

**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA  
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA  
ESCUELA DE MEDICINA VETERINARIA**



**DETERMINACIÓN DE LA PRESENCIA E IDENTIFICACIÓN  
DE *Helicobacter* spp EN PERROS (*Canis lupus familiaris*)  
DE LA CIUDAD DE GUATEMALA, QUE ACUDAN A LA  
CONSULTA VETERINARIA CON SIGNOS DE PROBLEMAS  
GÁSTRICOS AGUDOS O CRÓNICOS.**

**ANDREA MARÍA PALOMO LUARCA**

**Médica Veterinaria**

**GUATEMALA, JUNIO DE 2014**

**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA  
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA  
ESCUELA DE MEDICINA VETERINARIA**



**DETERMINACIÓN DE LA PRESENCIA E IDENTIFICACIÓN DE  
*Helicobacter* spp EN PERROS (*Canis lupus familiaris*) DE LA  
CIUDAD DE GUATEMALA, QUE ACUDAN A LA CONSULTA  
VETERINARIA CON SIGNOS DE PROBLEMAS GÁSTRICOS  
AGUDOS O CRÓNICOS.**

**TRABAJO DE GRADUACIÓN**

**PRESENTANDO A LA HONORABLE JUNTA DIRECTIVA DE LA FACULTAD**

**POR**

**ANDREA MARÍA PALOMO LUARCA**

Al conferírsele el título profesional de

**Médica Veterinaria**

**En el grado de Licenciado**

**GUATEMALA, JUNIO DE 2014**

**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA**  
**FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA**  
**JUNTA DIRECTIVA**

<b>DECANO:</b>	MSc. Carlos Enrique Saavedra Vélez
<b>SECRETARIA:</b>	M.V. Blanca Josefina Zelaya de Romillo
<b>VOCAL I:</b>	Lic. Sergio Amílcar Dávila Hidalgo
<b>VOCAL II:</b>	MSc. Dennis Sigfried Guerra Centeno
<b>VOCAL III:</b>	M.V. Carlos Alberto Sánchez Flamenco
<b>VOCAL IV:</b>	Br. Javier Augusto Castro Vázquez
<b>VOCAL V:</b>	Br. Juan René Fuentes López

**ASESORES**

M.V. BLANCA JOSEFINA ZELAYA DE ROMILLO  
M.V. ANDREA LORENA PORTILLO GARCÍA  
M.V. JAIME ROLANDO MÉNDEZ SOSA

**HONORABLE TRIBUNAL EXAMINADOR**

**En cumplimiento con lo establecido por los reglamentos y normas de la Universidad de San Carlos de Guatemala, presento a su consideración el trabajo de graduación titulado:**

**DETERMINACIÓN DE LA PRESENCIA E IDENTIFICACIÓN DE *Helicobacter* spp EN PERROS (*Canis lupus familiaris*) DE LA CIUDAD DE GUATEMALA, QUE ACUDAN A LA CONSULTA VETERINARIA CON SIGNOS DE PROBLEMAS GÁSTRICOS AGUDOS O CRÓNICOS.**

**Que fuera aprobado por la Honorable Junta Directiva de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia**

**Como requisito previo a optar el título profesional de:**

**MÉDICA VETERINARIA**

## **ACTO QUE DEDICO A:**

- A MIS PADRES:** Carlos Alfonso Palomo Bonilla y María Elena Luarca Saracho (Q.E.P.D.).
- A MI ESPOSO:** Andros por su gran amor, apoyo incondicional y por ser mi fuente de inspiración.
- A MI HERMANA:** María Fernanda por su cariño y estar siempre a mi lado.
- A MIS TIOS:** Ana Rosa, Ricardo, Roberto y Susana por su ejemplo y apoyo.
- A MI ABUELITA:** Susy por todo su amor y apoyo.
- A MIS SUEGROS:** Jorge Papadópolo y Roxana de Papadópolo.
- A MIS AMIGOS:** Por su amistad, apoyo y buenos momentos.

## **AGRADECIMIENTOS**

- A DIOS:** Por ser mi guía y haberme dejado cumplir este gran sueño.
- A MI ESPOSO:** Por ser mi ayuda idónea, mi amigo y mi compañero.
- A MIS ASESORES:** Por su paciencia y apoyo.
- A TODAS LAS PERSONAS NO MENCIONADAS:** Con las personas que compartí momentos especiales formando así parte de mi historia universitaria.
- A LAS PERSONAS E INSTITUCIONES:** Que de una u otra forma colaboraron en la realización del presente trabajo.

