

DETERMINACIÓN DE *Helicobacter spp.*, EN ÚLCERAS GÁSTRICAS EN CABALLOS

DETERMINATION of *Helicobacter spp.*, FROM GASTRIC ULCERS IN HORSES

José Cardona Á^{1*}, M.Sc, Enrique Paredes H², Ph.D, Heriberto Fernández³, Ph.D.

¹Universidad de Córdoba. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Departamento de Ciencias Pecuarias. Área de Clínica Medico-Quirúrgica de Grandes Animales. Montería, Colombia. ²Universidad Austral de Chile. Facultad de Ciencias Veterinarias. Instituto de Patología Animal. Valdivia, Chile. ³Universidad Austral de Chile. Facultad de Medicina. Instituto de Microbiología Clínica. Valdivia, Chile. *Correspondencia: cardonalvarez@hotmail.com.

Recibido: Agosto 19 de 2008; Aceptado: Agosto 30 de 2009

RESUMEN

Objetivo. Determinar la presencia de *Helicobacter spp.*, en úlceras gástricas en caballos. **Materiales y métodos.** Se utilizaron 40 caballos, 28 machos y 12 hembras, (4-17, años). Se analizó en forma descriptiva la frecuencia de presentación de bacterias tipo *Helicobacter spp.*, mediante las pruebas de ureasa (TU), tinción de Gram directo (GD) y tinción de Whartin Starry (WS), las bacterias se identificaron por su morfología y por su actividad sobre urea. Se consideraron las variables del total de animales, zona anatómica, sexo y edad. **Resultados.** Se encontraron bacterias tipo *Helicobacter spp.* El 65% de los caballos fueron positivos al test de ureasa, el 75% fueron positivos a la tinción de Whartin Starry y el 50% resultaron positivos a la tinción de Gram directo. Sólo el 62.5 % de animales fueron positivos en 2 pruebas (TU y WS), mientras que el 50% fueron positivos en 3 pruebas (TU, WS y GD). El 22.5% de los animales resultaron negativos a todas las pruebas. El 100% de las muestras positivas correspondieron a la mucosa glandular, principalmente a nivel del fundus y pocas del antro gástrico. Las bacterias fueron encontradas en todos los grupos etáreos y en ambos sexos, se observó mayor positividad en los machos a dos pruebas o más. Microscópicamente se demostró la presencia de bacterias curvo-espiraladas compatibles con *Helicobacter spp.*, el test de ureasa fue moderado, un escaso número de muestras positivas mostró una alta cantidad de bacterias con la tinción de Whartin Starry. **Conclusiones.** Se hallaron bacterias con morfología compatible con *Helicobacter spp.*, presentes en las úlceras gástricas de caballos.

Palabras clave: *Helicobacter spp.*, caballos, úlceras gástricas.

ABSTRACT

Objective. To determine the presence of bacteria type *Helicobacter spp.*, from gastric ulcers in horses. **Materials and methods.** Forty horses, 28 males and 12 females (4-17, years) were included. The frequency of presentation of bacteria like *Helicobacter spp.*, was analyzed in descriptive form by means of the urease test (UT), Gram (GS) stain and whartin-starry stain. Variables considered were the total of animals, anatomical (gastric segment of the mucous one) area, sex and age. **Results.** It was found the presence of bacteria like *Helicobacter spp.*, the 65.0% of the horses were positive to urease test, 75.0% of the horses were positive to the whartin-starry and 50% to Gram stain. Only 62.5% of the animals were positive in both tests (urease test and whartin starry); meanwhile, 50.0% were positive in three tests (urease test, whartin starry and gram stain). 22.5% of the animals were negative in all tests. All of the positive samples were taken in the glandular mucous, mainly at the level of the fundus and hole gastric. Bacteria were found in all studied groups and both sex, major positivity was observed in males to two tests or more. From microscopic point of view it was observed shape curve spiral bacteria compatible to *Helicobacter spp.* Ureasa test was moderate, un few positive specimens showed high number of bacteria by using Whartin Starry stain. **Conclusions.** The bacteria *Helicobacter spp.*, were present in the gastric ulcers of horses.

