

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS
DEPARTAMENTO DE MEDICINA VETERINARIA



**Determinación de la presencia de anticuerpos séricos y
antígenos fecales de *Helicobacter pylori* en caninos (*Canis
lupus familiaris*).**

POR:

BR. JUAN ANTONIO DUARTE GIRÓN

BR. OSCAR ERNESTO URBINA

**REQUISITO PARA OPTAR AL TÍTULO DE
LICENCIADO EN MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA**

CIUDAD UNIVERSITARIA, SEPTIEMBRE DE 2018

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR

RECTOR

LIC. M. Sc. ROGER ARMANDO ARIAS ALVARADO.

SECRETARIO GENERAL

LIC. CRISTÓBAL HERNÁN RÍOS BENÍTEZ

FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS

DECANO

Ing. Agr. M. Sc. JUAN ROSA QUINTANILLA QUINTANILLA

SECRETARIO

Ing. Agr. M. Sc. LUIS FERNANDO CASTANEDA ROMERO

JEFA DEL DEPARTAMENTO DE MEDICINA VETERINARIA

F. _____
MVZ. ROSY FRANCIS ALVARENGA ARTIGA.

DOCENTES DIRECTORES

F. _____
M.V.Z. CLAUDIA GERALDINA CARDOZA HERNÁNDEZ.

F. _____
M.V.Z. ADRIÁN RICARDO ABARCA PRIETO.

F. _____
MVZ. ROSY FRANCIS ALVARENGA ARTIGA

COORDINADORA GENERAL DE PROCESOS DE GRADUACIÓN

F. _____
MVZ. M. Sc. MARÍA JOSÉ VARGAS ARTIGA.

RESUMEN

La investigación se realizó en el Departamento de San Salvador en 4 clínicas veterinarias en el período de febrero a julio del 2016 con el objetivo de determinar la presencia de la bacteria *Helicobacter pylori* en caninos, mediante la determinación de la de anticuerpos séricos y antígenos fecales con pruebas inmunocromatográficas específicas. Se procesaron 71 muestras de heces y 71 muestras de suero de caninos como unidades experimentales en las instalaciones del laboratorio clínico citológico ubicado en ciudad Merliot.

Se realizaron encuestas previas a la toma de muestra a cada uno de los propietarios de los caninos en estudio, donde se recopiló información sobre los pacientes como edad, raza, sexo, tipo de alimentación de cada uno de ellos. El muestreo fue probabilístico estratificado por afijación proporcional.

Del total de caninos muestreados en la clínica veterinaria A 12% resultó positivo (3/25) en anticuerpos séricos y 0 % en antígenos fecales, de la clínica veterinaria B 5% resultó positivo (1/22) de las muestras en anticuerpos séricos y 0 % en antígenos fecales, de la clínica veterinaria C 17% resultó positivo (2/12) de las muestras para anticuerpos séricos y 0 % para antígenos fecales, de la clínica veterinaria D no se obtuvieron resultados positivos a anticuerpos séricos (0/12) ni a antígenos fecales.

Se obtuvo un porcentaje de prevalencia de anticuerpos séricos de *Helicobacter pylori* en cuatro clínicas del Departamento de San Salvador del 8.5 %.

No se encontró relación entre el tipo de alimentación, fuente de agua de bebida, edad, sexo y raza de los caninos en estudio con la presencia de anticuerpos séricos de *Helicobacter pylori* debido a que la cantidad de resultados positivos son muy pocos para establecer una relación.

El resultado negativo de las pruebas a antígenos fecales CerTest para *H. pylori* nos indican la ausencia de enfermedad aguda en los caninos en estudio al momento de la toma de las muestras.

Palabras claves: *Helicobacter pylori*, caninos, anticuerpos séricos, antígenos fecales, Clínica veterinarias en San Salvador.

SUMMARY

The research was conducted in the Department of San Salvador in 4 veterinary clinics from February to July 2016, to determine the presence of *Helicobacter pylori* bacteria in canines by determination of serum antibodies and fecal antigens with tests Immunochromatography. 71 stool specimens and 71 canine serum samples were processed as experimental units at the premises of the clinical cytological laboratory located in Merliot city.

Pre-sample surveys were carried out to each of the owners of the canines under study, where information was collected on the patients as age, breed, sex, type of feeding of each one of them. The sampling was probabilistic stratified by proportional affixation.

Of the total of canines sampled in the veterinary clinic A 12% were positive (3/25) in serum antibodies and 0% in fecal antigens; from the veterinary clinic B 5% was positive (1/22) of the samples in serum antibodies and 0% in fecal antigens, from the veterinary clinic C 17% was positive (2/12) of the samples for serum antibodies and 0% for fecal antigens, from the veterinary clinic D no positive results were obtained for serum antibodies (0/12) or fecal antigens.

A prevalence percentage of serum antibodies of *Helicobacter pylori* was obtained in four clinics of the Department of San Salvador of 8.5%.

No relationship was found between the type of feeding, source of drinking water, age, gender and breed of the dogs under study with the presence of serum antibodies of *Helicobacter pylori* because the amount of positive results are too few to establish a relationship .

The negative result of the CerTest fecal antigen tests for *H. pylori* indicates the absence of acute disease in the canines under study at the moment of taking the samples.

Key words: *Helicobacter pylori*, dogs, serum antibodies, fecal antigens, veterinary clinic in San Salvador.

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar agradezco a Dios por permitirme terminar mi carrera a pesar de todas las dificultades que se han presentado.

A la Universidad de El Salvador y todos los docentes que han participado en mi preparación académica, por su paciencia y dedicación.

A mi jefe Dr. Giacomo Zappalá y todos los compañeros de trabajo de Veterinaria La Mascota que dieron la oportunidad de trabajar y al mismo tiempo poder seguir mis estudios.

A toda mi familia que han estado siempre apoyándome en toda la carrera, en especial a mi madre que siempre me ha servido de inspiración ante todas las dificultades que se me han presentado.

A los asesores directores M.V.Z. Rosy Francis Alvarenga, M.V.Z. Claudia Geraldina Cardoza Hernández y M.V.Z. Adrián Ricardo Abarca Prieto, por su valioso apoyo, tiempo, paciencia y dedicación.

De último le agradezco a una de las personas más importante en mi vida, Lucia Escobar Mayorga que me ha dado la fuerza para seguir en momentos de flaqueza, ha sido la motivación más importante para terminar mi carrera, gracias por toda su dedicación, amor y comprensión que siempre me ha demostrado.

En resumen a todas las personas que han participado directa e indirectamente a todas las personas que me ayudaron a terminar este proyecto ¡muchas gracias!

Juan Antonio Duarte

AGRADECIMIENTOS

A Dios todo poderoso porque cuando creí que todo estaba perdido me dió el coraje para continuar.

A todos los docentes de la Universidad de El Salvador que aportaron en mi desarrollo académico.

A todos mis amigos, compañeros.

A mi pequeña y amada familia.

A mis asesores MVZ. Rosy Francis Alvarenga, MVZ. Claudia Cardoza, MVZ. Adrián Abarca.

Oscar Ernesto Urbina

DEDICATORIA

Dedico este trabajo a todas las personas importantes en mi vida

A mi madre Blanca Inés Girón de Duarte, a mi padre e inspiración Juan Antonio Duarte, que a pesar de que en este momento de enfermedad no podrá estar a la par mía le dedico todos mis esfuerzos y sacrificios que he tenido para culminar mi carrera.

A mis hermanas, primos y toda la familia que siempre han estado pendientes de mí.

A mi novia y mejor amiga Lucia Escobar que ha dado el apoyo, la fuerza y motivo necesario para seguir adelante

Dedico esta investigación a cada uno de ustedes con mucho amor y cariño.

Juan Antonio Duarte

DEDICATORIA

Con especial amor se la dedico a:

Todas las personas que aportaron de una u otra manera a la realización de ésta investigación.

A mi mamá por la ayuda que me brindo y en momentos complicados supimos llevarlo de la mejor manera.

A mí tan amada hija.

Oscar Ernesto Urbina

INDICE

Contenido

1. INTRODUCCIÓN.....	1
2. REVISION BIBLIOGRÁFICA	3
2.1. Historia.....	3
2.2. Antecedentes.....	4
2.3. Género <i>Helicobacter</i>	6
2.4. Patogenia	7
2.5. Factores de Patogenicidad	7
2.5.1. Producción de enzimas	7
2.5.2. Producción de citotoxinas.....	7
2.5.3. Gen asociado a la citotoxina Cag A (cytotoxin associated gen)	8
2.5.4. Gen inductor de contacto con el epitelio Ice A (induced by contact with epithelium).....	8
2.5.5. Antígeno adherido al grupo sanguíneo Bab A (Blood antigen binding)	8
2.5.6. Flagelos.....	8
2.6. Vías de transmisión	8
2.7. Métodos de diagnóstico.....	9
3. MATERIALES Y METODOS.....	9
3.1. Metodología de campo.....	10
3.1.1. Criterios de inclusión.....	10
3.1.2. Criterios de exclusión.....	10
3.1.3. Recolección de muestras.....	11
3.2. Metodología de Laboratorio	11
3.2.1. Determinación de antígenos fecales. Fundamento del test (CerTest <i>H. pylori</i>)	11
3.2.2. Determinación de anticuerpos séricos. Fundamento del test (Instant View <i>H. pylori</i>)	13
3.3. Metodología Estadística.....	14
3.3.1. Prueba de Fisher.....	15
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	15
4.1. Determinación de anticuerpos séricos (Instant View <i>H. pylori</i>).....	15
4.1.1. Prevalencia de anticuerpos séricos de <i>Helicobacter pylori</i> en 4 clínicas veterinarias en el Departamento de San Salvador.....	16

4.1.2.	Prevalencia de anticuerpos séricos de <i>Helicobacter pylori</i> en clínica veterinaria A.....	16
4.1.3.	Prevalencia de anticuerpos séricos de <i>Helicobacter pylori</i> en clínica veterinaria B.....	17
4.1.4.	Prevalencia de anticuerpos séricos de <i>Helicobacter pylori</i> en clínica veterinaria C.....	17
4.1.5.	Prevalencia de anticuerpos séricos de <i>Helicobacter pylori</i> en clínica veterinaria D.....	17
4.2.	Determinación de anticuerpos séricos (Instant View <i>H. pylori</i>).....	17
4.3.	Resultado de Prueba de Fisher para variables.	18
4.3.1.	Lugar de Muestreo - Anticuerpos séricos tabulación cruzada (Figura A-17)	18
4.3.2.	Fuente de alimentación - Anticuerpos séricos tabulación cruzada (Figura A-18)	19
4.3.3.	Fuente de Agua Anticuerpos séricos tabulación cruzada (Figura A-19).....	19
4.3.4.	Sexo-Anticuerpos séricos tabulación cruzada (Figura A-20).....	19
4.3.5.	Edad-Anticuerpos séricos tabulación cruzada (Figura A-21).....	20
4.3.6.	Talla-Prueba Anticuerpos séricos tabulación cruzada (Figura A-22).....	20
4.4.	Discusión de resultados.....	20
5.	CONCLUSIONES	22
6.	RECOMENDACIONES.....	23
7.	BIBLIOGRAFIA.....	24
8.	ANEXOS.....	27

INDICE DE CUADROS

Cuadro 1 Cálculo de tamaño de muestra por medio del método de afijación proporcional....	14
--	----

INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Distribución de la prevalencia de anticuerpos séricos de <i>Helicobacter pylori</i> en cada una de las clínicas veterinarias en estudio.....	16
Figura 2. Distribución de resultados de prueba de antígenos fecales de <i>Helicobacter pylori</i> en clínicas veterinarias.	18

