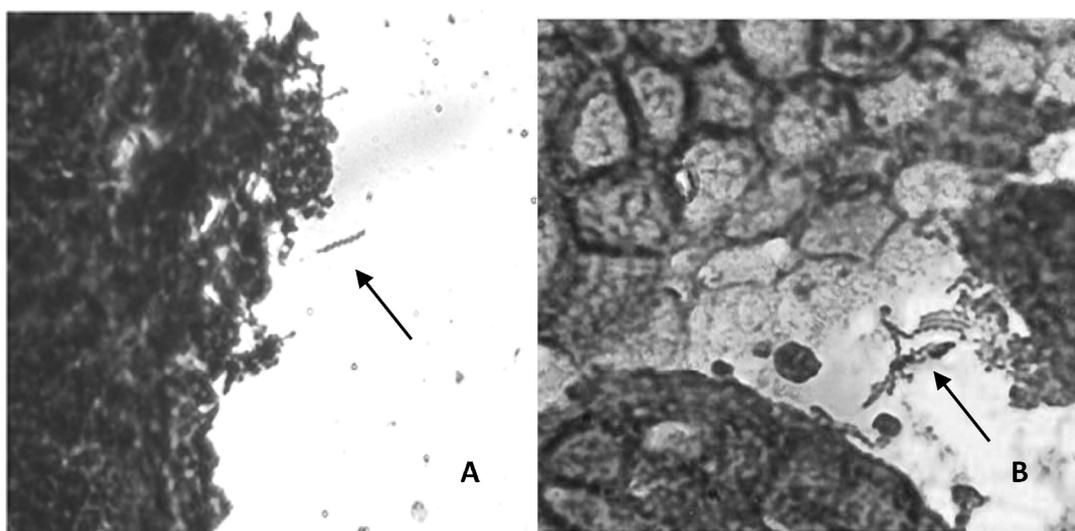


Figura 1. Bacterias espiraladas consistentes con *Helicobacter* spp en mucosa gástrica de gatos domésticos. A. Ubicada en la superficie de mucosa gástrica en la región del fondo del estómago. B. Agrupados en la región del cuerpo del estómago

normal (sin signología evidente). Al comparar estos resultados con la presencia de *Helicobacter* spp en mucosa, se pudo observar que 5 de los 6 animales que presentaron signología macroscópicas de mucosa gástrica fueron positivos a *Helicobacter* spp y de los 9 animales que no presentaron, 8 fueron positivos a *Helicobacter* spp (Cuadro). Las diferencias observadas entre estas variables no fueron estadísticamente significativas.

Igualmente, la detección de *Helicobacter* spp a través de la prueba rápida de la ureasa, logró detectar 13 muestras positivas. Al evaluar el grado de concordancia en el diagnóstico de *Helicobacter* spp entre ambas pruebas diagnósticas se detectaron como positivo a 13/15 animales, estimándose el índice Kappa (K) en 1 ($p < 0.05$), lo que indicaría que la concordancia observada es de 100%.

DISCUSIÓN

En este estudio se detectó 86.6% de muestras positivas a *Helicobacter* spp provenientes de la mucosa gástrica de pacientes felinos sin signología clínica. Trabajos previos, realizados en gatos indican una prevalencia estimada entre 41-100% en animales sanos (Haesebrouck *et al.*, 2009). Asimismo, Araujo *et al.* (2010) detectaron 94.6% de *Helicobacter* spp en muestras obtenidas en gatos callejeros. Otras investigaciones señalan una prevalencia de 56-76% en animales con signología digestiva asociada (Hernández y Gallón 2004, Gómez *et al.*, 2006), siendo mayor la infección en pacientes adultos que en cachorros (Gómez *et al.*, 2006; Takemura *et al.*, 2009).

Se observó que tanto la prueba rápida de ureasa como el estudio histopatológico identifican como positiva una muestra, pre-

sentando un 100% de concordancia entre ellas. Esto coincide con el estudio de Polanco *et al.* (2006), quienes señalan que la concordancia y el valor predictivo positivo de la prueba de ureasa es cercana al 100%, cuando se comparan los resultados de esta prueba con el método histopatológico. A su vez, Gutiérrez (2003), señala que la prueba rápida de ureasa es un buen método de diagnóstico, para determinar la presencia de organismos espirilados gástricos en felinos, lo mismo que la histopatología que presenta una especificidad y una sensibilidad cercanas al 100% (Majalca *et al.*, 2001; Gutiérrez, 2003; Leib 2007).

