

DIAGNÓSTICO E AVALIAÇÃO DAS ALTERAÇÕES GÁSTRICAS CAUSADAS PELO *HELICOBACTER* SPP. EM CÃES NATURALMENTE INFECTADOS

Caique Augusto Ribeiro Gomes¹; Thiago Pires Anacleto²; Luan Gavião Prado³; Rodolfo Malagó⁴

¹ Estudante de graduação em Medicina Veterinária pela Fundação de Ensino e Pesquisa de Itajubá – FEPI; caique3f@hotmail.com, ² Professor, Mestre, do Curso de Medicina Veterinária da Fundação de Ensino e Pesquisa de Itajubá – FEPI; tpanacleto@gmail.com, ³ Professor, Mestre, do Curso de Medicina Veterinária da Fundação de Ensino e Pesquisa de Itajubá – FEPI; luangprado@gmail.com, ⁴ Professor, Mestre, do Curso de Medicina Veterinária da Fundação de Ensino e Pesquisa de Itajubá – FEPI; rmalago@hotmail.com

RESUMO

As bactérias do gênero *Helicobacter* spp. vêm sendo estudadas na medicina humana há anos, porém na medicina veterinária, com objetivo de descrever com precisão os mecanismos de transmissão e fisiopatogenia dessas bactérias, as pesquisas tiveram início recentemente. Após a comprovação da relação deste gênero com a gênese da gastrite, úlcera e câncer gástrico nas espécies humana e animal, fica expressa a sua importância na área médica. O objetivo deste trabalho foi avaliar as alterações gástricas epiteliais e de pH causadas pelas helicobactérias, comparando os resultados obtidos de cães infectados e posteriormente tratados. Foram utilizados cinco cães sem raça definida (SRD), dois machos e três fêmeas, com idade entre cinco e doze anos, clinicamente saudáveis. Para diagnóstico o teste rápido da urease e a citologia foram realizados. Foi coletado suco gástrico pré e pós tratamento para pHmetria e comparação dos valores, sendo que todas as amostras foram coletadas via endoscopia digestiva alta. Após confirmação da infecção, os animais foram tratados com terapia triplíce a base de amoxicilina, claritromicina e lansoprazol. Sete dias após o término da terapia os animais foram submetidos a novo procedimento endoscópico para avaliação da condição clínica do animal, se houve ou não erradicação da bactéria e comparação dos resultados obtidos entre um estômago colonizado pelo *Helicobacter* spp. e posteriormente livre de infecção. Os métodos diagnósticos utilizados demonstraram a presença das bactérias em todos os animais avaliados. A capacidade da bactéria em alterar o pH gástrico foi confirmada e o tratamento foi totalmente eficaz em todos os cães, fazendo com que o ambiente gástrico retorne-se ao normal após o término da terapia.

Palavras-chave: gastrite, câncer gástrico, helicobactérias, pH gástrico, endoscopia.

INTRODUÇÃO

O gênero *Helicobacter* spp. é composto por bactérias microaerófilas, espiraladas, de superfície lisa, medindo aproximadamente 0,1 µm a 0,5 µm de largura por 3 µm de comprimento. Possuem extremidades arredondadas acompanhadas de flagelos unipolares ou bipolares (LADEIRA *et al*, 2003).

Em animais de companhia o *Helicobacter* spp. tem sido frequentemente descrito, com prevalência variando entre 67 a 86% em cães clinicamente saudáveis e 61 a 100% em animais apresentando vômito crônico (POLANCO *et al*, 2011).

Em cães as helicobactérias gástricas se localizam no muco, na superfície do epitélio gástrico, no fundo das criptas e no interior das glândulas, sendo encontradas com maior frequência no fundo e no corpo do estômago. (ANACLETO *et al*, 2011).

Enzimas produzidas por estas bactérias conferem proteção física e possibilitam sua sobrevivência no ambiente

gástrico, onde poucos microrganismos conseguem se estabelecer devido a alta acidez presente. A enzima urease produzida pelo *Helicobacter* spp. possui a capacidade de biotransformar a uréia presente no suco gástrico em amônia, molécula com potencial alcalinizante que estabelece uma camada protetora ao redor da bactéria, protegendo-a da ação do ácido ali presente. (LADEIRA *et al*, 2003).

Acredita-se que as formas oral-oral e fecal-oral são as principais formas de transmissão da bactéria. Segundo Anacleto *et al* (2011), ambientes aglomerados associado ao contato íntimo com animais infectados é fator determinante na transmissão do *Helicobacter* spp. em cães.