INDICE DE CUADROS EN ANEXO

Cuadro A- 1 Cuadro de anamnesis.....	39
Cuadro A- 2 Resultados de pruebas inmunocromatograficas para detección de anticuerpos séricos y antígenos fecales de <i>Helicobacter pylori</i> en clínica veterinaria La Mascota	40
Cuadro A- 3 Resultados de pruebas inmunocromatográficas para detección de anticuerpos sericos y antígenos fecales de <i>Helicobacter pylori</i> en clínica veterinaria Los Heroes	41
Cuadro A- 4 Resultados de pruebas inmunocromatograficas para detección de anticuerpos séricos y antígenos fecales de <i>Helicobacter pylori</i> en clínica veterinaria Narices Frías.....	42
Cuadro A- 5 Resultados de pruebas inmunocromatograficas para detección de anticuerpos séricos y antígenos fecales de <i>Helicobacter pylori</i> en clínica veterinaria UES	43

INDICE DE FIGURAS EN ANEXOS

Figura A - 1 <i>Helicobacter pylori</i>	27
Figura A - 2 Ulcera duodenal <i>por Helicobacter pylori</i>	28
Figura A - 3 Factor de Patogenicidad, producción de enzimas	28
Figura A - 4 Distribución Geográfica de Clínicas Veterinarias a muestrear.....	29
Figura A - 5 Toma de muestra vena cefalica	30
Figura A - 6 Sujeción y toma de muestra de pacientes.....	30
Figura A - 7 Kit Certest <i>H. pylori</i>	31
Figura A - 8 Kit One-step <i>H. pylori</i> serum card test	31
Figura A - 9 Procedimiento utilizando el Blister Test como Strip test (CerTest BIOTIC)	32
Figura A - 10 Prueba Certest Biotic.....	32
Figura A - 11 Interpretación de resultados test One-Step <i>H. pylori</i> (Teco Diagnostics. s.f.)...	33
Figura A - 12 Prueba one-step <i>H. pylori</i> serum card test.....	33
Figura A - 13 Interpretación de resultados One-Step <i>H. pylori</i> Serum Card Test.....	34
Figura A - 14 Resultado positivo anticuerpos séricos <i>H. pylori</i>	34
Figura A - 15 Resultado positivo anticuerpos séricos <i>H. pylori</i>	34
Figura A - 16 Resultado negativo anticuerpos séricos <i>H. pylori</i>	35
Figura A - 17 Relación entre lugar de muestreo y presencia de anticuerpos séricos <i>H. pylori</i>	35
Figura A - 18 Relación entre tipo de alimentación y presencia de anticuerpos séricos <i>H. pylori</i>	36
Figura A - 19 Relación entre fuente de agua y presencia de anticuerpos séricos <i>H. pylori</i>	36
Figura A - 20 Relación entre sexo de mascota y presencia de anticuerpos séricos <i>H. pylori</i>	37
Figura A - 21 Relación entre edad y presencia de anticuerpos séricos <i>H. pylori</i>	37
Figura A - 22 Relación entre talla de la mascota y presencia de anticuerpos séricos <i>H. pylori</i>	38

1. INTRODUCCIÓN

Helicobacter pylori es una bacteria Gram-negativa patógena del tracto gastrointestinal en humanos y animales domésticos. Es el principal agente etiológico de la gastritis crónica superficial, además de ser un importante cofactor en la etiología de la úlcera péptica, también se le asocia con la patogenia del cáncer gástrico y del linfoma gástrico tipo MALT en humanos. En la actualidad es ampliamente reconocido en todo el mundo, la existencia de bacterias pertenecientes al género *Helicobacter* en la mucosa gástrica de perros y gatos considerándolos como microorganismos comunes en el tracto gastrointestinal (Cervantes 2006).

En la clínica veterinaria las enfermedades gastrointestinales son uno de los problemas de salud más comunes en los caninos y felinos. De hecho, los veterinarios citan a los desórdenes gastrointestinales como uno de los problemas médicos más frecuente en la práctica clínica llegando a abarcar un 40% de los casos clínicos, de los cuales hay un porcentaje en el que no se llega a descubrir la etiología exacta y se maneja como un cuadro de gastritis crónica debido a causas diversas haciendo incurrir a los propietarios en gastos repetitivos para tratamientos inadecuados.¹

En medicina humana *Helicobacter pylori* es considerado un patógeno de interés global estimando que más de la mitad de la población mundial está infectada por este microorganismo. La prevalencia es menor en países desarrollados (20-40%) y mayor en países en desarrollo (70-90%), siendo la distribución en este último grupo de países del 50% en niños menores de cinco años y 90% en población adulta. De acuerdo a datos de la Organización Mundial de Gastroenterología, la prevalencia de la infección en adultos en Europa Occidental y Oriental es del 40% y 70% respectivamente, siendo en Suecia 11%, Suiza 26.6%, Albania 70.7% y Turquía 80%. En América su prevalencia en adultos en Estados Unidos y Canadá es 30%, Brasil 82%, Chile 72%, México 70-90% y Guatemala 65% (González, R et al. 2012). Desde su descubrimiento en la década de los ochenta se han realizados diversos estudios para lograr entender el desarrollo de la enfermedad en humanos, por lo contrario, hay pocos estudios a nivel de medicina veterinaria por lo que no

¹ Giacomo Zappalá. 2014. Médico Veterinario en Clínica Veterinaria La Mascota.

se tiene claro el rol que tiene la bacteria *Helicobacter pylori* en el desarrollo de enfermedades gastrointestinales en mascotas.

En el año de 2003 se realizó un estudio en España para determinar prevalencia de *Helicobacter spp.* mediante del test de ureasa de biopsias de tejido gástrico tomado por endoscopia en 70 caninos dando como resultado una prevalencia del 64.3 %, el mismo año en Chile se realiza estudio para determinar la presencia de bacterias tipo *Helicobacter spp.* en caninos por medio de examen histopatológico de diversos tejidos, llegando a la conclusión que las bacterias tipo *Helicobacter spp.* son habitantes comunes del aparato digestivo de los caninos. En el año 1999 se realizó un modelo convencional de la infección aguda y crónica con *Helicobacter pylori* en perros beagles en el cual se demostró que la bacteria *Helicobacter pylori* es capaz de producir sintomatología aguda de forma experimental, también se observó que la sintomatología producida es similar a la que cursa la enfermedad en humanos pero con la diferencia que en caninos los signos clínicos desaparecen y es incapaz de producir enfermedad crónica incluso sin tratamiento (Rossi 1999). En el año del 2016 en el departamento de enfermedades Internas con Clínica de Caballos, Perros y Gatos de la Facultad de Medicina Veterinaria, Universidad de Wrocław de Ciencias Ambientales y de la Vida de Polonia se realizó un estudio para determinar la prevalencia e identificar las especies de *Helicobacter* gástrico en las heces de los perros con gastritis. El estudio se llevó a cabo en treinta perros de diferentes razas, de ambos sexos y de diversas edades, diagnosticados con gastritis. Se identificaron bacterias *Helicobacter* en muestras de heces de siete perros (23,3%). Se encontró que *Helicobacter heilmannii* es la especie más común de *Helicobacter*. *Helicobacter salomonis* se identificó con mucha menos frecuencia, mientras que *Helicobacter felis*, *Helicobacter pylori* y *Helicobacter bizzozeronii* no se detectaron en ninguna de las muestras (Jankowski et al. 2016).

La razón por la que se decidió realizar el estudio es que en nuestro país debido a diversas causas como la falta de pruebas diagnósticas específicas para *Helicobacter pylori*, pruebas de diagnóstico con elevados costos, dificultad para poder aislar la bacteria y la falta de conocimiento de la dicha bacteria, no se han realizado estudios formales que comprueben la presencia o ausencia en mascotas así como su relación con presencia de signos clínicos que denoten enfermedad gástrica y mucho menos que puedan indicar transmisión de dichos microorganismos a los humanos, de ahí la importancia de comprobar o descartar dicha bacteria en caninos, así como determinar métodos de diagnóstico en el área de medicina veterinaria.

2. REVISION BIBLIOGRÁFICA

2.1. Historia.

Los primeros relatos de la presencia de bacterias grandes y espiraladas en el estómago de animales (caninos, felinos, ratas) datan del final del siglo XIX y en seres humanos aparentemente fue descrito por primera vez por Krenits en 1906. Por su semejanza morfológica con *Campilobacter spp.*, y dada su fuerte presencia en el píloro de los humanos, estas bacterias fueron inicialmente llamadas como *Campilobacter pyloridis* y posteriormente *Campilobacter pylori* (Camargo 2008).

En 1979, El Dr. Robin Warren, patólogo australiano de Perth, empezó a notificar una bacteria curvada a menudo presente en biopsias gástricas sometidas a exámenes histológicos. Este organismo no estaba presente en el epitelio gástrico, pero sí en la capa mucosa que recubre el tejido. Warren descubrió que la mayoría de microorganismos similares encontrados y descritos en Europa en el siglo XIX habían sido ignorados por imposibilidad de aislamiento (Cava y Cobas 2003). En 1981 el Dr. Barry Marshal, observó que la erradicación de dichas bacterias con el uso de tetraciclina resultó en la cura de un paciente con gastritis. Esta primera relación entre la infección y enfermedad gástrica resultó en otros ensayos clínicos relacionando la erradicación de las bacterias con la cura de la gastritis y de la úlcera gástrica, y en una verdadera revolución en los conceptos importantes de la gastroenterología (Camargo 2008).

El Dr. Barry Marshall se interesó en las observaciones del Dr. Warren y juntos aislaron los microorganismos procedentes de esas biopsias utilizando métodos empleados con *Campylobacter*. El cultivo inicial de 30 pacientes fue negativo porque las *Campilobacter* crecían a 48 h y a los tres días tiraban las placas, hasta que por fortuna casual, una incubación se realizó durante cinco días y entonces se observaron colonias. Para la supervivencia de la bacteria era necesario un gradiente de pH desde el ácido lumen gástrico al pH neutro de los contornos mucosos. La bacteria crece en contacto íntimo con el epitelio, presumiblemente cerca del final neutro de este gradiente, protegido por el entorno mucoso (Cava y Cobas 2003).

2.2. Antecedentes.

Dentro de los antecedentes uno de los aportes más importantes en la epidemiología de esta infección han sido los estudios realizados sobre análisis de secuencia genética, que sugieren que los seres humanos habrían estado infectados por el *Helicobacter pylori* desde la época en la que el humano migró de África, hace alrededor de 58,000 años (Ramírez Ramos y Sánchez 2009).

En el año 2003 en el Departamento de Medicina y Cirugía Animal de la Facultad de Veterinaria de Madrid se realizó un estudio de prevalencia de *Helicobacter spp.*, mediante el test de ureasa en biopsias gástricas tomadas por endoscopia, dando como resultado una prevalencia del 64.3 %, y no se encontró diferencias estadísticamente significativas entre animales sin enfermedad digestiva y animales con enfermedad digestiva (Rodríguez-Franco et al. 2003).

En el año 2011 el Dr. Ramón Tormo, realizó la prueba de la urea en aire espirado a 17 caninos que convivían con pacientes positivos a *Helicobacter pylori* resultando que 16 caninos también se encontraban afectados y pudieron comprobar que estos animales no sólo pueden ser portadores, sino que además pueden actuar como reservorios del *Helicobacter pylori* o formas bacterianas semejantes (Jano.es 2011).

En el año de 1999 se realizó un modelo convencional de la infección aguda y crónica con *Helicobacter pylori* en perros beagles. Se inoculó tres veces a tres perros con una cepa virulenta de *Helicobacter pylori* y luego se siguió de cerca la aparición de signos y las lesiones histopatológicas con el tiempo. Durante la primera semana presentaron heces blandas, una condición que ocurrió con menos frecuencia en la segunda semana. Además, durante la primera semana postinfección los perros tuvieron episodios de vómito espumoso y mucoso, estos síntomas desaparecieron espontáneamente sin tratamiento específico, y no se observaron otros síntomas. Los tres perros permanecieron alerta y comieron normalmente durante todo el estudio. Los mismos síntomas aparecieron en dos de los tres perros infectados en el segundo experimento y desaparecieron de nuevo espontáneamente. Los perros de control no infectados no mostraron vómito ni diarrea (Rossi y Fortuna 1999).