Key words: *Helicobacter spp.*, horses, gastric ulcers.

INTRODUCCIÓN

En medicina veterinaria varias especies del género *Helicobacter* han sido relacionadas con inflamación y ulceración gastrointestinal en diferentes especies animales (1,2). El papel de *Helicobacter spp.*, en la presentación de úlceras gástricas en equinos es desconocido. Sin embargo, existen informes sobre potros positivos al test de ureasa. Por otra parte, en cortes histológicos de la mucosa gástrica se ha observado la presencia de bacilos semejantes a *Helicobacter pylori*. Pero estos hallazgos no son concluyentes, ya que no se ha aislado el agente desde úlceras gástricas en caballos (3,4).

Las especies del género *Helicobacter* se caracterizan por ser microaerófilas, móviles, Gram negativas. Morfológicamente son espiraladas, curvadas (bacilar) o cocoides (5, 6). Miden aproximadamente 3,5 x 0,5 µm, poseen de 5 a 6 flagelos en uno de sus polos, lo que las hace altamente móviles y colonizan la capa de mucus que cubre el epitelio gástrico (7). Este es un

microorganismo de crecimiento lento, siendo necesarios de 5 a 7 días para poder apreciarse las colonias en medios sólidos. La forma bacilar es la dominante y virulenta, mientras que la forma cococida no es viable o pudiese ser la manera como se protege el microorganismo durante la inactividad (8). El objetivo del presente estudio fue determinar la presencia de bacterias curvo-espiraladas tipo *Helicobacter spp.*, en úlceras gástricas de caballos.

MATERIALES Y MÉTODOS

Sitio de estudio. El presente estudio en su parte práctica se realizó en el Instituto de Patología Animal de la Facultad de Ciencias Veterinarias y en el Instituto de Microbiología Clínica de la Facultad de Medicina de la Universidad Austral de Chile. Las muestras para este estudio fueron obtenidas en la planta faenadora de carnes de Chol-Chol, ubicada a 28 km al noroeste de la ciudad de Temuco (IX Región, Chile).

Animales. Se utilizaron 40 caballos, mestizos, adultos con edades que fluctuaron entre 4 y 17 años, 28 machos castrados y 12 hembras. Las muestras fueron obtenidas de equinos faenados que presentaron úlceras gástricas detectadas al examen macroscópico. Luego de la extracción del órgano, se procedió a su disección desde el cardias hasta el píloro y porción proximal del duodeno, abordando este proceso por la curvatura mayor, según pauta descrita por Paredes y Cubillos (9). La edad fue determinada por cronometría dentaria (10).

Procesamiento de las muestras. Cada una de las muestras fue sometida a las siguientes pruebas: test de ureasa, tinción de Gram directo y tinción de Whartin Starry. El test de ureasa fue realizado en forma directa en la planta faenadora, con posterioridad a la recolección de la muestra. Para este fin se introdujo un trozo de tejido gástrico ulcerado en un tubo de ensayo con solución de urea al 5% e indicador de pH; luego fueron introducidas en la cámara de microaerofilia y transportadas al Instituto de Microbiología Clínica de la Facultad de Medicina de la Universidad Austral de Chile y colocadas en incubación a 37°C, observándose el cambio en el color del reactivo a las 24 horas. Un cambio de color del reactivo de naranja-amarillo a rosa fucsia fue considerado una reacción positiva, indicando la presencia de ureasa en la muestra inoculada. También, en la planta faenadora se realizó en forma directa impresiones de tejido en porta objetos debidamente rotulados, secados y transportados al laboratorio de Microbiología Clínica de la Universidad Austral de Chile para la tinción de Gram directo. Las muestras para examen histopatológico fueron procesadas en el Instituto de Patología Animal de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Austral de Chile. Las muestras fueron laminadas y procesadas en autotécnico (Shandon Elliott) a fin de ser deshidratadas e impregnadas en parafina. Finalmente fueron incluidas en parafina sólida, cortadas mediante micrótopo a 5-6 micras de grosor y teñidas con tinción de Whartin Starry (11, 12), con el fin de poder identificar la presencia de bacterias tipo *Helicobacter spp.* Esta tinción es específica para determinar la presencia de bacterias curvo-espiraladas en el tejido evaluado.