En este estudio, 6 de 15 muestras (40%) estuvieron asociadas a signología macroscópica en la mucosa gástrica. Al respecto, DeNovo (2003) señala que la apariencia endoscópica de gastritis asociada a *Helicobacter* es variable y va desde un aspecto normal, pasando por áreas hiperémicas, hasta erosiones puntiformes de mucosa. Igualmente, esto ha sido descrito por Norris *et al.* (1999) donde 14/15 gatos fueron positivos a *Helicobacter* spp y la mucosa gástrica tuvo una apariencia normal en todos ellos. Por lo anterior, DeNovo (2003) indica que la ausencia de lesiones macroscópicas al examen endoscópico no debe generar confusión al diagnosticar como negativo al animal, y recomienda obtener biopsias de mucosa gástrica para confirmar o descartar la presencia de cambios inflamatorios.

En conclusión, el estudio histopatológico y la prueba rápida de ureasa determinaron que un alto porcentaje de los animales evaluados fueron positivos a *Helicobacter* spp. La principal alteración macroscópica encontrada en animales colonizados con *Helicobacter* spp fue hiperemia de la mucosa gástrica; sin embargo, no hubo una relación estadísticamente significativa entre ambas variables. La concordancia observada entre el estudio histológico y la prueba rápida de ureasa fue muy alta, ($Kappa=1$) y, por tanto, esta última podría considerarse como un método rápido para el diagnóstico de infección por *Helicobacter* spp.

LITERATURA CITADA

1. **Akhtardanesh B, Khtardanesh B, Jamshidi S, Sasani F, Mohammadi S, Bokaei S, Zahraie T. 2006.** *Helicobacter* sp infection and gastric lesions in domestic and stray cats. *Vet Archiv* 76: 479-488.
2. **Araujo IC, Mota SB, de Aquino MH, Ferreira AM. 2010.** *Helicobacter* species detection and histopathological changes in stray cats from Niterói, Brazil. *J Feline Med Surg* 12: 509-511. doi: 10.1016/j.jfms.2010.01.008
3. **Bridgford EC, Marini RP, Feng Y, Parry NM, Rickman B, Fox JG. 2008.** Gastric *Helicobacter* species as a cause of feline gastric lymphoma: a viable hypothesis. *Vet Immunol Immunop* 123: 106-113. doi: 10.1016/j.vetimm.2008.01.016
4. **Canejo-Teixeira R, Oliveira M, Pissarra H, Niza MM, Vilela CL. 2014.** A mixed population of *Helicobacter pylori*, *Helicobacter bizzozeronii* and *Helicobacter heilmannii* in the gastric mucosa of a domestic cat. *Irish Vet J* 67: 25. doi: 10.1186/2046-0481-67-25
5. **Denovo R. 2003.** Diseases of the stomach. In: Todd R (ed). *Handbook of small animal gastroenterology*. 2nd ed. Philadelphia, USA: Saunders. p 159-194.
6. **Fang YJ, Chen MJ, Chen CC, Lee JY, Yang TH, Yu CC, Chiu MC, et al. 2020.** Accuracy of rapid *Helicobacter pylori* antigen tests for the surveillance of the updated prevalence of *H. pylori* in Taiwan. *J Formos Med Assoc* 6646: 31146-31145. doi: 10.1016/j.jfma.2019.12.003
7. **Flahou B, Haesebrouck F, Smet A. 2016.** Non-*Helicobacter pylori* *Helicobacter* infections in humans and animals. In: *Helicobacter pylori* Research: From bench to bedside. Springer. p 233-273.
8. **Gómez F, Orozco S, Salas S. 2006.** Canine and feline helicobacteriosis. *Vet México* 37: 97-116.