En el año 2003 en la ciudad de Valdivia, Chile se realizó un estudio para determinar la presencia de bacterias tipo *Helicobacter spp.*, en caninos a través de examen histopatológico

de mucosa gástrica, intestinos, hígado y vesícula biliar. Los resultados de este estudio indicaron la presencia de las bacterias tipo *Helicobacter spp.* en todos los caninos estudiados, con un 100% de presentación en las muestras provenientes de intestino grueso (ciego, colon y recto), 94.1% en estómago, 73.5% en duodeno, 70.6% en yeyuno y 88.2% en íleon. Los porcentajes menores, se obtuvieron de las muestras analizadas de hígado (64.7%) y vesícula biliar (58.8%). Los resultados obtenidos permiten concluir, que las bacterias tipo *Helicobacter spp.* son habitantes comunes del aparato digestivo, hígado y vesícula biliar de los perros de Valdivia (Jara 2003).

En 2007 en el Instituto de Ciencias Clínicas Veterinarias en el área de Patología Animal, Instituto de Medicina Preventiva Veterinaria de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Austral de Chile se realizó un estudio para determinar la Presencia de *Helicobacter spp.*, en caninos, mediante biopsia gástrica obtenida por endoscopia. La bacteria fue encontrada en caninos de todas las edades de ambos sexos por lo tanto se concluyó que *Helicobacter spp.*, es una bacteria habitante común del estómago de los perros de las distintas edades y sexos estudiados, la cual no produce alteraciones evidentes en la apariencia endoscópica del estómago (Thibaut et al. 2007).

En el año 2013 una investigación realizada por la Escuela de Medicina Veterinaria en Costa Rica de la Universidad Nacional (Medvet-UNA) científicos costarricenses e investigadores guatemaltecos, elaboraron el estudio: "Genómica comparativa de la virulencia de *Helicobacter spp.* en aislamientos a partir de seres humanos y caninos en países con alto y bajo riesgo de cáncer gástrico en Centroamérica". El estudio determinó que la prevalencia de *Helicobacter spp.* en 80 caninos analizados fue de 95%; sin embargo, no se detectó el *H. pylori* en los caninos. "La histología reveló que 55 caninos presentaban algún grado de gastritis, predominante de tipo linfocítica plasmocítica (DICYT 2013).

En el año del 2016 en Polonia se realizó un estudio para determinar la prevalencia e identificar las especies de *Helicobacter* gástrico en las heces de los perros con gastritis. El estudio se llevó a cabo en treinta perros de diferentes razas, de ambos sexos y de diversas edades, diagnosticados con gastritis. Se identificaron bacterias *Helicobacter* en muestras de heces de siete perros (23,3%). Se encontró que *Helicobacter heilmannii* es la especie más común de *Helicobacter*. *Helicobacter salomonis* se identificó con mucha menos frecuencia,

mientras que *Helicobacter felis*, *Helicobacter pylori* y *Helicobacter bizzozeronii* no se detectaron en ninguna de las muestras (Jankowski et al. 2016).

2.3. Género *Helicobacter*.

El género *Helicobacter* forma parte de la clase Epsilonbacteria en la subdivisión Thiobacteria de la división *Proteobacteria* (Cavalier-Smith 2002). *Helicobacter pylori* es un bacilo gramnegativo, curvado y microaerofílico que se encuentra en la mucosa gástrica del estómago humano. El *Helicobacter pylori* tiene una morfología espiral en forma de sacacorchos cuando se encuentra en la mucosa gástrica y menos espiral cuando crece en medios artificiales, esta forma se puede perder en los cultivos más viejos o sometidos a situaciones no favorables para su crecimiento adoptando forma cocoide. Presenta un tamaño de 0,5 a 1,0 micras de ancho y de 3 micras de largo (figura A-1). Tiene de 2 a 6 flagelos monopolares, fundamentales para su movilidad, y que están recubiertos por una vaina de estructura lipídica, igual que la membrana externa, que parece tener la misión de proteger a los flagelos de su degradación del medio ácido (Amieva citado por Pena 2010). Su temperatura óptima de crecimiento se produce a 37 °C, aunque puede desarrollarse en un rango de 35 a 39 °C en microaerofilia, y para su cultivo se requieren medios suplementados con suero o sangre entre el 5% y 10%, los cuales pueden actuar como fuentes adicionales de nutrientes y la protegen de efectos tóxicos de los ácidos grasos de cadena larga. El efecto de estos ácidos grasos también puede ser evitado por la adición de suplementos como β -ciclodextrinas, IsoVitaleX o por la adición de carbón activado en el medio de cultivo. Las especies de *Helicobacter* son quimioorganotrofas y tienen un metabolismo respiratorio. Son asacarolíticas (no hay fermentación ni oxidación de azúcares) aunque si ocurre la oxidación de glucosa. Tienen, al menos parcialmente, las vías metabólicas Entner-Doudoroff, de pentosas fosfato, y el ciclo de ácidos tricarboxílicos, pero la vía del glioxilato está ausente. No hidrolizan gelatina, almidón, caseína o tirosina, son rojo de metilo y Voges-Proskauer negativos. La actividad de oxidasa, ureasa y catalasa está presente en *Helicobacter pylori*, enzimas muy útiles para su identificación. Aunque *Helicobacter pylori* es muy homogéneo en cuanto a sus características bioquímicas, presenta una importantísima variabilidad antigénica. Esto es debido a que existen muchos genes que codifican proteínas de membrana y además entre ellas pueden darse distintos procesos de recombinación (Pena 2010).

2.4. Patogenia

La función del *Helicobacter pylori* en la patogenia de la enfermedad gástrica en caninos no ha sido demostrada, debido a la falta de signos clínicos obvios en caninos infectados, a diferencia de lo que ocurre en los humanos infectados con *Helicobacter pylori*, en quienes existe fuerte evidencia de su implicación en la gastritis crónica, úlceras y neoplasias gástricas (Figura A-2). Aún falta por dilucidar parte de la patogenia, para lo cual los científicos deberán adoptar a varias especies animales como modelos para estudiar la interacción del portador, respuesta inmune y el proceso de enfermedad que genera esta bacteria (Gómez et. al. 2006).

2.5. Factores de Patogenicidad

2.5.1. Producción de enzimas

Ureasa.

Es un potente estimulante de activación para fagocitos mononucleares y la producción de citoquinas inflamatorias (Figura A-3). In vitro, su actividad es tóxica para células del epitelio gástrico. Funciona como colonizador (factores de mantenimiento) y factor de virulencia (Torres et al 2008).

2.5.2. Producción de citotoxinas

Estas inducen vacuolas ácidas en el citoplasma de células eucariotas. Casi simultáneamente, cuatro grupos dieron con el clonaje y secuencia de vac A (3.9 Kb) que codifica a una citotoxina vacuolante. El gen vac A codifica a una proteína de 134KD, protoxina que contiene una secuencia leader de 33 aminoácidos y un fragmento carboxilo terminal de 50 KD que presenta homología con el carboxilo terminal del precursor de la proteasa de IgA de *Neisseria gonorrhoeae*, y que parece estar implicado en la translocación de la proteasa a la membrana externa. Por analogía, el carboxilo terminal de la protoxina de *H. pylori* puede jugar un papel en la secreción de la citotoxina. Mutantes en vac A no expresan la citotoxina y pierden la actividad vacuolante) (Torres et al 2008).

2.5.3. Gen asociado a la citotoxina Cag A (cytotoxin associated gen)

Este es una proteína de uno de los genes del islote patogénico Cag A, se ha demostrado experimentalmente que facilita la adherencia a la mucosa gástrica e inicia la respuesta inflamatoria por que induce la secreción de interleucina (IL-8). Esta adherencia induce apoptosis al tener contacto con las células epiteliales (Morales et al. 2010).

2.5.4. Gen inductor de contacto con el epitelio Ice A (induced by contact with epithelium)

Es un producto genético desconocido aunque parece proceder de una restricción bacteriana enzimática que es inducida por contacto con el epitelio gástrico. Dos subtipos han sido reconocidos: Ice A1, que lo han relacionado con la ulcera duodenal en el 50% de pacientes, y el Ice A2, solo ha sido comprobado en el 4% (Morales et al. 2010).

2.5.5. Antígeno adherido al grupo sanguíneo Bab A (Blood antigen binding)

Consiste en una proteína de membrana externa del *Helicobacter pylori* que favorece la adherencia al antígeno sanguíneo Lewis sobre las células del epitelio gástrico (Morales et al. 2010).

2.5.6. Flagelos

La gran movilidad de estas bacterias es fundamental para colonizar la mucosa gástrica, según se ha deducido de la infección experimental de animales con variantes de *H. pylori* aflageladas y por tanto no móviles. Además, la morfología espiral o helicoidal facilita la movilidad en la viscosidad del moco gástrico, y la bacteria produce una proteasa que digiere el moco facilitando su avance (Pena 2010).

2.6. Vías de transmisión

Los mecanismos de transmisión son poco comprendidos. Los *Helicobacter* gástricos presentan tropismo específico hacia el tejido entérico y solo colonizan el epitelio gástrico, no

el intestinal. Se ha sugerido la transmisión fecal-oral, y se aislaron *Helicobacter* gástricos de la materia fecal de animales y seres humanos.

2.7. Métodos de diagnóstico.

Los métodos diagnósticos para *Helicobacter spp* pueden ser invasivos y no invasivos. Los invasivos, como los cultivos, histopatologías, improntas, prueba de ureasa en biopsias, microscopía electrónica, PCR y citología por cepillo, requieren de biopsia gástrica, la cual se toma por endoscopia y bajo anestesia. Los métodos no invasivos como la serología, prueba de urea en aliento (UBT), detección de ADN bacteriano y antígenos en materia fecal, no requieren de biopsia gástrica ni anestesia, pero sus costos son elevados. El *Helicobacter pylori*, puede ser visualizados directamente mediante las técnicas de citología por cepillo, histopatología, microscopía electrónica y en muestras de cultivo. La presencia del organismo puede ser demostrada indirectamente mediante pruebas de ureasa, serología y por prueba de aliento con urea (UBT). Para estudios epidemiológicos en humanos se usan la serología, prueba de aliento con urea (UBT) y medición de antígeno en heces que dan seguimiento del tratamiento de *Helicobacter pylori*. El método usado es determinante para el hallazgo de la bacteria, el uso de más de un método diagnóstico incrementa la sensibilidad en la detección. En animales, el PCR, los métodos serológicos y la prueba de aliento con urea (UBT) no se usan rutinariamente hasta la fecha (Gómez et al. 2006).

3. MATERIALES Y METODOS

El estudio se realizó entre los meses de febrero al mes de julio 2016 en las instalaciones del laboratorio clínico citológico ubicado en ciudad Merliot. Se muestrearon 71 individuos al azar distribuidos en cuatro clínicas veterinarias las cuales son clínica veterinaria La Mascota (A) ubicada en calle y colonia La Mascota ubicada con coordenadas geográficas (latitud / longitud, grados y minutos): 13° 41' 50" N y 89° 13' 55" O, Veterinaria los Héroes (B) ubicada en boulevard Los Héroes 21 calle poniente 1212 con coordenadas geográficas (latitud / longitud, grados y minutos): 13° 42' 38" N y 89° 12' 25" O, Veterinaria Narices frías (C) ubicada en 75 av. Norte, Reparto Santa Leonor n° 3 con coordenadas geográficas (latitud / longitud, grados y minutos): 13° 43' 18" N y 89° 13' 44" O y clínica veterinaria UES (D) ubicada en Facultad de Ciencias Agronómicas con coordenadas geografías (latitud / longitud, grados y minutos): 13° 43' 07" N y 89° 12' 04" O, todas ubicadas en el Departamento de San Salvador (Figura A-4).