Identificación de bacterias tipo *Helicobacter spp.* Las bacterias fueron identificadas por su positividad al test de ureasa y por su morfología característica (curvadas o espiraladas) mediante tinción de Gram y por su afinidad por tinciones de Whartin Starry (13).

Cuantificación de la población bacteriana de *Helicobacter spp.* La carga bacteriana fue semicuantificada subjetivamente, teniendo en cuenta el número de campos con bacterias y la población de bacterias por campo (14, 15), utilizando la siguiente escala:

(-)	:	Ausente
(+)	:	Escasas
(++)	:	Moderadas
(+++)	:	Abundantes

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Frecuencia de presentación de bacterias tipo *Helicobacter spp.*, según sexo y edad. En la población equina en estudio se presentó un predominio de machos castrados sobre las hembras, esto podría deberse a que son los machos castrados los que se descartan primero cuando presentan alguna patología, envejecen o bajan su rendimiento, por lo que son enviados a sacrificio, ya que las hembras podrían ser utilizadas para la reproducción. Por otro lado, se ha encontrado que existe mayor riesgo de presentación de úlceras gástricas en los machos castrados (16), al parecer debido a una disminución de la testosterona, la cual cumpliría un papel en la estimulación del factor de crecimiento epidermal salival, el que bloquea las secreciones ácidas y estimula la migración epitelial de la mucosa gástrica; algo parecido ocurre en el caso de las hembras, donde son las hormonas femeninas las que estimulan el factor de crecimiento epidermal, lo que explica el bajo riesgo de úlceras en las yeguas (16).

En cuanto a la edad, la mayor proporción de caballos estudiados se encontró en el segundo grupo etáreo (6 a 10 años), presentando cargas bacterianas leves y moderadas y en muy pocos casos carga bacteriana alta (Figura 1). Los demás grupos etáreos presentaron frecuencias de presentación muy bajas, con respecto al segundo grupo. Chillihua et al (17) y González-Carbajal et al (18) reportaron mayor presentación de *Helicobacter pylori* en la población humana infantil; mientras que Baba et al (19) y Rodríguez et al (20) reportaron mayor frecuencia de presentación en la población canina adulta. Sin embargo, Paz (21) y Ward et al (22), señalaron que la frecuencia de presentación de bacterias tipo *Helicobacter* spp., aumenta con la edad, mientras que para Happonen (23), la tasa de prevalencia de la bacteria fue similar en perros de ambos sexos y de todas las edades.

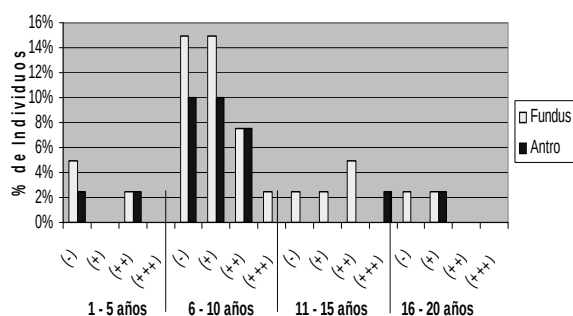


Figura 1. Graduación de la frecuencia de presentación de bacterias tipo *Helicobacter* spp., según edad, para las zonas de la mucosa gástrica.

La figura 1, muestra los valores de graduación de la frecuencia de presentación de bacterias tipo *Helicobacter* spp., según edad, con respecto a las diferentes zonas de la mucosa gástrica, en 40 caballos. En los animales del primer grupo etáreo, se observó la bacteria en forma moderada en un bajo porcentaje de las muestras tanto en el fúndus, como en el antro gástrico. Los animales del segundo grupo etáreo, presentaron un alto porcentaje de muestras con bacterias en forma leve (25%), y moderada (7.5%), tanto en el fúndus, como en el antro gástrico, mientras que solo el 2.5 % de las muestras resultaron positivas en forma alta en la región fúndica. En los animales del tercer grupo etáreo, se observó un bajo porcentaje de muestras positivas con leve carga bacteriana

en el fúndus gástrico (2.5%), en forma moderada (5%) en la región fúndica, mientras que el 2.5% de las muestras resultó positivo con carga bacteriana alta a nivel de la región antral. En el último grupo etáreo sólo se observó leve carga bacteriana en las dos regiones gástricas, con 2.5% respectivamente.