# ÍNDICE GENERAL

<b>I.</b>	<b>INTRODUCCIÓN</b> .....	1
<b>I.</b>	<b>HIPÓTESIS</b> .....	3
<b>II.</b>	<b>OBJETIVOS</b> .....	4
	3.1 Objetivo General.....	4
	3.2 Objetivos Específicos.....	4
<b>III.</b>	<b>REVISIÓN DE LITERATURA</b> .....	5
	3.1. <i>Helicobacter</i> spp.....	5
	3.1.1. Morfología y tinción.....	5
	3.1.2. Desarrollo.....	6
	3.1.3. Clasificación.....	6
	3.1.4. Especies y reservorios.....	7
	3.1.5. Potencial zoonótico.....	9
	3.2. Helicobacteriosis.....	10
	3.2.1. Vías de transmisión.....	10
	3.2.2. Signos.....	11
	3.2.3. Factores de patogenicidad.....	11
	3.2.4. Prevalencia de la enfermedad.....	12
	3.2.5. Diagnóstico.....	13
	3.2.6. Diagnóstico diferencial.....	17
	3.2.7. Tratamiento.....	17
<b>IV.</b>	<b>MATERIALES Y MÉTODOS</b> .....	19
	4.1. Materiales.....	19
	4.1.1. Recursos humanos.....	19
	4.1.2. Recursos biológicos.....	19
	4.1.3. Recursos de campo.....	19
	4.1.4. Recursos de oficina.....	19
	4.1.5. Recursos de laboratorio.....	20

4.2.	Metodología.....	20
4.2.1.	Diseño del estudio.....	20
4.2.2.	Muestreo.....	20
4.2.3.	Metodología de laboratorio.....	21
4.2.4.	Análisis de datos.....	22
<b>V.</b>	<b>RESULTADOS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS.....</b>	<b>23</b>
<b>VI.</b>	<b>CONCLUSIONES.....</b>	<b>28</b>
<b>VII.</b>	<b>RECOMENDACIONES.....</b>	<b>29</b>
<b>VIII.</b>	<b>RESUMEN.....</b>	<b>30</b>
	<b>SUMMARY.....</b>	<b>31</b>
<b>IX.</b>	<b>REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>32</b>
<b>X.</b>	<b>ANEXOS.....</b>	<b>36</b>

## ÍNDICE DE CUADROS

<b>Cuadro 1.</b> Diferentes especies del género <i>Helicobacter</i> y sus reservorios.....	8
<b>Cuadro 2.</b> Características biológicas del género <i>Helicobacter</i> .....	16
<b>Cuadro 3.</b> Protocolos utilizados en el tratamiento farmacológico de Helicobacteriosis canina.....	19
<b>Cuadro 4.</b> Resultados de cultivo de muestras en agar sangre.....	24
<b>Cuadro 5.</b> Resultados de pruebas bioquímicas ureasa y oxidasa.....	26

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Resultados de cultivo de muestras en agar sangre.....	25
<b>Figura 2.</b> Resultados de prueba bioquímica ureasa.....	26
<b>Figura 3.</b> Resultado de prueba bioquímica oxidasa.....	27

## I. INTRODUCCIÓN

La enfermedad Helicobacteriosis se refiere a la infección de la mucosa gastrointestinal por *Helicobacter* spp, dicha bacteria se encuentra ampliamente difundida en el reino animal, con 24 especies aisladas en diferentes animales, entre ellos el perro.

Las vías de infección más importantes conocidas hasta el momento son la oro-fecal y la oro-oral, pudiendo ser fácilmente afectadas las personas o animales con los que se tiene estrecha convivencia.

Hasta hace algunas décadas se pensaba que las bacterias no podrían sobrevivir en el ambiente del ácido gástrico, considerándose el estómago un órgano estéril, sin embargo con el descubrimiento de las bacterias de género *Helicobacter*, esta teoría fue eliminada. Dichas bacterias poseen características microbiológicas especiales las cuales las hacen muy eficientes en la colonización del estómago, lo que convierte a dicho género en un factor etiológico determinante en la producción de trastornos gástricos como gastritis y úlceras gástricas en animales e incluso humanos.