3.1. Metodología de campo.

El estudio se realizó entre los meses de febrero al mes de julio 2016 en las instalaciones del laboratorio clínico citológico ubicado en ciudad Merliot. Nuestras unidades experimentales fueron 71 caninos al azar sin predilección de edad, raza ni sexo, distribuidos en cuatro clínicas veterinarias en San Salvador designadas con las letras A, B, C y D. Se procedió a tomar datos de cada individuo, nombre, edad, sexo, raza, datos del propietario y se realizó una encuesta donde se recolecto información como tipo de alimentación, fuente de agua, historial de vacunación etc. (Cuadro A-1). Se procede a realizar examen físico completo y toma de constantes fisiológicas como temperatura, frecuencia cardiaca, frecuencia respiratoria, pulso, tiempo de llenado capilar etc. Posteriormente se procedió a tomar muestra de heces y muestra de sangre de cada uno de los caninos en estudio; de clínica veterinaria A se tomaron muestras de 25 pacientes, de clínica veterinaria B se tomaron muestras de 22 pacientes, de clínica veterinaria C se tomaron muestras de 12 pacientes, de clínica veterinaria D se tomaron muestras de 12 pacientes.

3.1.1. Criterios de inclusión.

Se incluyeron en el estudio:

- Perros cuyos dueños dieron consentimiento para tomar muestra de sangre y heces.
- Perros asintomáticos y sintomáticos.
- Participación de ambos sexo.
- Perros de todas las edades que asistieron a las 4 veterinarias en estudio.

3.1.2. Criterios de exclusión.

- Mascotas que no puedan dar la muestra de heces el mismo día de la muestra de sangre.
- Mascotas cuyos propietarios no den consentimiento para toma de muestra de sangre y de heces.

3.1.3. Recolección de muestras

Para la toma de muestra en la determinación del antígeno fecal se procedió a tomar la muestra de heces aproximadamente 125 mg directamente del ano de cada uno de los 71 caninos por medio de un guante de látex y se colocó en un frasco estéril proporcionado por el laboratorio. Cada muestra fue etiquetada con los datos del paciente, datos del propietario, día y hora de toma, nombre de clínica veterinaria donde se realizó la toma y nombre de persona que tomó la muestra. Las muestras fueron refrigeradas a una temperatura entre 2-8° C mientras se trasladaron al laboratorio clínico citológico para su análisis.

Para la toma de muestra para la determinación de anticuerpos específicos IgG en suero, se procedió a tomar la muestra de sangre de la vena cefálica preparando la zona de la punción, se rasuró el pelo en el lugar donde se tomará la sangre para lograr una correcta asepsia del lugar de punción, luego se limpió la zona de venipunción con alcohol etílico 90% para eliminar la contaminación macroscópica de la piel y del pelo; una vez preparada la zona, se procedió a tomar la muestra de sangre (2ml) a cada uno de los 71 caninos en tubos sin anticoagulantes, se etiquetó cada muestra con los datos del paciente, datos del propietario, día y hora de la toma de muestra, nombre de clínica veterinaria y persona que tomo la muestra. Las muestras fueron refrigeradas (2-4° C) mientras se trasladaron al laboratorio clínico citológico para su procesado y análisis (Figura A-5, A-6).

3.2. Metodología de Laboratorio

El método de diagnóstico que utilizaremos es el de detección de antígenos en heces mediante una prueba rápida inmunocromatográfica y un ensayo inmunocromatográfico para la determinación cualitativa de anticuerpos IgG específicos para *Helicobacter pylori* en suero (Figura A-7, A-8).

3.2.1. Determinación de antígenos fecales. Fundamento del test (CerTest *H. pylori*)

Para la preparación de la muestra se siguió las indicaciones sugeridas por el fabricante:

3.2.1.1. Preparación de la muestra

Abrir el tubo para dilución de muestra y con ayuda de un palillo se toma suficiente cantidad de muestra de las heces recogidas (aprox. 125 mg). Se introduce la muestra en el tubo para dilución. Cerrar el tubo que contiene la muestra y el diluyente, agitar para facilitar la dispersión de la muestra (Figura A- 9) (CerTest BIOTIC. s.f.).

3.2.1.2. Materiales a utilizar

- Blister Tests (Certest *H. pylori* test).
- Tubos de dilución de muestras con tapón de extracción.
- Recipiente para la recogida de la muestra de heces.
- Tubos de ensayo o viales.
- Guantes desechables.
- Cronómetro.

3.2.1.3. Procedimiento

Previamente los tests, las muestras de heces y los controles se mantienen a temperatura ambiente (15-30 ° C) en los casos que sea necesario. No abrir el envase hasta el momento de la prueba.

3.2.1.4. Utilizando el envase individual como test de Tarjeta o Cassette test:

1. Cada pocillo del blister contiene un test. Cortamos el blister para obtener cada test en un envase individual (cada test está envasado de manera independiente a los demás). Para abrir este envase se toma el extremo no sellado de la lámina superior y se hala de él hasta que se vea el test completamente. No sacarlo de su pocillo (identificar uno a uno los pocillos del blister según la muestra de heces utilizada) (CerTest BIOTIC. s.f.).
2. Agitar el tubo de dilución de la muestra para asegurar una buena dispersión. Cortar la punta del tapón (CerTest BIOTIC. s.f.).

3. Colocar cada envase individual con el test sobre una superficie horizontal. Añadimos 5 gotas o 150 μ L de la muestra diluida en la zona blanca del extremo del test y leer el resultado a los 10 minutos (figura A-10) (CerTest BIOTIC. s.f.).

NEGATIVO: Una sola línea de color VERDE (línea de control) aparece en la parte central del test (zona de control) (Figura A-11).

POSITIVO: Además de la línea de control VERDE, también aparece una línea ROJO en la zona de resultado (línea de resultado).

3.2.2. Determinación de anticuerpos séricos. Fundamento del test (Instant View *H. pylori*)

3.2.2.1. Procedimiento de ensayo

1. Retirar el dispositivo de prueba de su bolsa de aluminio sellada rasgando a lo largo de un extremo. Colocar la placa en una superficie nivelada.
2. Con una pipeta, aplicar cuidadosamente cuatro (4) gotas (160 – 200 μ l) de la muestra directamente en el pocillo de muestra de la prueba dispositivo (Figura A-12).
3. Los positivos fuertes pueden ser observados en 2-3 minutos.
4. Leer los resultados de las pruebas a los diez (10) minutos (Figura A-13).

3.2.2.2. Interpretación de los resultados

Positivo: Dos bandas de color rosa-rosa aparecen - uno en la zona de control ("C") y uno en la zona de prueba ("T") (Figura A-14). La muestra se considerará positivo para la presencia de anticuerpos frente a *Helicobacter pylori* (Figura A-15).

Negativo: Una banda de color rosa-rosa aparece en la zona de control ("C"), sin aparecer una banda en la zona de prueba ("T"). La muestra debe ser considerado negativo para anticuerpos contra *Helicobacter pylori* (Figura A-16).

3.3. Metodología Estadística

El muestreo realizado fue probabilístico estratificado por afijación proporcional. Para el análisis de la información generada de la estadística descriptiva e inferencial utilizamos la prueba de fisher.

Para el cálculo del tamaño de la muestra utilizamos el promedio semanal de pacientes de cada clínica obteniendo una población de 485 caninos y mediante la fórmula de Cannon y Roe con una prevalencia esperada del 8 % obtuvimos el tamaño de muestra a utilizar el cual fue 71 caninos.

Por medio del método de afijación proporcional obtuvimos el tamaño de muestra para cada una de las clínicas en estudio (ver cuadro 1).

Cuadro 1. Calculo de tamaño de muestra por medio del método de afijación proporcional.

	Pacientes por semana	$n_1 = (P/P_1) n$	n_1
Clínica A	170	$(170/485)71$	25
Clínica B	150	$(150/485)71$	22
Clínica C	80	$(80/485)71$	12
Clínica D	85	$(85/485)71$	12
Total	485		$n = 71$

En el cuadro se muestra el cálculo de del tamaño de muestra en cada clínica veterinaria por medio del método de afijación proporcional.

Cálculo de tamaño de muestra según fórmula de precisión.

Dónde:

n_1 = Tamaño de muestra

P = Pacientes por semana en cada clínica

P_1 = Población total

n = Tamaño de la muestra

3.3.1. Prueba de Fisher.

Mediante la prueba de Fisher se analizaron los resultados positivos a anticuerpos séricos a *Helicobacter pylori* con las variables obtenidas en la encuesta realizada en la fase de campo para determinar si existe relación entre dichas variables y la presencia de anticuerpos séricos.

Las variables fueron las siguientes:

- Lugar de muestreo (clínica veterinaria)
- Fuente de alimentación.
- Fuente de agua.
- Sexo
- Edad

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

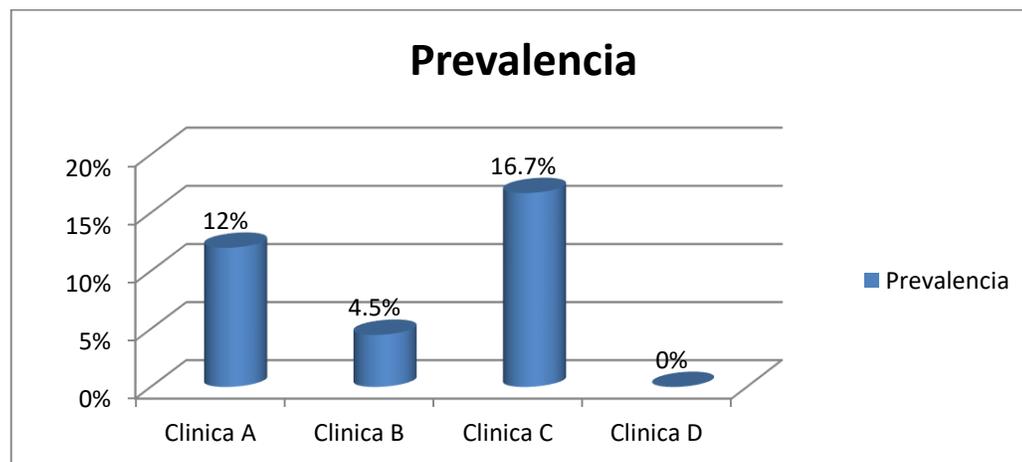
4.1. Determinación de anticuerpos séricos (Instant View *H. pylori*)

Del total de muestras obtenidas seis muestras resultaron positivas para anticuerpos séricos en las cuatro clínicas veterinarias. La distribución de los resultados positivos fueron de la siguiente manera, en la clínica veterinaria La mascota obtuvimos tres resultados positivos (4.23%) de la totalidad de las muestras y 22 negativos (30.99%) (Cuadro A-22), en la clínica veterinaria Los Héroes se obtuvo una muestra positiva (1.41%) y 21 negativos (29.58%) (Cuadro A-3), en la clínica veterinaria Narices Frías obtuvimos dos positivos (2.82 %) y diez negativos (14.08%) (Cuadro A-4) y en la Clínica Veterinaria UES obtuvimos 0 positivos y 12 negativos (16.90 %) (Cuadro A-5).

4.1.1. Prevalencia de anticuerpos séricos de *Helicobacter pylori* en 4 clínicas veterinarias en el Departamento de San Salvador

De los 71 caninos muestreados seis de ellos fueron positivos, el porcentaje de prevalencia de anticuerpos séricos de *Helicobacter pylori* en cuatro clínicas del Departamento de San Salvador es del 8.5 %.

Figura 1 Distribución de la prevalencia de anticuerpos séricos de *Helicobacter pylori* en cada una de las clínicas veterinarias en estudio.



4.1.2. Prevalencia de anticuerpos séricos de *Helicobacter pylori* en clínica veterinaria A.

De los 25 caninos muestreados en la clínica veterinaria A, tres de ellos fueron positivos, el porcentaje de prevalencia de anticuerpos séricos de *Helicobacter pylori* en la clínica A es de 12 %.