Frecuencia de presentación de bacterias tipo *Helicobacter* spp., obtenida mediante test de ureasa, tinción de Whartin Starry y tinción de Gram directo.

Son muy escasas las referencias que se tienen en equinos en cuanto a la frecuencia y distribución de bacterias curvo-espiraladas tipo *Helicobacter* spp., en la mucosa gástrica. Valenzuela et al (15) en el sur de Chile, demostraron la presencia de organismos espiroidales gástricos desde biopsias provenientes del fundus gástrico, obtenidas por gastroscopía en potros clínicamente sanos, con una frecuencia de presentación inferior a los obtenidos en este estudio. De igual forma Belli et al (24), en caballos sometidos a gastroscopía demostraron evidencia de la presencia de organismos espiroidales en biopsias del fundus gástrico en un equino positivo al test de ureasa en Brasil; sin embargo esta prueba por si sola no es concluyente, debido a que existen otros microorganismos que son productores de ureasa, aunque en menor cantidad, como *Klebsiella*, *Proteus* y *Yersinia* (25). Por lo tanto, sólo se considera positivo a la presencia de bacterias curvo espiraladas tipo *Helicobacter* spp., a la concordancia de positividad de dos o más pruebas diagnósticas (12, 26). Sin embargo, en este estudio se encontró un pequeño grupo de muestras en las que se obtuvieron resultados positivos discordantes, o sea, muestras positivas al test de ureasa y negativas a la tinción de Whartin Starry o viceversa. La obtención de muestras que resultaron ureasa positiva y whartin starry negativo, podría deberse a errores en el muestreo, debido a que se sabe que la distribución de la bacteria en la mucosa gástrica no es uniforme, por lo que se recomienda tomar varias muestras de diferentes sitios de ésta (26). En el caso de las muestras que resultaron Whartin Starry positivo y ureasa negativo, podría deberse a una población bacteriana escasa (< 10.000

bacterias en la muestra), las que no producirían la cantidad de ureasa suficiente para ocasionar un cambio de color en el medio de urea (27-29). Por esta razón sólo son consideradas positivas aquellas muestras que resultan positivas a más de dos pruebas (12, 26).

En este estudio, un alto porcentaje de las muestras (62.5%) resultaron positivas a bacterias tipo *Helicobacter spp.*, en dos o más pruebas diagnósticas (Figura 2). Este resultado es mayor al informado por Valenzuela et al (15), quienes encontraron positividad a dos pruebas en 56% y 26% de las muestras utilizando tinción de gram modificada y test de ureasa en potros clínicamente sanos respectivamente; sin embargo, estos autores no indican cuantos de estos animales resultaron positivos y concordantes a las dos pruebas. De igual forma el resultado obtenido en este estudio es mayor al reportado por Belli et al (24) en Brasil y menor al reportado en otras especies animales, como en caninos, donde se obtuvieron frecuencias de presentación de *Helicobacter spp.*, mucho mas altas (30, 31). Así mismo en humanos se determinaron frecuencias superiores a las establecidas en este estudio (32, 33).

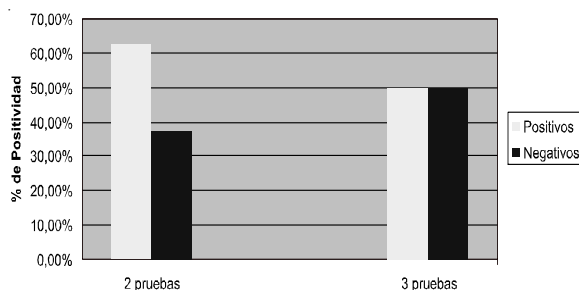


Figura 2. Frecuencia de positividad de bacterias tipo *Helicobacter spp.*, obtenida en 2 pruebas y 3 pruebas positivas respectivamente.