Debido a la gran importancia del género *Helicobacter* y el limitado estudio que se ha realizado del mismo en perros, de la Ciudad de Guatemala, se decidió investigar, para determinar la presencia de dicha bacteria en estómagos de perros con signos gástricos agudos o crónicos, casos en los que generalmente el género *Helicobacter* no es tomado en cuenta para su diagnóstico.

Es un hecho que la mascota más común en los hogares de la Ciudad de Guatemala actualmente es el perro, por este motivo dicha especie requiere de una atención especial en Medicina Veterinaria, pues esta especie presenta un continuo contacto con el humano, es por eso que la presente investigación tiene como

finalidad conocer acerca del género *Helicobacter* y considerar el riesgo zoonótico, para una posterior prevención de la transmisión al ser humano.

## **II. HIPÓTESIS**

Existe presencia de *Helicobacter* spp en perros con signos gástricos agudos o crónicos.

### III. OBJETIVOS

#### **Objetivo General:**

Contribuir al estudio de la presencia de *Helicobacter* spp en perros atendidos en la ciudad de Guatemala.

#### **Objetivos Específicos:**

- Determinar por cultivo la presencia de *Helicobacter* spp en perros que asistan a consulta veterinaria en la ciudad de Guatemala, presentando signos de gastritis o problemas crónicos gástricos.
- Diferenciar las especies de *Helicobacter* spp aisladas de los cultivos de las biopsias de perros que asistan a consulta veterinaria en la ciudad de Guatemala.

## IV. REVISIÓN DE LITERATURA

### 4.1. *Helicobacter* spp

A finales del siglo XIX el médico investigador italiano Giulio Bizzozero y Hugo Salomon detectaron por primera vez la presencia de bacterias espirales en el estómago de animales domésticos, anulando la teoría que este era un órgano estéril, sin embargo este hallazgo no cobró importancia hasta que fue asociada a la sintomatología gastrointestinal en humanos. (8, 17, 18)

En 1981 el anatomopatólogo Robin Warren y el gastroenterólogo Barry Marshall, comienzan a investigar las bacterias espirales, consiguiendo aislar las bacterias y luego de estudios confirmaron la presencia de bacterias en la proximidad de la superficie del epitelio gástrico y la relación de estas con la presencia de gastritis crónica en los humanos. (8)

En un principio al microorganismo identificado se le clasificó dentro del género *Campylobacter* por reunir características de dicho género, pero en 1989 se determinó que su estructura y composición de ácidos grasos eran muy diferentes. La secuencia de ARN demostró que la bacteria no pertenecía al género *Campylobacter*, surgiendo así el nuevo nombre de género *Helicobacter*. (8)

#### 4.1.1. Morfología y tinción

Las bacterias del género *Helicobacter* (del griego *hélix*: helicoidal; *bacter*: bacteria) se caracteriza por su morfología curva o espiral (también llamados gastroespirilos) y por ser móviles gracias a sus múltiples flagelos polares monótricos o lofótricos, lo que favorece su penetración y movimiento dentro de la capa mucosa, permitiéndole escapar del pH extremadamente bajo del estómago y los movimientos peristálticos del esófago e intestinos. (3, 15, 17)

Son Gram negativas, microaerofílicas (lo que les permite existir dentro de la mucosa gástrica ya que tiene baja concentración de oxígeno) y una temperatura óptima de crecimiento de 37° C. Poseen actividad catalasa, ureasa y oxidasa. (15, 17)

#### **4.1.2. Desarrollo**

Las bacterias *Helicobacter* se desarrollan mejor en un ambiente neutro y levemente alcalino (pH 7-8) y a una temperatura entre 33° y 40° C. Sin embargo, se han detectado bacterias *Helicobacter* en el interior de las células parietales (productoras de ácido clorhídrico), lo que sugiere alta resistencia al pH ácido. (20)

La ureasa es la principal enzima producida por las *Helicobacter* gástricas, y se ubican en la superficie celular bacteriana. La producción de ureasa constituirá un factor crucial en la sobrevivencia de este microorganismo, durante la fase aguda de la infección, es decir, antes que se ubique por debajo de la capa de mucus gástrico. (20)