4.1.3. Prevalencia de anticuerpos séricos de *Helicobacter pylori* en clínica veterinaria B.

De los 22 caninos muestreados en la clínica veterinaria B uno de ellos fue positivo, el porcentaje de prevalencia de anticuerpos séricos de *Helicobacter pylori* en la clínica B es de 4.5 %.

4.1.4. Prevalencia de anticuerpos séricos de *Helicobacter pylori* en clínica veterinaria C.

De los 12 caninos muestreados en la clínica veterinaria C dos de ellos fueron positivos, el porcentaje de prevalencia de anticuerpos séricos de *Helicobacter pylori* en la clínica C es de 16.7 %.

4.1.5. Prevalencia de anticuerpos séricos de *Helicobacter pylori* en clínica veterinaria D.

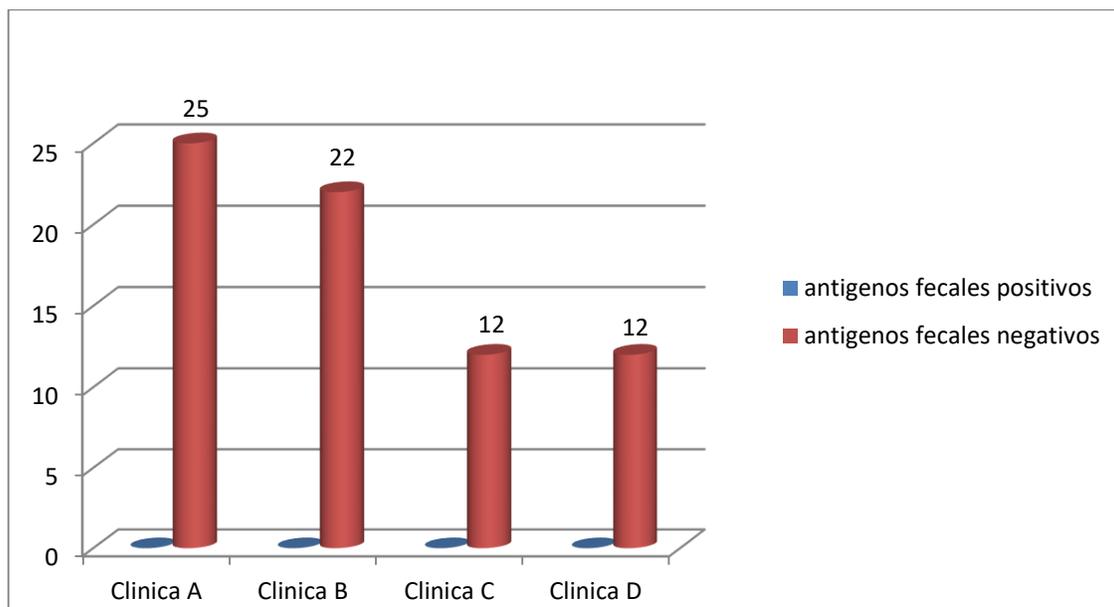
De los 12 caninos muestreados en la clínica veterinaria D ninguno de ellos fueron positivos, el porcentaje de prevalencia de anticuerpos séricos de *Helicobacter pylori* en la clínica D es de 0 %.

La clínica veterinaria con mayor prevalencia de anticuerpos séricos a *Helicobacter pylori* es la clínica C y la de menor prevalencia es la clínica veterinaria D, diferentes estudios en humanos han determinado que el riesgo a contraer la infección con *Helicobacter pylori* esta influenciado por diferentes factores como condiciones higiénicas y factores socioeconómicos (Cervantes 2006) los cuales no pueden descartarse que influyan de la misma manera en la adquisición de la bacteria en caninos.

4.2. Determinación de anticuerpos séricos (Instant View *H. pylori*)

No se obtuvo ningún resultado positivo para antígenos fecales para *Helicobacter pylori* en las 71 muestras de las 4 clínicas veterinarias en estudio.

Figura 2 Distribución de resultados de prueba de antígenos fecales de *Helicobacter pylori* en clínicas veterinarias.



En la clínica A se obtuvieron 25 resultados negativos y 0 resultados positivos a antígenos fecales de *Helicobacter pylori*, en la clínica B se obtuvieron 22 resultados negativos y 0 resultados positivos a antígenos fecales a *Helicobacter pylori*, en la clínica C se obtuvieron 12 resultados negativos y 0 resultados positivos a *Helicobacter pylori* y en la clínica D se obtuvieron 12 resultados negativos y 0 resultados positivos a *Helicobacter pylori*.

4.3. Resultado de Prueba de Fisher para variables.

4.3.1. Lugar de Muestreo - Anticuerpos séricos tabulación cruzada (Figura A-17)

La prueba exacta de Fisher presentó una probabilidad igual a 0.449, resultado mayor a la probabilidad establecida en la investigación que fue de 0.01 razón por la que se rechaza la hipótesis establecida en la investigación; por lo que se concluye estadísticamente que las variables son independientes, es decir que no existe relación entre el lugar de muestreo con la presencia de anticuerpos sanguíneos de *Helicobacter pylori* en perros.

4.3.2. Fuente de alimentación - Anticuerpos séricos tabulación cruzada (Figura A-18)

La prueba exacta de Fisher presentó una probabilidad igual a 0.574, resultado mayor a la probabilidad establecida en la investigación que fue de 0.01 razón por la que se rechaza la hipótesis establecida en la investigación; por lo que se concluye estadísticamente que las variables son independientes, es decir que no existe relación entre el tipo de alimentación de las mascotas con la presencia de anticuerpos sanguíneos de *Helicobacter pylori* en perros y a contrario de lo que se pudiera suponer que una alimentación con concentrado puede reducir el riesgo de contacto con la bacteria en comparación con una alimentación casera, los seis casos positivos a anticuerpos les proporcionaban alimentación comercial (concentrado).

4.3.3. Fuente de Agua Anticuerpos séricos tabulación cruzada (Figura A-19)

La prueba exacta de Fisher presentó una probabilidad igual a 1.000, resultado mayor a la probabilidad establecida en la investigación que fue de 0.01 razón por la que se rechaza la hipótesis establecida en la investigación; por lo que se concluye estadísticamente que las variables son independientes, es decir que no existe relación entre la fuente de agua que se le proporciona a las mascotas con la presencia de anticuerpos sanguíneos de *H. pylori* en perros y a contrario de lo que se pudiera suponer que una fuente de agua embotellada puede reducir el riesgo de contacto con la bacteria en comparación con una fuente de agua de chorro, de los seis casos positivos a anticuerpos solo una mascota ingiera agua de chorro las demás agua embotellada.

4.3.4. Sexo-Anticuerpos séricos tabulación cruzada (Figura A-20)

La prueba exacta de Fisher presentó una probabilidad igual a 0.674, resultado mayor a la probabilidad establecida en la investigación que fue de 0.01 razón por la que se rechaza la hipótesis establecida en la investigación; por lo que se concluye estadísticamente que las variables son independientes, es decir que no existe relación entre la raza de las mascotas con la presencia de anticuerpos sanguíneos de *Helicobacter pylori* en perros.

4.3.5. Edad-Anticuerpos séricos tabulación cruzada (Figura A-21)

La prueba exacta de Fisher presentó una probabilidad igual a 0.429, resultado mayor a la probabilidad establecida en la investigación que fue de 0.01 razón por la que se rechaza la hipótesis establecido en la investigación; por lo que se concluye estadísticamente que las variables son independientes, es decir que no existe relación entre la edad de las mascotas con la presencia de anticuerpos sanguíneos de *Helicobacter pylori* en perros.

4.3.6. Talla-Prueba Anticuerpos séricos tabulación cruzada (Figura A-22)

La prueba exacta de Fisher presentó una probabilidad igual a 0.711, resultado mayor a la probabilidad establecida en la investigación que fue de 0.01 razón por la que se rechaza la hipótesis establecido en la investigación; por lo que se concluye estadísticamente que las variables son independientes, es decir que no existe relación entre la talla de las mascotas (raza pequeña, raza mediana y raza grande) con la presencia de anticuerpos sanguíneos de *Helicobacter pylori* en perros.

Estos resultados nos indican que variables involucradas en el manejo de la mascota por parte del propietario como fuente de alimentación, fuente de agua y otras variables propias de cada individuo como raza, sexo, edad, talla no aumentan el riesgo a tener contacto con la bacteria *Helicobacter pylori*.

4.4. Discusión de resultados

Los resultados observados en este estudio se pueden comparar a diversos estudios realizados años anteriores en diferentes países del mundo, como por ejemplo el realizado en el año 2011 por el Dr. Ramón Tormo, donde se reportó que 16 mascotas caninas resultaron positivas a la prueba de urea en aire aspirado de 17 caninos que convivían con niños enfermos por *Helicobacter pylori* (Jano.es 2011), similar sucede en nuestro estudio ya que a pesar que no se incluyó en la encuesta se obtuvo información de forma informal que 2 de los propietarios de los caninos positivos fueron diagnosticados anteriormente con *Helicobacter pylori*. En el año 2013 en la Universidad de Guayaquil, Ecuador en la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, se llevó a cabo una investigación denominada: Incidencia de *Helicobacter pylori* en caninos del sector del Guasmo sur, a través del método de diagnóstico no invasivo DIALAB Rapid Test, donde se muestrearon 100 animales obteniendo una

prevalencia del 8%, porcentaje muy similar al obtenido en nuestro estudio el cual fue una prevalencia del 8.5 % (Aguirre, D. 2013). También se realizó un estudio con perros Beagle infectándolos experimentalmente de forma oral con una cepa de *Helicobacter pylori* adaptada al ratón y se monitorizaron hasta durante 24 semanas. La infección aguda causó vómitos y diarrea y la aparición de una respuesta de anticuerpos específicos contra *H. pylori* pero no fue capaz de producir enfermedad crónica como en el humano (Rossi y Fortuna 1999), comportamiento que también se ve reflejado en los resultados obtenidos en nuestro estudio ya que los anticuerpos séricos a *Helicobacter pylori* detectados en las muestras indican que el sistema inmune a reconocido la bacteria y ha producido respuesta inmune (anticuerpos IgG específicos) los cuales han quedado circulantes en el organismo, etapa que la podemos relacionar con la que cursaron los perros beagle con signos clínicos compatibles con la enfermedad en humanos, en cambio los resultados negativos a antígenos fecales obtenidos también se puede comparar con la capacidad que presentaron los perros beagle de controlar la enfermedad sin necesidad de administrar tratamiento en el estudio antes mencionado, lo que demuestra que el sistema inmune de los caninos es capaz de eliminar la bacteria *Helicobacter pylori* lo que explica por qué no se encontraron antígenos fecales al momento del muestreo pero si anticuerpos séricos. Esto se debe a que la barrera que participa ante la infección con *Helicobacter pylori* es la barrera innata la cual es la encargada de censar, responder y modular la respuesta ante la presencia de *Helicobacter pylori* por medio de receptores tipo Toll (TLR) y tipo NOD (NLR). Estos receptores reconocen polisacáridos (LPS) presentes en la bacteria *Helicobacter pylori* los cuales estimulan dichos receptores induciendo así mediadores proinflamatorios; sin embargo, los TLR de varias especies presentan diferencias en el reconocimiento del LPS. El TLR4 de ratones, cobayos y otros mamíferos, pero no de humanos reconoce LPS tetra y penta-acilados, lo cual explica por qué *Helicobacter pylori* causa infecciones crónicas en humanos, pero no en ratones y otros mamíferos como los caninos (Sánchez-Zauco, et al. 2010).