La figura 2, muestra el grupo de animales positivos y concordantes en dos o más pruebas diagnósticas. El 62.5% de las muestras, resultaron positivas en dos pruebas (test de ureasa y Whartin Starry), mientras que el 50% de las muestras resultaron positivas en tres pruebas (test de ureasa, Whartin Starry y Gram directo). Sin embargo, la concordancia de positividad de dos pruebas o más, fueron

consideradas como positivas para este estudio (12), por lo que se consideró como positivo a bacterias curvo-espiraladas tipo *Helicobacter spp.*, al 62.5% de las muestras por resultar positivas en dos o más pruebas diagnósticas.

El mayor porcentaje de muestras positivas a bacterias curvo-espiraladas tipo *Helicobacter spp.*, se obtuvo del fundus gástrico y un pequeño porcentaje del antro pilórico (Figura 3). En la región fúndica se presentaron altos porcentajes de muestras con cargas bacterianas leve y moderada y muy poco porcentaje de las muestras con carga bacteriana alta.

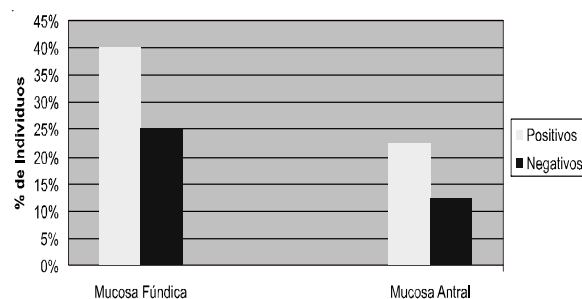


Figura 3. Frecuencia de presentación de bacterias tipo *Helicobacter spp.*, obtenida mediante test de ureasa, tinción de Whartin Starry y tinción de Gram directo.

Estos datos concuerdan con lo señalado por Belli et al (24) y por Valenzuela et al (15), quienes obtuvieron todas las muestras del fundus gástrico y ninguna a nivel de antro pilórico. Sin embargo, los datos encontrados en este estudio contrastan con los reportados en humanos y caninos, en los cuales la mayor frecuencia de presentación se dio a nivel de antro pilórico y menor a nivel de fúndus (17, 32-34). También contrasta con resultados encontrados en humanos, en los cuales la mayor frecuencia de presentación de bacterias tipo *Helicobacter spp.*, ha sido encontrada en la mucosa antral (18, 35). Este contraste, entre los datos encontrados en equinos y los encontrados en humanos y caninos, podría deberse a que en el caballo existe una condición fisiológica importante, como es el reflujo duodenogástrico, el cual aumentaría parcialmente el pH a nivel de antro pilórico por su carácter alcalino, cambiando las condiciones de sobrevivencia de la bacteria, por lo que éstas migrarían hacia

otros sitios de mayor acidez, como es el fundus gástrico (36, 37). Sin embargo, en la literatura consultada no se encontró referencias sobre la frecuencia de presentación de *Helicobacter spp.*, en equinos.

La figura 3, muestra la frecuencia de distribución de bacterias tipo *Helicobacter spp.*, en los diferentes segmentos de la mucosa gástrica. Todas las muestras fueron tomadas desde úlceras presentes en la mucosa glandular.

De las muestras tomadas en la región fúndica (Figura 4), el 40% fueron positivas en dos o tres pruebas y 25%, resultaron negativas, mientras que de las muestras tomadas en la región antral (Figura 5), el 22.5% fueron positivas en dos o más pruebas (Figuras 6 y 7) y sólo el 12.5% resultaron negativas.



Figura 4. Úlceras gástricas grado 4 en la mucosa fúndica (□) (Caballo N° 502-06-E), con carga bacteriana moderada (++) y gastritis crónica activa.