Producen también enzimas proteinasas y lipasas, que les permite obtener nutrientes para su desarrollo, reducir la viscosidad del mucus gástrico y facilitar su movimiento flagelar. (17)

#### **4.1.3. Clasificación**

Por su ubicación están clasificadas en especies gástricas y no gástricas, encontradas estas últimas en intestino e hígado. (17)

Las bacterias *Helicobacter* de ubicación gástrica, se caracterizan por la producción de ureasa. Debido a la acción de estas enzimas, se genera amoníaco,

originando una cubierta alcalina alrededor de la bacteria, lo que le permite sobrevivir en el medio ambiente ácido del estómago. (17)

Los organismos *Helicobacter* gástricos se ubican en las regiones cardial, fúndica, y pilórica del estómago, encontrándose histológicamente sobre la superficie de la mucosa, en las fosas gástricas, glándulas gástricas y células parietales. *Helicobacter* spp posee distintos factores de virulencia que le permiten colonizar la cavidad gástrica y persistir en un medio ácido intragástrico, como lo son la movilidad, capacidad de adhesión, metabolismo microaerófilo, capacidad hidrófoba y actividad de la ureasa además de otras enzimas secretadas. (12, 17)

Existe una segunda clasificación, la cual es a base del tamaño, donde se establecen dos grupos, de tamaño pequeño (2-4 µm), siendo su representante principal *Helicobacter pylori*, y de gran tamaño (7-10 µm), entre los cuales se encuentran fundamentalmente *Helicobacter felis*, *Helicobacter bizzoeronii*, *Helicobacter heilmannii*. (15)

#### 4.1.4. Especies y Reservorios

Las bacterias de este género han sido detectadas en diversos animales: perros, gatos, hurones, cerdos, terneros, guepardos, primates e incluso el humano (Cuadro No. 1). (17)

**Cuadro 1.** Diferentes especies del género *Helicobacter* y sus reservorios.

ESPECIE	HOSPEDERO HABITUAL	UBICACIÓN PRINCIPAL
<i>H. bizzoeronii</i>	Humano, perro, gato, primate	Estómago
<i>H. heilmannii</i>	Pero, gato, primates, humano	Estómago
<i>H. canis</i>	Humano, perro, gato	Intestino
<i>H. canadensis</i>	Humano	Intestino
<i>H. cinaedi</i>	Humano, hámster, macaco	Intestino

<i>H. fennelliae</i>	Humano	Intestino
<i>H. pullorum</i>	Humano, pollo	Intestino
<i>H. pylori</i>	Humano, macaco, gato	Estómago
<i>H. aurati</i>	Hámster	Intestino
<i>H. nemestrinae</i>	Macaco	Estómago
<i>H. acinonychis</i>	Chimpancé	Estómago
<i>H. bilis</i>	Ratón, perro, rata	Intestino
<i>H. cholecystus</i>	Hámster	Hígado
<i>H. felis</i>	Perro, gato	Estómago
<i>H. hepaticus</i>	Ratón	Intestino
<i>H. mesocricetorum</i>	Hámster	Intestino
<i>H. muridarum</i>	Ratón, rata	Intestino
<i>H. mustelae</i>	Huron, visón	Estómago
<i>H. pametensis</i>	Aves	Intestino
<i>H. rodentium</i>	Ratón	Intestino
<i>H. salomonis</i>	Perro	Estómago
<i>H. trogontum</i>	Rata	Intestino
<i>H. typhlonius</i>	Ratón	Intestino
<i>H. ganmani</i>	Ratón	Intestino

(3, 8)

Es común encontrar infecciones de dos o más especies de *Helicobacter* spp en los perros, las especies encontradas con mayor frecuencia en el perro son *H. heilmannii*, *H. bizzozeronii*, *H. felis*, *H. salomonis*. (5, 6)

*Helicobacter heilmannii*, es una bacteria móvil, de forma espiral con 3-8 hélices o giros, poseedora de hasta 14 flagelos uni o bipolares. (19)

El *H. bizzozeronii*, *H. salomonis* y *H. heilmannii* son espirales grandes con 5-10  $\mu\text{m}$  de largo, mientras que *Helicobacter pylori* es curvado, Gram negativo y más pequeño (2-4  $\mu\text{m}$ ). (11)