9. **Gutiérrez M. 2003.** Determinación de microorganismos espiroidales en mucosa gástrica de gatos domésticos clínicamente asintomáticos. Tesis de Médico Veterinario. Chillán, Chile: Univ. de Concepción. 144 p.
10. **Haesebrouck F, Pasmans B, Flahou K, Chiers M, Baele T, Meyns A, Decostere R, Ducatelle A. 2009.** Gastric *Helicobacter* in domestic animals and non-human primates and their significance for human health. *Clin Microbiol Rev* 22: 202-222. doi: 10.1128/CMR.00041-08
11. **Hernández C, Gallón G. 2004.** Helicobacteres gástricos de perros y gatos: mínimo riesgo en salud pública. *Rev Colomb Cienc Pec* 17: 267- 273.
12. **Hu Y, Zhu Y, Lu NH. 2020.** Recent progress in *Helicobacter pylori* treatment. *Chinese Med J-Peking* 133: 335-343. doi: 10.1097/CM9.00000000-00000618
13. **Kubota S, Ohno K, Tsukamoto A, Maeda S, Murata Y, Nakashima K, Fukushima K, et al. 2013.** Value of the ¹³C-urea breath test for detection of gastric *Helicobacter* spp infection in dogs undergoing endoscopic examination. *J Vet Med Sci* 75: 1049-1054. doi: 10.1292/jvms.12-0528
14. **Kubota-Aizawa S, Ohno K, Kanemoto H, Nakashima K, Fukushima K, Uchida K, Chambers JK, et al. 2017.** Epidemiological study on feline gastric *Helicobacter* spp in Japan. *J Vet Med Sci* 79: 876-880. doi: 10.1292/jvms.16-0567
15. **Leib M. 2007.** *Helicobacter* gastritis: does it cause vomiting in dog and cat? In: North American Veterinary Conference. Orlando, USA.
16. **Li L, Tan J, Liu L, Li J, Chen G, Chen M, Xie J, et al. 2020.** Association between *H. pylori* infection and health outcomes: an umbrella review of systematic reviews and meta-analyses. *BMJ Open* 10(1): e031951. doi: 10.1136/bmjopen-2019-031951
17. **Majalca C, Rivera J, Ochoa S, Giono S. 2001.** Transporte, identificación y conservación de la cepas de *Helicobacter pylori*. *Bioquímica* 26: 85-89.
18. **Ménard A, Smet A. 2019.** Other *Helicobacter* species. *Helicobacter* 24(Suppl 1): e12645. doi: 10.1111/hel.12645
19. **Moncayo J, Santacruz J, Álvarez A, Franco B, López M, Ángel A, Gallego M, et al. 2006.** Comparación de métodos de diagnósticos en la infección por *Helicobacter pylori* en Quindío, Colombia. *Colomb Médica* 37: 203-212.
20. **Morales A, Bermúdez V. 2008.** Modelos animales para el estudio de la infección por el género *Helicobacter* en humanos. *Rev Soc Med Quir Hosp Emerg Pérez de León* 39: 30-33.
21. **Norris C, Marks S, Eaton K, Tororabian S, Orabian S, Munn R, Solnick G. 1999.** Healthy cats are commonly colonized with «*Helicobacter heilmannii*» that is associated with minimal gastritis. *J Clin Microbiol* 37: 189-194.
22. **Polanco R, Bermúdez V, Vivas I, Saldivia C, De Saldivia V, Arévalos L. 2006.** Gastric lesions associated with the presence of bacteria of the *Helicobacter* genus in canine. *Rev Cient-Fac Cien V* 16: 585-592.
23. **Pozdeev OK, Pozdeeva AO, Pozdnyak AO, Saifutdinov RG. 2015.** Role of animal gastric *Helicobacter* species in human gastric pathology. *Terapevt Arkh* 87: 122-126. doi: 10.17116/terarkh20158-75122-126
24. **Rodríguez-Gómez ER, Otero Regino W, Monterrey PA, Trespalacios Rangel AA. 2020.** *cagA* gene EPIYA motif genetic characterization from Colombian *Helicobacter pylori* isolates: Standardization of a molecular test for rapid clinical laboratory detection. *PLoS One* 15: e0227275. doi: 10.1371/journal.pone.0227275
25. **Sasani F, Javanbakht J, Kabir FR, Agha Mohammad Hassan M, Pashaei AR. 2014.** Evaluation of gastric lesions

- based on *Helicobacter pylori* and *Helicobacter*-like organisms (HLOs) in cats: a histopathological and bacteriological study. *Jundishapur J Microb* 7: e9129. doi: 10.5812/jjm.9129
26. **Sekhar Goud EVS, Kannan R, Rao UK, Joshua E, Tavaraja R, Jain Y. 2019.** Identification of *Helicobacter pylori* in saliva of patients with and without gastritis by polymerase chain reaction. *J Pharm Bioallied Sci* 11: S523-S529.
27. **Sharafutdinov I, Backert S, Tegtmeyer N. 2020.** Cortactin: a major cellular target of the gastric carcinogen *Helicobacter pylori*. *Cancers* 12: 159. doi: 10.3390/cancers12010159
28. **Shojaee Tabrizi A, Derakhshandeh A, Esfandiari A, Ali Atashi Z. 2015.** Identification of *Helicobacter* spp in gastrointestinal tract, pancreas and hepatobiliary system of stray cats. *Iran J Vet Res* 16: 374-376.
29. **Smet A, Yahara K, Rossi M, Tay A, Backert S, Armin E, Fox JG, et al. 2018.** Macroevolution of gastric *Helicobacter* species unveils interspecies admixture and time of divergence. *ISME J* 12: 2518-2531. doi: 10.1038/s41396-018-0199-5
30. **Sousa D, da Silva KV, Cascon C, Silva FB, de Mello MF, Leite J, Fonseca AB, et al. 2019.** Epidermal growth factor receptor 2 immunoeexpression in gastric cells of domestic cats with *H. heilmannii* infection. *Acta Histochem* 121: 413-418. doi: 10.1016/j.acthis.2019.03.004
31. **Takemura L, Akemura L, Camargo P, Alfieri A, Bracarense A. 2009.** *Helicobacter* sp in cats: association between infecting species and epithelial proliferation within the gastric lamina propria. *J Comp Pathol* 141: 127-134. doi: 10.1016/j.jcpa.2009.01.002