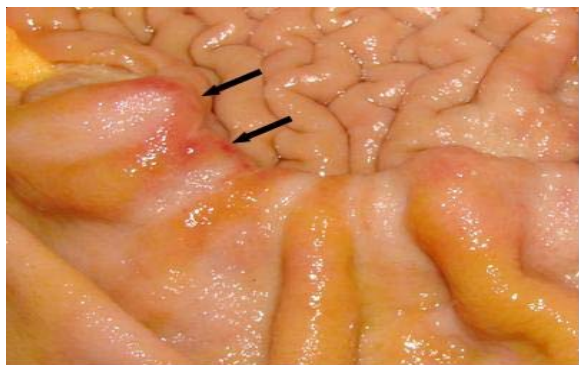


Figura 5. Úlceras gástricas grado 2 en la región antral (□) (Caballo N° 500-06-E), con carga bacteriana moderada (++) y gastritis crónica.



Figura 6. Test de ureasa positivos. Obsérvese el cambio de color del medio, de amarillo (-) a rosa fucsia (+).

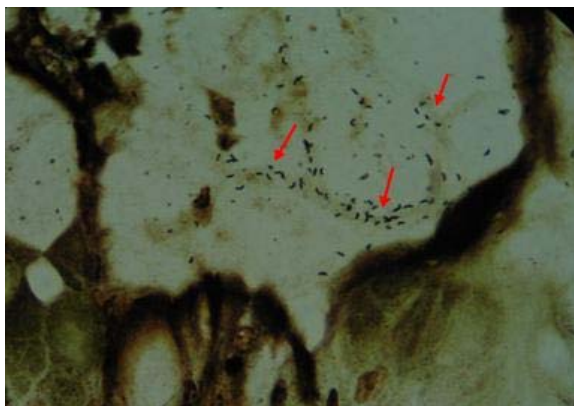


Figura 7. Mucosa gástrica (Caballo N° 430-06-E). Obsérvese gran cantidad de bacterias curvo espiraladas compatibles con bacterias tipo *Helicobacter spp.*, (□) (Whartin Starry). 40X.

La alta frecuencia de presentación de *Helicobacter spp.*, obtenida en la mucosa gástrica de los caballos en este estudio, pudo deberse al tipo de caballos utilizados y las condiciones medioambientales en la que se desenvolvían estos animales, ya que lo más probable es que ellos hayan tenido contacto con fuentes de basura o con otros animales, facilitando de esta manera la transmisión de la bacteria (23, 38). También se ha reportado una mayor presentación de *Helicobacter pylori* en la población humana en desarrollo, en los estratos sociales mas bajos, en niños y adultos de bajos recursos económicos, aludiendo ésta mayor presentación a las condiciones socioeconómicas y a las condiciones higiénicas desfavorables en la que viven

estas personas, teniendo de esta manera, un mayor contacto con el microorganismo (26, 39). De igual forma se han encontrado altas frecuencias de presentación en estudios realizados en perros callejeros o pertenecientes a estratos socioculturales en vía de desarrollo (40).

En conclusión, se hallaron bacterias con morfología compatible con *Helicobacter spp.*, presentes en úlceras gástricas de caballos.

Agradecimientos

Al Instituto de Patología Animal, al Instituto de Ciencias Clínicas de la Facultad de Ciencias Veterinarias, al instituto de Microbiología Clínica de la Facultad de Medicina de la Universidad Austral de Chile, por su aporte económico y logístico en el procesamiento de las muestras. A la Escuela de Graduados de la Facultad de Ciencias Veterinarias por permitir y apoyar la realización de este estudio.