*H. felis*, fue aislada inicialmente en 1988 del epitelio gástrico de gatos y presenta espirales grandes (de 5-10  $\mu\text{m}$ ) además de unas fibras periplasmáticas como característica morfológica ultraestructural distintiva. (3)

*H. salomonis*, son espirales de 0,8 a 1,2  $\mu\text{m}$  de ancho por 5 a 7  $\mu\text{m}$  de largo. No tienen fibrillas periplasmáticas, son móviles por medio de mechones de 10 a 23 flagelos enfundados en uno o ambos extremos de la célula; el movimiento es más lento que la de *H. felis* o *H. bizzozeronii*. (23)

#### 4.1.5. Potencial zoonótico

Las especies de *Helicobacter* descritas a continuación llaman la atención en esta investigación ya que nos dan a conocer cuáles han sido encontradas colonizando la mucosa gástrica de perros las cuales poseen carácter zoonótico:

*Helicobacter felis*: Su presencia en gatos, perros y guepardos fue confirmada por varios estudios alrededor de 1988. Al igual que *H. pylori*, ésta ha sido encontrada en la mucosa gástrica de pacientes humanos con gastritis, dichas observaciones sugieren que *H. felis* puede ser un agente de diseminación zoonótica. (3)

*Helicobacter heilmannii*: esta bacteria ha sido aislada del perro, del gato, del guepardo, de primates y en el hombre. La infección en este último, a pesar de su baja frecuencia es cosmopolita. Aunque esta bacteria también ha sido observada en individuos sanos, su transmisión zoonótica ha sido propuesta fundamentalmente por la alta frecuencia de la infección observada en animales domésticos y la estrecha relación epidemiológica existente entre éstos y los pacientes humanos enfermos. (3)

*Helicobacter bizzozeronii*: esta bacteria fue aislada en biopsias gástricas obtenidas del cuerpo del estómago de perros, también se aportó evidencia que puede ser encontrada infectando la mucosa gástrica humana ya sea como agente único o en infección mixta, teniendo como fuente de origen el perro. (18)

*Helicobacter salomonis*: durante estudios de la prevalencia y la distribución de especies *Helicobacter* en el epitelio gástrico de perros, fue reconocido que *Helicobacter salomonis* puede ser aislado de la mucosa gástrica humana. (3)

*Helicobacter pylori*: esta especie de *Helicobacter* sólo había sido aislada del ser humano sospechándose, sin embargo, la existencia de reservorios animales, pero recientemente fue demostrado que en condiciones naturales, *H. pylori* puede ser aislado de primates, del cerdo y del gato. (3)

## **4.2. Helicobacteriosis**

Se refiere a la infección gastrointestinal o hepática por las bacterias del género *Helicobacter*. Los perros pueden ser colonizados naturalmente por varias especies de *Helicobacter* spp a la vez. (4, 12)

### **4.2.1. Vías de transmisión**

Las vías de transmisión postuladas hasta el momento son la oro-fecal y la oro-oral, lo que convierte el hábito de lamerse y olfatearse los genitales en la forma común de infección, reinfección y transmisión. Por consiguiente, los perros que tienen estrecha convivencia con otros tienen mayor probabilidad de infectarse. (10, 17)

También se ha descrito la transmisión en el período de lactancia en hembras paridas, que infectan a los cachorros a una edad temprana y a su vez, los cachorros pueden infectar a otros durante su crecimiento. (4, 17)

Además es factible la transmisión iatrogénica, por limpieza y desinfección inadecuada de equipo endoscópico. (10)

#### **4.2.2. Signos**

La infección por bacterias del género *Helicobacter* en caninos está relacionada con gastritis, ulceraciones gastro-duodenales y procesos neoplásicos gástricos. (10)

La presencia de varias especies de *Helicobacter* spp puede tener diferentes roles en la patogenia de la gastritis canina. Se supone que estas bacterias pueden inducir gastritis, que provocan cambios histológicos como inflamación de la mucosa gástrica, formación de folículos linfoides, degeneración de glándulas gástricas y células parietales. Estos cambios por la presencia de *Helicobacter* spp se han asumido como indicadores de patogenicidad. (4)