Con respecto a los resultados obtenidos de las pruebas de Fisher realizadas se demostró que estadísticamente no existe relación entre variables como tipo de alimentación, fuente de agua, presencia de síntomas clínicos compatibles con la enfermedad con la presencia de anticuerpos séricos, esto se debe a que los 71 caninos que se estudiaron en ninguno se detectó presencia de antígenos fecales de *Helicobacter pylori* lo que indica que al momento del estudio ninguno cursaba con la enfermedad y que los síntomas clínicos que cursaban algunos caninos era debido a otra causa.

5. CONCLUSIONES

- El resultado positivo de las pruebas a anticuerpos séricos Instant-View *Helicobacter pylori* nos indican que 6 de 71 caninos en estudio han sido expuestos a la bacteria *Helicobacter pylori* en algún momento de su vida siendo capaz su sistema inmune de producir respuesta inmune por lo que esta especie pudiera ser reservorio por un periodo no determinado de dicha bacteria.
- Mediante la prueba de Fisher se ha determinado que no existe relación entre el tipo de alimentación, fuente de agua de bebida, edad, sexo y raza de los caninos en estudio con la presencia de anticuerpos séricos de *Helicobacter pylori* debido a que la cantidad de resultados positivos son muy pocos para establecer una relación.
- El resultado negativo de las pruebas a antígenos fecales CerTest para *H. pylori* nos indican la ausencia de enfermedad aguda en los caninos en estudio al momento de la toma de las muestras.

6. RECOMENDACIONES

- Se recomienda realizar estudios más representativos aumentando la población a muestrear y delimitando la población a pacientes con sintomatología compatible a enfermedad.
- Implementar métodos de diagnósticos más específicos que permitan identificar las especies de *Helicobacter* que pueden estar presentes en pacientes caninos.
- Realizar una investigación en mascotas caninas cuyos propietarios estén diagnosticadas con *Helicobacter pylori*.
- Se recomienda que los propietarios de los pacientes positivos a anticuerpos séricos de *Helicobacter pylori* realizarse pruebas diagnósticas para determinar si son portadores de la bacteria.

7. BIBLIOGRAFIA

- Aguirre, D. 2013.** Incidencia de la bacteria *Helicobacter pylori* en caninos del sector del Guasmo sur. Requisito para a la Obtención del Título de Médico Veterinario y Zootecnista. (en línea). Consultado 20 de sept 2016. Disponible en <http://repositorio.ug.edu.ec/bitstream/redug/2391/1/AGUIRRE%20GARCIA%20DAVID.pdf>.
- Camargo, PL. 2008.** Gastropatías por *Helicobacter spp.* Congreso Iberoamericano de Fiavac (5°, 2008, Cartagena, CO). 2008. Universidad de Estadual de Londrina- Paraná- Brasil.
- Cava, F; Cobas, g. 2003.** Dos décadas de *Helicobacter pylori*. *VacciMonitor* Año 12 No. 1. (en línea). Consultado en set. 2015. Disponible en <http://scielo.sld.cu/pdf/vac/v12n1/vac01103.pdf>
- Cavalier-Smith T. 2002.** The neomuran origin of archaeobacteria, the negibacterial root of the universal tree and bacterial megaclassification. *Int J Syst Evol Microbiol*.
- CerTest BIOTIC. s.f.** Prueba de un solo paso para detección de *Helicobacter pylori* en formato cassette. (en línea). Consultado en 14 set. 2014. Disponible en <http://www.certest.es/es/products/helicobacter-pylori-2/>
- Cervantes, E. 2006.** *Helicobacter pylori* e infecciones asociadas. (en línea). Laboratorio de Epidemiología Molecular y Genómica Bacteriana, Facultad de Medicina, UNAM; *Rev Fac Med UNAM* Vol.49 No.4 Julio-Agosto, 2006 disponible en <http://www.medigraphic.com/pdfs/facmed/un-2006/un064i.pdf>
- DICYT (Agencia Iberoamericana para la difusión de la ciencia y la tecnología, CR). 2013.** Genómica comparativa de la virulencia de *Helicobacter spp* en aislamientos a partir de seres humanos y caninos en países con alto y bajo riesgo de cáncer gástrico en Centroamérica. (en línea). Heredia, CR. Consultado 15 en. 2014. Disponible en <http://www.dicyt.com/noticias/descartan-la-presencia-de-helicobacter-pylori-en-perros>

Gómez G, L; Orozco P, S; Salas S, S. 2006. Helicobacteriosis canina y felina. (en línea). Vet. Mex, 37 Consultado en 13 set. 2014. Disponible en <http://www.fmvz.unam.mx/fmvz/revvetmex/a2006/rvmv37n1/rvm37108.pdf>

González Rodríguez, JJ; Landaverde Carpio, AV. 2012. Tratamiento para Erradicación de *Helicobacter pylori* en una población salvadoreña: Terapia Secuencial vs Triple Terapia Convencional. Tesis Doctorado en Medicina. Universidad Dr. José Matías Delgado. El Salvador.

Jankowski, M; supzak, J; Kubiak, K; Glińska-Suchocka, K; Biernat, M. 2016. Detection of gastric *Helicobacter spp.* in stool samples of dogs with gastritis (en línea). Polish Journal of Veterinary Sciences Vol. 19, No. 2 (2016). Consultado en oct 2017. Disponible en: <https://www.degruyter.com/downloadpdf/j/pjvs.2016.19.issue-2/pjvs-2016-0030/pjvs-2016-0030.pdf>

Jano.es, ESP. 2011. Elsevier .es. (en línea) Madrid, ESP. Consultado el 15 set. 2014. Disponible en <http://www.jano.es/noticia-un-estudio-descubre-que-los-14019>

Jara Verdugo, M.S. 2003. Determinación histológica de la presencia de bacterias curvo-espirladas tipo *Helicobacter spp.* en estómago, intestinos, hígado y vesícula biliar de perros (*canis familiaris*) de la ciudad de Valdivia, Chile. (en línea). Tesis MVZ. Chile, Universidad Austral de Chile. Disponible en <http://cybertesis.uach.cl/tesis/uach/2003/fvj.37d/doc/fvj.37d.pdf> 1 p.

Morales, A; García, F; Bermúdez, V. 2010. El Género *Helicobacter* en los animales domésticos: Una Revisión. (en línea). Revista del Instituto Nacional de Higiene “Rafael Rangel”. Consultado 25 set. 2014. Disponible en http://www.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0798-04772010000200009

Pena, S. 2010. Estudio Molecular De Los Factores De Virulencia Y De La Resistencia A Claritromicina En La Infección Por *Helicobacter Pylori*. Tesis Doctorad. Madrid, España. UCM.

Ramírez Ramos, R; Sánchez, R. 2009. *Helicobacter pylori* 25 años después (1983-2008): Epidemiología, Microbiología, Patogenia, Diagnóstico y Tratamiento. (en línea). Revista Gastroenterol, PE. Disponible en <http://www.scielo.org.pe/pdf/rgp/v29n2/a08v29n2>

Rodríguez-Franco, F; García-Sancho, M; Delgado, J, Sainz, A. 2003. Estudio de prevalencia de *Helicobacter spp.* en 70 perros mediante test de ureasa. (en línea). Rev. AVEPA, 23(2). Consultado el 16 set. 2014. Disponible en <http://ddd.uab.cat/pub/clivetpegani/11307064v23n2/11307064v23n2p101.pdf>

Rossi, G, Fortuna, D 1999. A Conventional Beagle Dog Model for Acute and Chronic Infection with *Helicobacter pylori*. (en línea). Infect Immunity, PMID: PMC96629. Consultado 20 febrero 2017. Disponible en: <http://iai.asm.org/content/67/6/3112.long>.

Sánchez-Zauco, NA; Giono Cerezo, S; Maldonado Bernal, C; 2010. Receptores tipo Toll, patogénesis y respuesta inmune a *Helicobacter pylori*. Salud pública de México / vol. 52, no. 5, septiembre-octubre de 2010. Consultado en 21 de oct 2016.

Teco Diagnostics. s.f. Prueba One-Step *H. pylori* Serum Card Test. (en línea). Consultado 15 nov. 2014. Disponible en <http://www.tecodiagnostics.com/wp-content/uploads/2014/04/H730A.pdf>

Thibaut, J; Paz, V; Paredes, E; Ernst, S. 2007. Determinación de la presencia de *Helicobacter spp.* en caninos, mediante biopsia gástrica obtenida por endoscopia. (en línea). Revista Científica, FCV-LUZ / Vol. XVII, N° 3. Consultado 20 set. 2013. Disponible en <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=95917302>

Torres Valadez, F., García Menéndez, A., y Zárate Osorno, A. 2008. *Helicobacter pylori*. Universidad Nacional Autónoma de México. Consultado el 15 de set 2013. Disponible en http://www.biblioteca.usac.edu.gt/tesis/06/06_3893.pdf