REFERENCIAS

1. Hernández C, Naranjo R, Acevedo M, Aranzazu D. Carcinoma gástrico de células en anillo de sello en un perro: reporte de un caso. Rev Col Cienc Pec 2004; 17: 175 – 181.
2. Gómez L, Orozco S, Salas S. *Helicobacteriosis* canina y felina. Vet Mex 2006; 37: 97 – 116.
3. Green E, Sprouse R, Jones B, Barthel J. Is *Helicobacter pylori* (*Campylobacter pylori*) associated with gastritis/ulcer disease in asymptomatic foals?. Arq Inst Biol 2003; 70: 17-20.
4. MacClure S, Carithers D, Gross S, Murray M. Gastric ulcers development in horses in a simulated show or training environment. J Amer Vet Med Assoc 2005; 227: 775 – 777.
5. Ettinger S. Textbook of veterinary internal medicine. 5rd. Saunders. Philadelphia, USA. 2000.
6. Solnick J, Schauer D. Emergence of diverse *Helicobacter* species in the pathogenesis of gastric and enterohepatic diseases. Clin Microbiol Rev 2001; 14: 59 – 97.
7. Majalca C, Rivera J, Ocho S, Giono S. Transporte, aislamiento, identificación y conservación de cepas de *Helicobacter pylori*. Bioquímica 2001; 26: 85 – 89.
8. Chan W, Hui P, Leung K, Chow J, Kwok F. Coccoid forms of *Helicobacter pylori* in the human stomach. Clin Microbiol Infect Dis 1994; 102: 503 – 507.
9. Paredes E, Cubillos V. Manual de necropsia en animales domésticos y envío de muestras a laboratorio. Instituto de Patología Animal. Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad Austral de Chile. 1995.
10. Reed S, W Bayly. Equine internal medicine. Philadelphia, USA: Saunders; 1998.
11. Luna L. Manual of histologic methods of the armed forces institut of pathology. 3th ed. McGraw-Hill, New York, USA. 1968.
12. López-Brea M, Alarcón T, Baquero M, Domingo D, Royo G. Diagnóstico de la infección por *Helicobacter pylori*. En: Cercenado E, Cantón R. Procedimientos en Microbiología Clínica. Recomendaciones de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. 2004; 17: 1 – 10.
13. Camargo P, Alfieri A, Bracarense A, Menoli R, Spinosa S, Hagiwara M. Use of polymerase chain reaction and enzymatic cleavage in the identification of *Helicobacter spp.* In gastric mucosa of human beings from north Paraná. Brazil. Mem Inst Oswaldo Cruz 2003; 98: 265 – 268.

14. Cerda C. Efecto de la quinacrina en el tracto reproductivo de la perra. Tesis M. V. Universidad Austral de Chile, Facultad de Ciencias Veterinarias. Valdivia, Chile. 2002.
15. Valenzuela O, Luzio A, Muñoz L, Urrutia P, García A. Detección de organismos espiroidales gástricos en estómago de potrillos clínicamente sanos. Avances en Ciencias Veterinarias 2004; 19: 40-45.
16. Rabuffo T, Orsini J, Sullivan E, Engilles L, Norman T, Boston R. Associations between age or sex and prevalence of gastric ulceration in standardbred racehorses in training. J Am Vet Med Assoc 2002; 221: 1156 - 1159.
17. Chillihua K, Palomino R, Aguilar E. Aislamiento de *Helicobacter pylori* a partir de biopsias gástricas de pacientes con gastritis en el hospital regional del Cusco, Perú. Situa 2005; 13: 15-19.
18. González-Carbajal M, Sevilla L, Grá L. Alteraciones histológicas de la mucosa gástrica y prevalencia del *Helicobacter pylori* en pacientes dispépticos. Rev Panam Infectol 2005; 7: 8-15.
19. Baba A, Catoi C, Prica A, Baba C, Fartan S. *Helicobacter* spp infection and gastritis in dog. Revista Romana de Medicina Veterinaria 1999; 9: 281-288.
20. Rodríguez F, García M, Delgado J, Sainz A. Estudio de prevalencia de *Helicobacter* spp. en 70 perros mediante test de ureasa. Clin Vet de Peq Anim 2003; 2: 101 - 106.
21. Paz V. Determinación de la presencia de *Helicobacter* spp. en caninos de Valdivia, a través de biopsia gástrica obtenida por endoscopia, identificadas por histopatología y test de ureasa rápida. Memoria de titulación, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Austral de Chile, Valdivia. Chile. 2002.
22. Ward J, Fox J, Anver M, Haines D, George C, Collins M, et al. Chronic active hepatitis and associated liver tumors in mice caused by a persistent bacterial infection with a novel *Helicobacter* species. J Natl Cancer Inst 1999; 86: 1222-1227.
23. Happonen I. Canine and feline gastric *Helicobacters*: diagnosis and significance in chronic gastritis. Thesis, M.V., University of Helsinki. Finland. Faculty of Veterinary Medicine. Helsinki, Finland. 1999.
24. Belli C, Fernandes W, Silva L. Teste de urease em eqüino adulto com úlcera gástrica - *Helicobacter* spp.?. Arq Inst Biol 2003; 70: 17 - 20.
25. Goldie J, Jalali S, Hunt R, Van Zanten S, Hollinsworth J, Silletti C, Richardson H. Study of media and pH requeriments for the growth of *Campylobacter pylori*. Gastroenterology 1998; 94: 150.
26. Forné M. Diagnóstico de la infección por *Helicobacter pylori* y tratamiento de la infección en pacientes con úlcera duodenal. Tesis doctoral. Facultad de Medicina. Universidad Autónoma de Barcelona, España. 2001.
27. Simpson K. *Helicobacter* spp. In dogs and cats. En: The North American Veterinary Conference Proceeding. Orlando, USA. 1997; 218 - 219.
28. Marshall D, Dundon W, Beesley S, Smyth C. *Helicobacter pylori* a Conundrum of Genetic Diversity. Microbiol 1998.144, 2925-2939.
29. Yamasaki K. Suematsu H, Takahasi T. Comparison of gastric lesions in dogs and cats with and without gastric spiral organisms. J Am Vet Assoc 1998; 212: 529 - 533.
30. Hermanns W, Kregel K, Breuer W, Lechner J. *Helicobacter*-like organisms: histopathological examination of gastric biopsies from dogs and cats. J Comp Path 1995; 112: 307 - 318.