Segundo Guerra (2013), até o presente momento, não existe um único teste considerado padrão ouro para o diagnóstico da infecção pelo *Helicobacter* spp. sendo portanto recomendada a associação de mais de um método diagnóstico. Os métodos disponíveis para o diagnóstico da infecção pelo *Helicobacter* spp. são subdivididos em

invasivos e não invasivos, os métodos não invasivos têm o intuito de detectar indiretamente a presença de helicobactérias por meio da sorologia e em humanos do teste respiratório com uréia marcada com isótopos de carbono. Os métodos invasivos requerem a realização de endoscopia digestiva alta para a coleta de fragmentos de mucosa gástrica que são empregados em diversos métodos, como a histopatologia, o teste rápido da urease, a citologia e a reação em cadeia da polimerase (PCR) (POURAKBARI *et al*, 2013).

Em humanos o esquema terapêutico utilizado na erradicação do *Helicobacter pylori* consiste em terapia triplíce que inclui um inibidor de secreção ácida combinado com dois antibióticos (COELHO *et al*, 2004).

Ao contrário do que acontece com a infecção no ser humano, o significado da infecção pelo *Helicobacter* spp. em cães ainda não está bem esclarecido, visto que as mesmas têm sido estudadas em cães e gatos clinicamente saudáveis, bem como naqueles com sintomas gastrintestinais (COSTA *et al*, 2012).

Segundo Vieira (2012), o verdadeiro papel da infecção gástrica pelas helicobactérias 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.

O presente trabalho teve como objetivo avaliar as alterações gástricas epiteliais e de pH causadas pelo *Helicobacter* spp. em cães naturalmente infectados.

MATERIAL E MÉTODOS

Esta pesquisa experimental recebeu aprovação prévia do Comitê de Ética em Pesquisa da Fundação de Ensino e Pesquisa de Itajubá – FEPI, sob protocolo nº 003/2015. Neste estudo foram utilizados cinco cães (*Canis familiaris*), SRD, dois machos e três fêmeas, com idade entre cinco e doze anos, pesando entre 18 e 30 Kg, clinicamente saudáveis, provindos do canil do Hospital Escola de Medicina Veterinária da FEPI, tendo o resultado do teste rápido da urease e da citologia positivos para *Helicobacter* spp. como critério de inclusão no experimento.

Os animais foram submetidos a jejum hídrico e alimentar por 12 horas e posteriormente a exame de endoscopia digestiva alta sob anestesia geral, com coleta de amostras obedecendo a seguinte ordem: suco gástrico, escovado de mucosa gástrica e biópsia. O instrumental consistiu em escova de citologia endoscópica e pinça de biópsia tipo fórceps reutilizáveis, e seringa descartável de 60ml. Tanto a coleta de biópsia quanto o escovado gástrico foram realizados na região

do corpo do estômago. Local de maior prevalência do *Helicobacter* spp. (ANACLETO *et al*, 2011).

O suco gástrico foi coletado pelo canal do endoscópio, através de aspiração com auxílio de seringa descartável de 60ml, o conteúdo foi imediatamente colocado em coletor universal e posteriormente em tubo de ensaio para pHmetria realizada em pHmetro de bancada no qual o eletrodo foi imerso na amostra. O aparelho foi calibrado antes de cada medição.

Após escovação da mucosa do corpo do estômago a escova foi friccionada em lâminas de vidro, as quais eram encaminhadas ao laboratório para coloração pelo método de Romanowsky modificado (Panótico rápido) e observação em microscopia óptica.

As biópsias coletadas foram colocadas em microtubo tipo eppendorf contendo solução padrão para o teste rápido da urease (Fig. 1).

O tratamento dos animais consistiu em terapia triplíce a base de amoxicilina 30 mg/Kg, claritromicina 5 mg/Kg e lansoprazol 1 mg/Kg, manipulados em cápsulas, sendo administrados duas vezes ao dia durante sete dias.

Sete dias após o término do tratamento os animais foram submetidos novamente a jejum hídrico e alimentar por 12 horas e a novo exame de endoscopia digestiva alta sob anestesia geral com coleta de biópsia e escovado gástrico, para diagnóstico e confirmação da erradicação da bactéria, e coleta de suco gástrico para pHmetria e comparação com os valores obtidos na primeira amostra.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O teste rápido da urease (Fig. 1) apresentou variação no tempo de viragem de cor, sendo este proporcional a densidade de bactérias presente na amostra, expressando que quanto maior a quantidade de bactérias na região gástrica pesquisada, menor o tempo de viragem de cor. Não houve nenhum resultado falso positivo ou falso negativo nas amostras pesquisadas, verificados através da correlação com a visualização da bactéria no exame citológico que apresenta alta sensibilidade e especificidade. Estes resultados demonstram concordância com os obtidos por Costa *et al* (2012).