#### **4.2.3. Factores de patogenicidad**

Las *Helicobacter* spp que afectan a los caninos se encuentra en todas las regiones del estómago, pero en mayor cantidad en la zona fúndica y en el antro pilórico. La bacteria se adhiere a la superficie de la mucosa de las criptas gástricas, glándulas gástricas profundas y en las células parietales, en los humanos, en cambio, no afectan las células parietales ni las glándulas gástricas profundas, su localización es más superficial y afecta principalmente al antro. (4)

La habilidad de *Helicobacter* spp para colonizar el estómago está basado en la producción de la enzima ureasa que es capaz de hidrolizar la urea en amonio, lo que crea un microambiente alcalino protector que favorece la retrodifusión de los iones de hidrógeno hacia el interior de la mucosa gástrica, rompiendo su integridad, permitiendo la ulceración. La neutralización del ácido por la actividad de la ureasa estimula la producción de gastrina. Es así como *Helicobacter* se ha sugerido como un factor etiológico de gastritis crónica. (4, 10, 12, 17)

Secuencialmente a la colonización continúa el evento infeccioso con la multiplicación bacteriana, internalizando entre las células epiteliales, activación de una fuerte respuesta inflamatoria crónica, humoral e inmune local a través de un aumento significativo de inmunoglobulina G (IgG) e inmunoglobulina A (IgA) y seguidamente control de infección y diseminación de la respuesta inmune favoreciendo la infección crónica. La IgA es liberada por la respuesta inmune local, la cual se liga a los antígenos de superficie del *Helicobacter* spp, pudiendo desencadenar una serie de patologías en el tracto gastrointestinal. (12, 20)

El tipo de inflamación observada como respuesta a la infección de *Helicobacter* spp en perros es mucho menos severa que la asociada con la gastritis crónica por *Helicobacter pylori* en humanos, en donde el infiltrado neutrofílico y eosinofílico es predominante. En perros se ha determinado que el cambio histológico más frecuente es la presencia de infiltrados linfocíticos, folículos linfoides y fibrosis de la lámina propia; en menor cantidad también lesiones ulcerativas y erosivas; estableciendo una relación entre Helicobacteriosis y los cambios mencionados. (4)

#### **4.2.4. Prevalencia de la enfermedad**

La prevalencia de *Helicobacter* spp en perros es muy elevada, tanto en animales sanos como en aquellos que presentan sintomatología de gastritis crónica (vómitos crónicos, fundamentalmente). Según diferentes estudios la prevalencia puede variar del 67 al 100% en perros sanos y del 61 al 95% en perros con sintomatología crónica. Siendo *H. bizzozeronii* la especie más prevalente, seguido de *H. heilmannii*, *H. salomonis* y *H. felis*. A pesar de esto la especie que ha sido aislada en humanos asociada a infección por caninos es *H. heilmannii*. (10, 15)

#### 4.2.5. Diagnóstico

Actualmente se han validado numerosos métodos para el diagnóstico de la infección por *Helicobacter* spp, los cuales pueden clasificarse como de tipo invasivo y no invasivo. (14)

Las pruebas invasivas son aquellas que requieren de la técnica endoscópica e incluyen la extracción de muestras de mucosa gástrica y las pruebas no invasivas requieren muestras más fáciles de obtener y menor costo económico, pero tienen la desventaja de medir indirectamente la presencia de *Helicobacter*. (19)

Si bien es importante la anamnesis, cuadro clínico y las diversas ayudas diagnósticas, las alteraciones macroscópicas de la mucosa no son confiables para el diagnóstico de esta infección, por lo que es necesario el examen endoscópico, la toma de biopsias para examen histológico, test de ureasa y/o aislamiento. (10, 11)

El examen histológico permite identificar la bacteria y caracterizar la intensidad del grado de inflamación, presencia de atrofia, metaplasia, displasia y neoplasias. Las tinciones de plata permite la detección de mayor número de bacterias que la hematoxilina y eosina. Otras tinciones que se utilizan en el diagnóstico histológico son la tinción de Giemsa y la tinción de Warthin-Starry. (10, 15)

El desarrollo de *Helicobacter* spp es muy exigente y necesita de condiciones especiales de cultivo para ser exitoso. Dentro de estas condiciones se incluyen: atmósfera microaerófila (oxígeno al 5-7%) con alto nivel de humedad, temperatura de incubación de 37° C y 42° C un medio de cultivo rico en nutrientes y adicionar hidrógeno atmosférico, son estas condiciones lo que hacen el cultivo

de esta bacteria laborioso, pero es el cultivo el método de mayor especificidad y sensibilidad, indicándonos la presencia o no de *Helicobacter* spp. Las colonias en general son de aproximadamente de 1 mm de diámetro, traslucidas, brillantes y convexas. (7, 10, 11, 14, 19)