31. Cattoli G, Van Vugt R, Zanoni R, Sanguinetti V, Chiocchetti R, Gualtieri M, Vandenbroucke-Grauls C, Gastar W, Kusters J. Occurrence and characterization of gastric *Helicobacter* spp. In naturally infected dog. Vet Microbiol 1999; 70: 239 – 250.
32. Araya J, Villaseca M, Roa I, Roa J. *Helicobacter pylori* y gastritis crónica: relación entre infección y actividad inflamatoria en población de alto riesgo de cáncer gástrico. Rev Méd Chile 2000; 128: 259 – 265.
33. Bravo L, Cortés A, Carrascal E, Jaramillo R, Stella García L, Bravo P, Badel A, Bravo P. *Helicobacter pylori*: patología y prevalencia en biopsias gástricas en Colombia. Colomb Med 2003; 34: 124-131
34. JungHo A, Hunwood, N Jeonghee H, Doo K, An J, Nam H, Han J, Kim D. The detection of *Helicobacter*-Like organisms in dogs. Korean Journal of Veterinary Clinical Medicine 1999; 16: 281-288.
35. Castro M, Sánchez D, García E, Galán M, Rodríguez C. Diagnosis of *Helicobacter pylori* infection using urease rapid test in patients with bleeding duodenal ulcer: influence of endoscopic signs and simultaneous corporal and antral biopsies. Rev Esp Enferm Dig 2004; 96: 599 – 605.
36. Murray M. Gastroduodenal ulceration in foals. Equine Vet J 1999; 11: 199–207.
37. Murray M. Gastroduodenal ulceration en foals. In: 8th congress on equine medicine and surgery. Int Vet Info Serv Ithaca, New York, USA. 2003.
38. Eaton K, Cover T, Tummuru M, Blaser M, Krakowka S. Role of Vacuolating Cytotoxin in Gastritis Due to *Helicobacter pylori* in Gnotobiotic Piglets. Infec Imm 1997; 65: 3462-3464.
39. Hernández C. Vásquez C. Hallazgos endoscópicos e histológicos en 93 procedimientos de esofagogastroduodenoscopia. Rev Col Cienc Pec 2003; 16: 60.
40. Parsonnet J. The incidence of *Helicobacter pylori* infection. Aliment Pharmacol Ther 1995; 9 (2): 45 – 52.