8. ANEXOS.

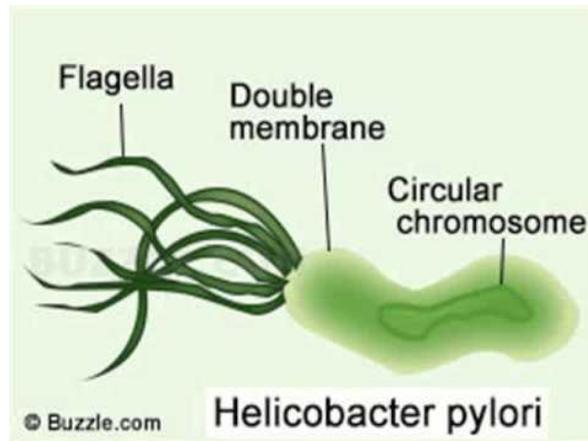


Figura A - 1 - *Helicobacter pylori*

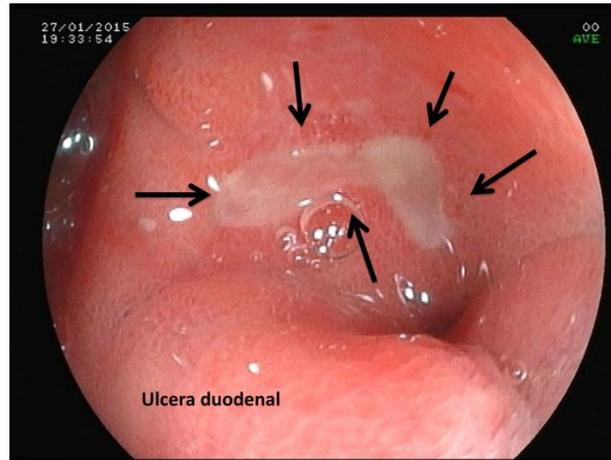


Figura A - 2 Úlcera duodenal por *Helicobacter pylori*

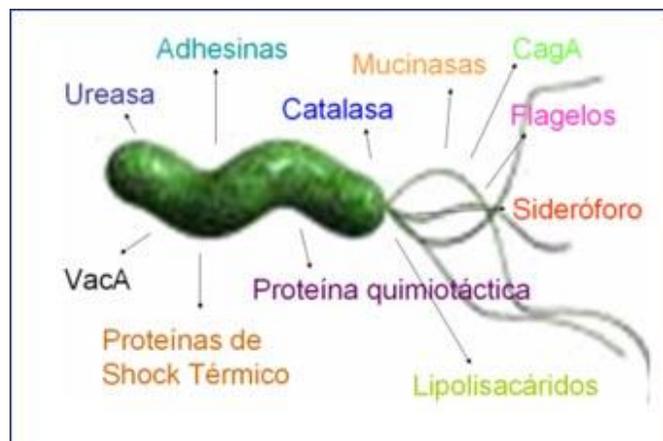


Figura A - 3 Factor de Patogenicidad, producción de enzimas

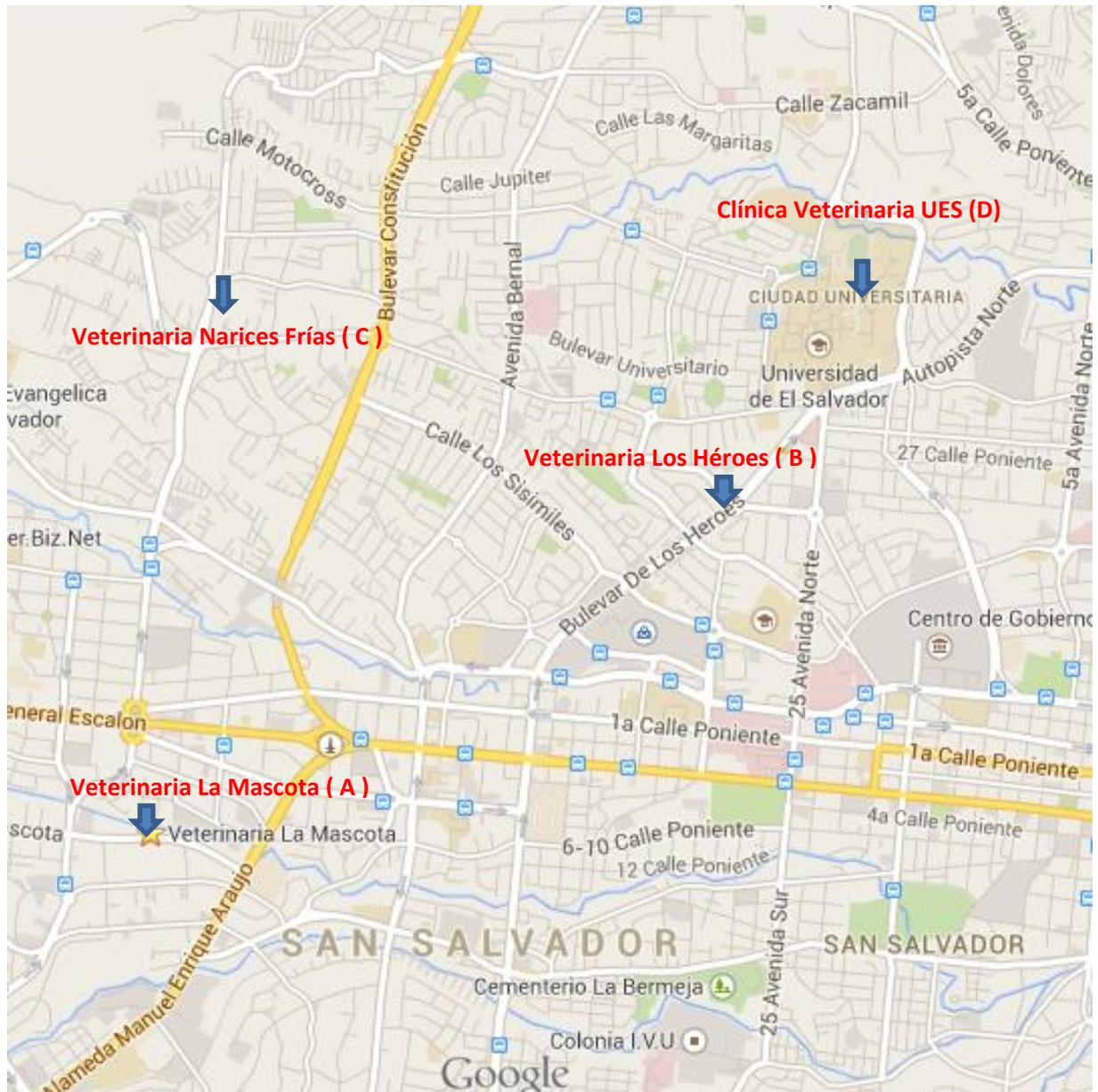


Figura A - 4 Distribución Geográfica de Clínicas Veterinarias a muestrear.



Figura A - 5 Toma de muestra vena cefálica



Figura A - 6 Sujeción y toma de muestra de pacientes



Figura A - 7 Kit Certest *H. pylori*



Figura A - 8 Kit One-step *H. pylori* serum card test

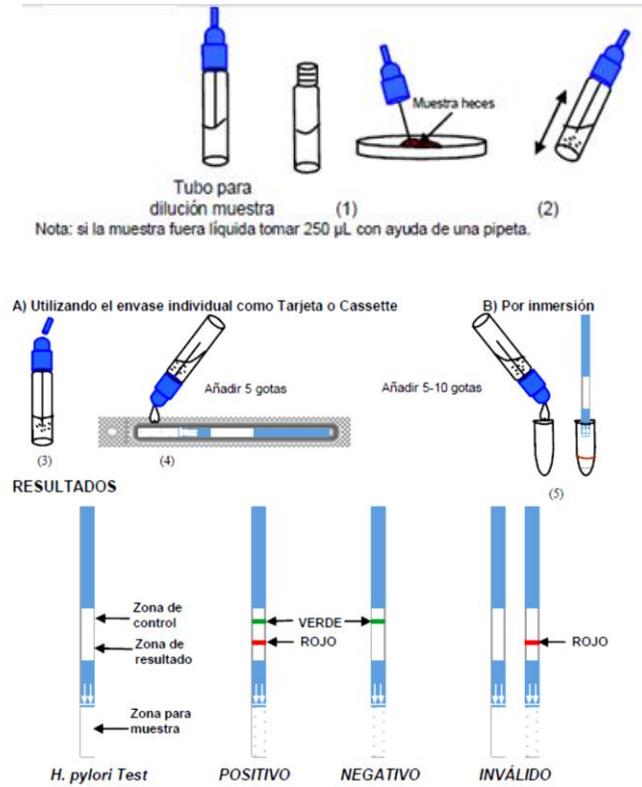


Figura A - 9 Procedimiento utilizando el Blister Test como Strip test (CerTest BIOTIC)



Figura A - 10 Prueba Certest Biotic

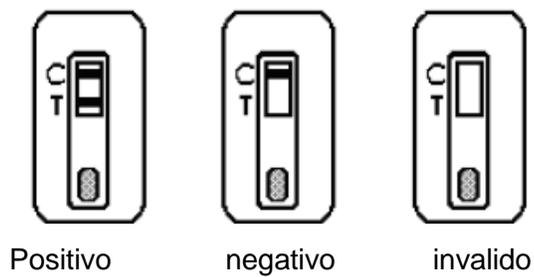


Figura A - 11 Interpretación de resultados test One-Step *H. pylori* (Teco Diagnostics. s.f.).



Figura A - 12 Realización prueba one-step *H. pylori* serum card test

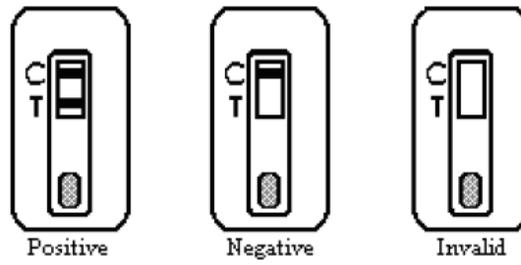


Figura A - 13 Interpretación de resultados One-Step *H. pylori* Serum Card Test



Figura A - 14 Resultado positivo anticuerpos séricos *H. pylori*



Figura A - 15 Resultado positivo anticuerpos séricos *H. pylori*



Figura A - 16 Resultado negativo anticuerpos séricos *H. Pylori*

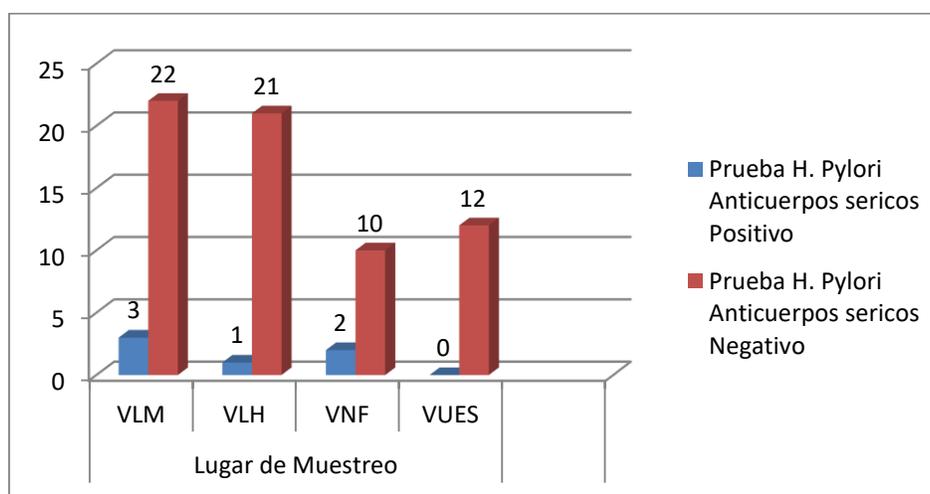


Figura A - 17 Relación entre lugar de muestreo y presencia de anticuerpos séricos *H. pylori*

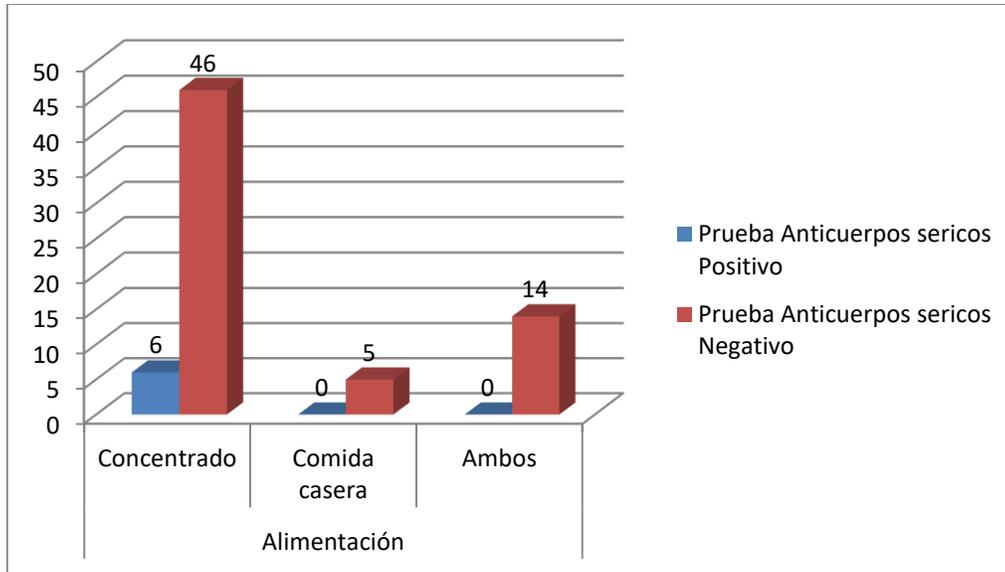


Figura A - 18 Relación entre tipo de alimentación y presencia de anticuerpos séricos *H. pylori*

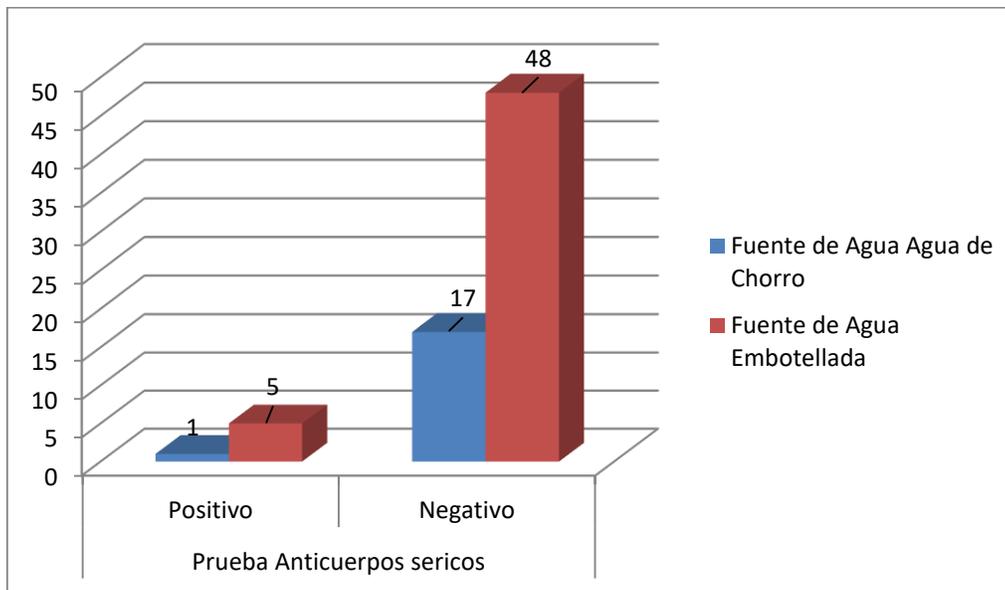


Figura A - 19 Relación entre fuente de agua y presencia de anticuerpos séricos *H. pylori*