La coloración de Gram, descubierta por Christian Gram, ha constituido, desde los albores de la Bacteriología, un elemento fundamental para la taxonomía e identificación. Esta coloración distingue dos grupos de bacterias totalmente diferentes. Las bacterias Gram positivas que presentan una capa gruesa de peptidoglicano como estructura fundamental por sobre la membrana citoplasmática, y las Gram negativas, grupo al que pertenece el género *Helicobacter*, las cuales encima de ésta presentan una delgada capa de peptidoglicano, a la que se superpone una capa de lipopolisacáridos-lipoproteína, denominada membrana externa. (22)

La tinción de Gram utiliza en orden estricto los siguientes reactivos:

- Cristal Violeta o Violeta de Geniana (colorante básico)
- Lugol de Gram
- Alcohol – Acetona (decolorante)
- Fuscina o Safranina (colorante de contraste). (21)

Con frecuencia, la identidad de una especie requiere que se conozca de manera detallada su actividad bioquímica, ya que otras características no son suficientemente distintivas o diferenciales, a continuación se describirán las dos pruebas más importantes para la identificación del género *Helicobacter*.

Debido a que algunas *Helicobacter* spp gástricas producen abundante cantidad de ureasa, se desarrolló la prueba bioquímica específica para identificar estas *Helicobacter*, identificando la enzima directamente en muestras de biopsia. El test de ureasa, es un test, rápido y eficiente. Este método se basa en la

capacidad de *Helicobacter* spp de hidrolizar la urea, liberando CO<sub>2</sub> y NH<sub>3</sub>, con el consiguiente aumento del pH, lo que se manifiesta en cambios de color, generalmente de un color rosado a un color amarillo, en un medio alcalino. Su sensibilidad está relacionada con la cantidad de bacterias presentes en la biopsia (99%) y una especificidad de 95%. La concordancia y el valor predictivo positivo de la prueba está alrededor del 100%, cuando se comparan los resultados con los métodos histológicos. Las ventajas de esta prueba son su alta sensibilidad y especificidad. (10, 12, 14, 19, 20)

La prueba de oxidasa, al igual que la prueba de ureasa tiene como principio determinar la presencia de las enzimas oxidasas, las especies del género *Helicobacter* son oxidasa positiva. La prueba de la oxidasa se basa en la producción bacteriana de la enzima oxidasa intracelular. Esta reacción de oxidasa se debe a un sistema de citocromo oxidasa que activa la oxidación del citocromo reducido por el oxígeno molecular. (2)

**Cuadro 2.** Características biológicas de *Helicobacter*

ESPECIE	CRECIMIENTO A 37° C	PRUEBA DE UREASA	REDUCCIÓN DE NITRATOS	PRUEBA DE OXIDASA
<i>H. pylori</i>	+	+	-	+
<i>H. bizzozeronii</i>	+	+	+	+
<i>H. heilmannii</i>	+	+	-	+
<i>H. felis</i>	+	+	+	+
<i>H. salomonis</i>	+	+	+	+

(5, 7)

La reacción en cadena de la polimerasa (*polymerase chain reaction* [PCR]) es una técnica biotecnológica que tiene como fin el amplificar o reproducir *in vitro*

un número de copias de una región específica de ADN, con la finalidad de reproducir cantidad suficiente de un fragmento para su evaluación. Esta técnica es de gran aplicabilidad en una variedad de campos, incluidas la biología molecular, la biotecnología, la genética, la epidemiología, las ciencias forestales, las ciencias forenses, la microbiología, el diagnóstico de enfermedades infecciosas, entre otras. Por su alta especificidad y sensibilidad la PCR ha demostrado ser muy útil en el diagnóstico de virus, parásitos y bacterias de difícil cultivo; porque ofrece un diagnóstico confiable, más rápido y menos laborioso que los cultivos normales de este tipo de microorganismos. Otra de sus ventajas radica en que la secuencia específica de interés no necesita estar aislada del resto de su genoma, pero una vez completada su reproducción, esta puede ser separada del resto del ADN por medio de electroforesis en geles de agarosa. Además, la cantidad de material que hace falta para el inicio de la reacción es muy pequeña y solo es necesario la cantidad de ADN contenida en una sola célula, esto le ofrece una alta sensibilidad a la prueba. (13)

Los métodos no invasivos son los más indicados para estudios epidemiológicos y control de tratamientos.