Figura 1 – Teste rápido da urease com resultado positivo apresentando coloração rósea e negativo apresentando coloração amarela. Fonte: Autores.

A coloração da citologia pelo panótico rápido demonstrou excelentes resultados para a visualização das bactérias em microscopia óptica. Foram observadas bactérias espiraladas com morfologias variáveis (Fig. 2), sendo que todas se apresentaram morfologicamente diferentes ao *Helicobacter pylori* (MARSHALL e WARREN, 1984), o que está de acordo com a descrição feita por Neiger e Simpson (2000), que citam que a infecção natural pelo *Helicobacter pylori* em cães ainda não foi relatada.

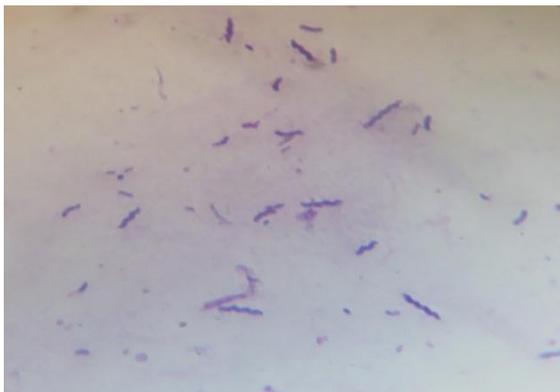


Figura 2 – Fotomicroscopia de citologia de escovado gástrico, demonstrando bactérias com morfologia em espiral evidente; Panótico rápido, 1000x. Fonte: Autores.

Amorim *et al* (2015), realizaram um estudo com 69 cães, no qual a helicobactéria mais frequentemente encontrada foi o *Helicobacter heilmannii*, sendo esta a mais patogênica para os cães. Neste estudo a maioria das helicobactérias observadas ao exame de citologia (Fig. 3) apresentaram morfologia sugestiva de *Helicobacter heilmannii* (SOUZA, 2004).



Figura 3 – Fotomicroscopia de citologia de escovado gástrico, demonstrando bactérias longilíneas com morfologia em espiral evidente; Panótico rápido, 1000x. Fonte: Autores.

Neste estudo os métodos diagnósticos teste rápido da urease e citologia apresentaram resultados iguais, sendo que todos os animais avaliados foram positivos em ambos os métodos no início do experimento e 100% dos animais foram negativos tanto no teste rápido da urease quanto na citologia (Fig. 4) após o tratamento dos animais ao término do experimento.

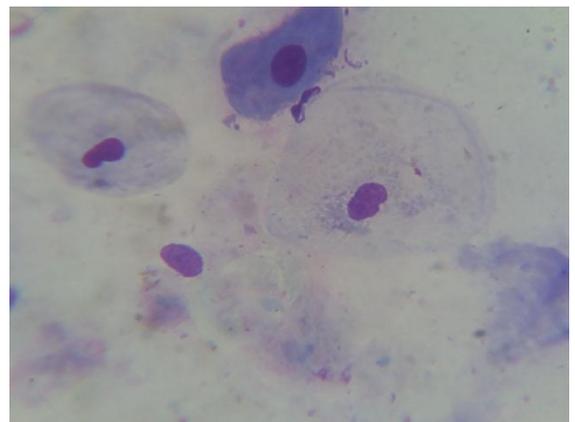


Figura 4 – Fotomicroscopia de citologia de escovado gástrico, demonstrando ausência de bactérias e resultado negativo para *Helicobacter* spp.; Panótico rápido, 1000x. Fonte: Autores.

Foi identificada uma significativa alteração no pH gástrico dos cães (Tab. I) quando na presença das bactérias.

Tabela I – Comparação dos valores de pH obtidos na primeira e segunda coleta.

<i>Helicobacter</i> spp.	Potencial hidrogeniônico (pH)				
	Cão I	Cão II	Cão III	Cão IV	Cão V
POSITIVO (1ª Coleta)	5.8 ^A	3.9 ^A	4.6 ^A	5.1 ^A	5.9 ^A
NEGATIVO (2ª Coleta)	2.2 ^B	2.6 ^B	2.1 ^B	2.1 ^B	2.2 ^B

Valores seguidos de letra maiúscula diferem entre si, pelo teste T (P < 0,001)

Os resultados obtidos neste estudo em relação a prevalência das helicobactérias em cães clinicamente saudáveis está de acordo com a literatura consultada (MOUTINHO *et al*, 2007). Nenhum dos animais apresentou

sintomatologia gastrointestinal antes ou durante o experimento, e não foram visualizadas alterações macroscópicas na mucosa gástrica dos cães estudados.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a Fundação de Ensino e Pesquisa de Itajubá/ FEPI, pela Bolsa de Iniciação Científica Concedida ao primeiro autor.