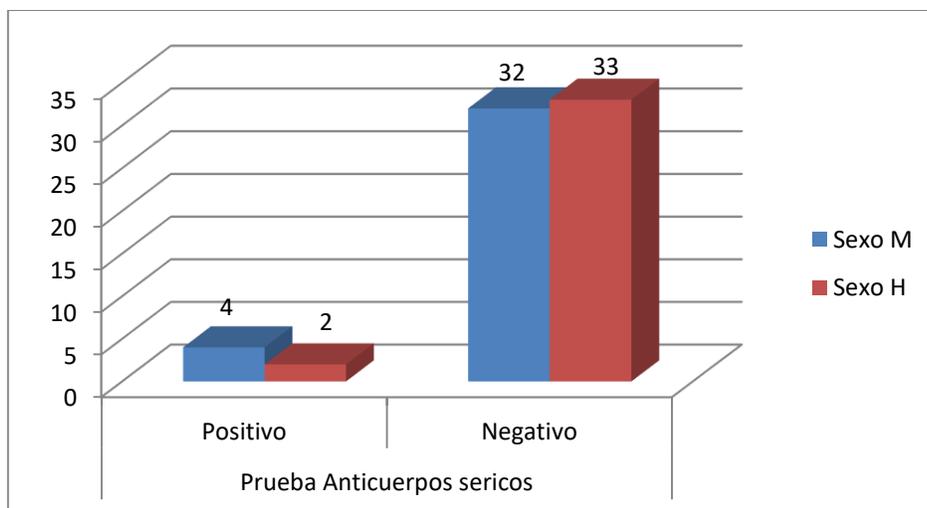


Figura A - 20 Relación entre sexo de mascota y presencia de anticuerpos séricos *H. pylori*

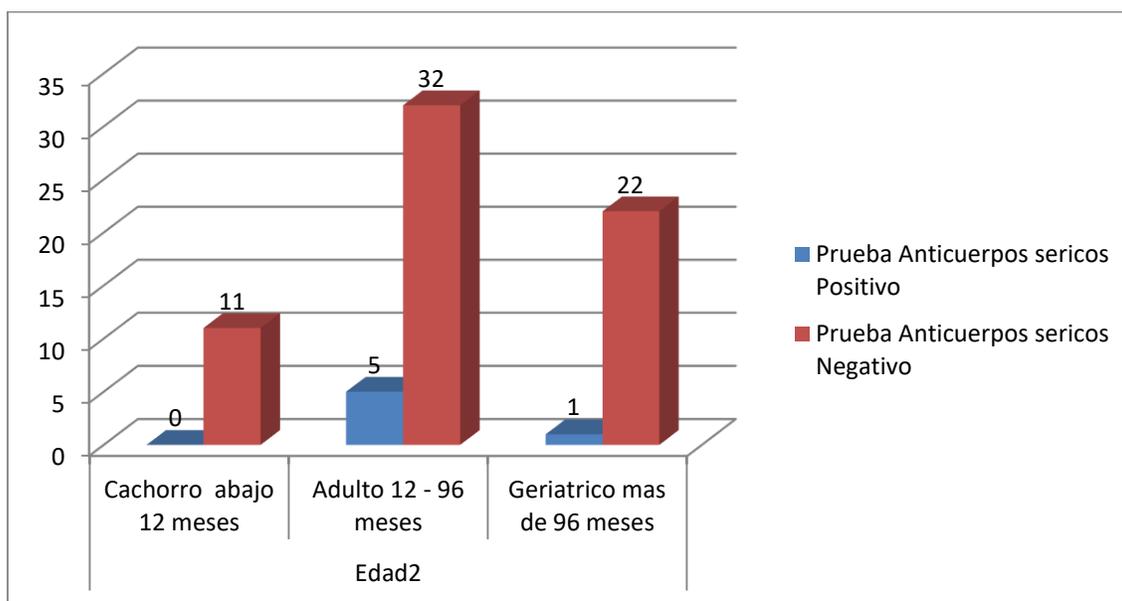


Figura A - 21 Relación entre edad y presencia de anticuerpos séricos *H. pylori*

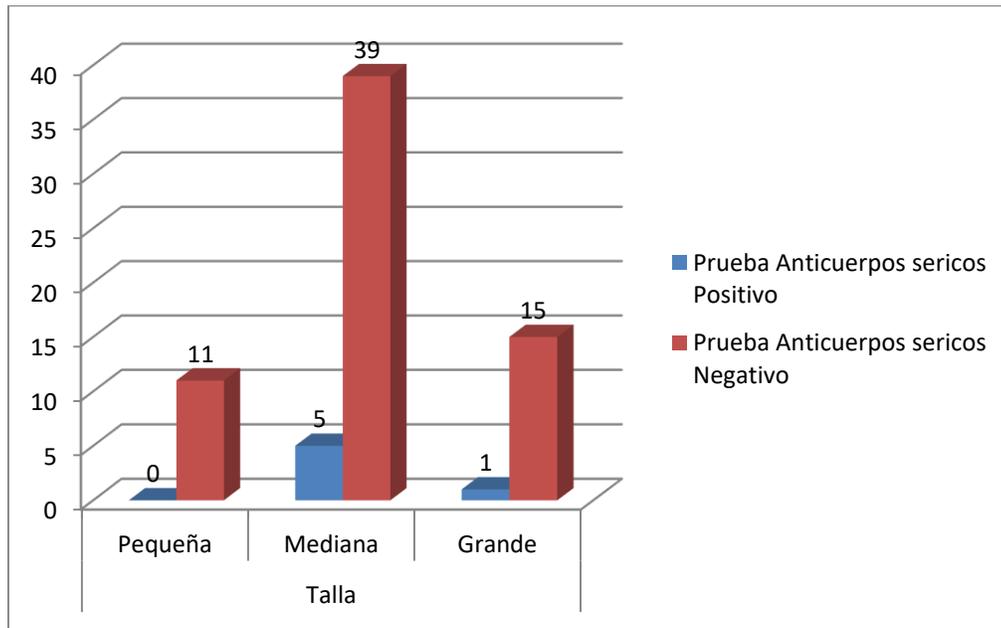


Figura A - 22 Relación entre talla de la mascota y presencia de anticuerpos séricos *H. pylori*

Cuadro A- 1 Cuadro de anamnesis

HISTORIA CLINICA

Nombre: _____ Especie: _____ Raza: _____
 Sexo: _____ Peso: _____ Edad: _____
 Condición corporal 0/5: _____

DATOS DEL PROPIETARIO:

Nombre: _____ Dirección: _____ Teléfono: _____
 Motivo de consulta: _____

DATOS MEDIO AMBIENTALES:

Entorno: _____ Alimentación: _____
 Contacto con otros animales: _____

HISTORIA MÉDICA

Constantes fisiológicas:
 Temperatura: _____ Frecuencia cardíaca: _____ Pulso: _____
 Frecuencia respiratoria: _____ Tllc: _____

SINTOMAS	SI	NO	COMENTARIO
Cólico abdominal			
emesis			
Hematemesis			
Regurgitación			
Diarrea			
Diarrea con sangre			
Deshidratación			
Pérdida de peso			
Anorexia.			

Cuadro A- 2 Resultados de pruebas inmunocromatograficas para detección de anticuerpos séricos y antígenos fecales de *Helicobacter pylori* en clínica veterinaria la mascota.

Muestra	Resultados pruebas <i>H. pylori</i>	
	Anticuerpos séricos	Antígenos Fecales
VLM1	Negativo	Negativo
VLM2	Negativo	Negativo
VLM 3	Negativo	Negativo
VLM 4	Negativo	Negativo
VLM 5	Positivo	Negativo
VLM 6	Positivo	Negativo
VLM 7	Negativo	Negativo
VLM 8	Negativo	Negativo
VLM 9	Negativo	Negativo
VLM 10	Negativo	Negativo
VLM 11	Negativo	Negativo
VLM 12	Negativo	Negativo
VLM 13	Negativo	Negativo
VLM 14	Negativo	Negativo
VLM 15	Positivo	Negativo
VLM 16	Negativo	Negativo
VLM 17	Negativo	Negativo
VLM 18	Negativo	Negativo
VLM 19	Negativo	Negativo
VLM 20	Negativo	Negativo
VLM 21	Negativo	Negativo
VLM 22	Negativo	Negativo
VLM 23	Negativo	Negativo
VLM 24	Negativo	Negativo
VLM 25	Negativo	Negativo

Cuadro A- 3 Resultados de pruebas inmunocromatograficas para detección de anticuerpos séricos y antígenos fecales de *Helicobacter pylori* en clínica veterinaria los héroes

Muestra	Resultados pruebas <i>H. pylori</i>	
	Anticuerpos séricos	Antígenos Fecales
VLH1	Negativo	Negativo
VLH 2	Negativo	Negativo
VLH 3	Negativo	Negativo
VLH 4	Negativo	Negativo
VLH 5	Negativo	Negativo
VLH 6	Negativo	Negativo
VLM 7	Negativo	Negativo
VLH 8	Negativo	Negativo
VLH 9	Negativo	Negativo
VLH 10	Negativo	Negativo
VLH 11	Negativo	Negativo
VLH 12	Negativo	Negativo
VLH 13	Negativo	Negativo
VLH 14	Positivo	Negativo
VLH 15	Negativo	Negativo
VLH 16	Negativo	Negativo
VLH 17	Negativo	Negativo
VLH 18	Negativo	Negativo
VLH 19	Negativo	Negativo
VLH 20	Negativo	Negativo
VLH 21	Negativo	Negativo
VLH 22	Negativo	Negativo

Cuadro A- 4 Resultados de pruebas inmunocromatograficas para detección de anticuerpos séricos y antígenos fecales de *Helicobacter pylori* en clínica veterinaria Narices Frías.

Muestra	Resultados pruebas <i>H. pylori</i>	
	Anticuerpos séricos	Antígenos Fecales
VNF 1	Negativo	Negativo
VNF 2	Negativo	Negativo
VNF 3	Negativo	Negativo
VNF 4	Positivo	Negativo
VNF 5	Negativo	Negativo
VNF 6	Negativo	Negativo
VNF 7	Negativo	Negativo
VNF 8	Positivo	Negativo
VNF 9	Negativo	Negativo
VNF 10	Negativo	Negativo
VNF 11	Negativo	Negativo
VNF 12	Negativo	Negativo

Cuadro A- 5 Resultados de pruebas inmunocromatograficas para detección de anticuerpos séricos y antígenos fecales de *Helicobacter pylori* en clínica veterinaria UES

Muestra	Resultados pruebas <i>H. pylori</i>	
	Anticuerpos séricos	Antígenos Fecales
VUES 1	Negativo	Negativo
VUES 2	Negativo	Negativo
VUES 3	Negativo	Negativo
VUES 4	Negativo	Negativo
VUES 5	Negativo	Negativo
VUES 6	Negativo	Negativo
VUES 7	Negativo	Negativo
VUES 8	Negativo	Negativo
VUES 9	Negativo	Negativo
VUES 10	Negativo	Negativo
VUES 11	Negativo	Negativo
VUES 12	Negativo	Negativo