CONCLUSÕES

No presente trabalho todos os cães avaliados apresentaram resultado positivo para *Helicobacter* spp. mesmo em estado clinicamente saudável. A região do corpo do estômago demonstrou alta densidade de bactérias em todos os cães positivos.

As helicobactérias possuem a capacidade de alterar o pH gástrico dos cães, contribuindo ainda mais para a gênese de afecções gástricas.

O tratamento com terapia tripla a base de amoxicilina, claritromicina e lansoprazol é eficaz na erradicação do *Helicobacter* spp. em cães.

REFERÊNCIAS

AMORIM, I; SMET, A; ALVES, O; TEIXEIRA, S; SARAIVA, L. A; TAULESCU, M; REIS, C; HAESBROUCK, F; GÄRTNER, F. **Presence and significance of Helicobacter spp. in the gastric mucosa of Portuguese dogs.** Gut Pathogens, 2015; 7:12.

ANACLETO, T. P; LOPES, L. R; ANDREOLLO, N. A; BERNIS, W. O; RESCK, M. C. C; MACEDO, A. **Estudos da distribuição e recorrência do Helicobacter spp. na mucosa gástrica de cães após terapia tripla.** Acta Cir. Bras. - Vol. 26 (2) 2011.

COELHO, L. G. V; MATTOS, A. A; FRANCISCONI, C. F. M; CASTRO, L. P; SURIAIA, A. B. **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.

COSTA, M. C; COSTA, P. R. S; SILVA, J. C. P; MAIA, N. E. R; MOREIRA, L. C. J. **Deteção de Helicobacter spp. em amostras de mucosa gástrica de cães assintomáticos e alterações histológicas**

associadas. Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci., São Paulo, v. 49, n. 4, p. 285-292, 2012.

GUERRA, P. R; TRINDADE, A. B; DIAS, V; CARDOSO, M. R. I. **Espécies do gênero Helicobacter de importância em medicina veterinária: revisão de literatura.** Veterinária em Foco. Canoas. v.10, n.2, p.229-243; jan./jun, 2013.

LADEIRA, M. S. P; SALVADOR, D. M. F. ; RODRIGUES, M. A. M. **Biopatologia do Helicobacter pylori.** Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial. 2003; 39 (4):335-342.

MARSHALL, B. J; WARREN, J. R; **Unidentified curved bacilli in the stomach of patients with gastritis and peptic ulceration.** Lancet 1984; 1:1311-1315.

MOUTINHO, F. Q; THOMASSIAN, A; WATANABE, M. J; SUZANO, S. M. C; SEQUEIRA, J. L. **Prevalência de helicobactérias e alterações na mucosa gástrica de cães saudáveis.** Arq. Bras. Med. Vet. Zootec., v.59, n.4, p.1080-1083, 2007.

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

POLANCO, R; SALAZAR, V; REYES, N; GARCÍA-AMADO, M. A; MICHELANGI, F. **High prevalence of dna from non-H. pylori helicobacters in the gastric mucosa of venezuelan pet dogs and its histological alterations.** Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo. 2011; 53:207-12.

POURAKBARI, B; GHAZ, M; MAHMOUDIL, S; MAMISHIL, S; HOSSEIN, A; MEHRI, N; BAHRAM, K; SALAVATI, A; MIRSALEHIAN, A. **Diagnosis of Helicobacter pylori infection by invasive and noninvasive tests.** Brazilian Journal of Microbiology 44, 3, 795-798; 2013.

SOUZA, M. L; KOBAYASI, S; RODRIGUES, M. A. M; SAAD-HOSSNE, R; NARESSE, E. L. **Prevalência de Helicobacter em cães oriundos do biotério central da Universidade Estadual de São Paulo (UNESP)-Botucatu.** Acta Cir. Bras. 2004;19(5).

VIEIRA, T. F; SILVA, J. C. P; VILORIA, M. I. V;
VIEIRA, T. M; PEREIRA, C. E. R. **Frequência
e distribuição de *Helicobacter* spp. na
mucosa gástrica de cães.** Rev. Ceres,
Viçosa, v. 59, n.1, p. 25-31, jan/fev, 2012.