Entre los métodos no invasivos están las pruebas serológicas, las cuales son relativamente rápidas y sencillas de realizar. Se han utilizado diferentes métodos como la aglutinación bacteriana, fijación del complemento, aglutinación en látex, hemoaglutinación pasiva, el inmunoblot y ELISA, siendo el método comúnmente usado. Existen paquetes comerciales de ELISA para el uso humano, pero no para animales. (4)

Estas pruebas miden el nivel de los anticuerpos circulantes (IgG e IgA) en sangre, saliva y orina. Los antígenos pueden activar a los linfocitos B, para conducir su diferenciación a plasmocitos productores de IgA, IgG, IgM, IgE e IgD. Los anticuerpos del isotipo IgG, se encuentran predominantemente en la fase

crónica de la infección y están dirigidos contra antígenos específicos como inespecíficos que son excretados en el lumen gástrico a través de la mucosa. La IgA es también producida por las células plasmáticas y secretada en forma de dímero en el lumen gástrico después de la unión de a inmunoglobulina al componente secretor producido por las células epiteliales. La principal desventaja de las pruebas serológicas es su menor especificidad comparada con la técnica endoscópica, además no sería de utilidad en el seguimiento de pacientes, debido a que los títulos de anticuerpos no declinan hasta 12 meses e incluso varios años después del tratamiento. (4, 10, 20)

El test respiratorio con urea marcada, (Urea Breath Test, UBH), es un test basado con el mismo principio, valorando la integridad de la mucosa gástrica. El anhídrido carbónico se absorbe y se difunde a la sangre siendo transportado a los pulmones y de allí es excretado por el aire espirado. (14)

La identificación de antígeno fecal, consiste en un test inmunoenzimático, empleando anticuerpos monoclonales. Es aún menos invasivo ya que se realiza con muestras de heces, su principal aplicación se basa en el control de tratamientos y estudios epidemiológicos. (14)

#### **4.2.6. Diagnóstico diferencial**

Deben descartarse las demás causas de vómito y gastritis, entre las cuales podemos mencionar dietéticas, infecciosas, cuerpos extraños, alérgicas, tóxicas, parasitarias, metabólicas y neoplásicas. (11)

#### **4.2.7. Tratamiento**

Los protocolos de tratamiento en animales de compañía se han basado en los que han resultado efectivos contra *H. pylori* en humanos, pero alguno de estos

regímenes causan solo supresión transitoria en vez de erradicación de la bacteria en perros (Cuadro 3). Los regímenes varían desde los 3 días hasta los 14 días, con porcentaje de eliminación de la bacteria muy variable. Dichos regímenes terapéuticos están basados en la inhibición de la bomba de protones y en la aplicación de antibioterapia mixta, acompañada del uso de probióticos. (4, 5, 10)

**Cuadro 3.** Protocolos utilizados para el tratamiento farmacológico de Helicobacteriosis en caninos.

ANTIBIÓTICO	ADYUVANTE	INFORMACIÓN
Amoxicilina Metronidazol	Subsitrato de bismuto	Hay erradicación de la bacteria en la mayoría de caninos tratados.
Tetraciclina	Omeprazol	
Amoxicilina Metronidazol	Famotidina	Suspensión transitoria de la bacteria sin erradicarla.
Tilosina	Sucralfato o cimetidina	Hay reducción de la bacteria pero no erradicación.

(4)

## **V. MATERIALES Y MÉTODOS**

### **5.1. Materiales**

#### **5.1.1. Recursos humanos**

- Estudiante investigadora
- Profesionales asesores de trabajo de graduación
- Técnico de laboratorio

#### **5.1.2. Recursos biológicos**

- 25 biopsias de perro tomadas de la zona fúndica o fondo.

#### **5.1.3. Recursos de campo**

- Vehículo
- Hielera
- Hielo
- Lapiceros y marcadores permanentes
- Libreta de apuntes
- Cámara fotográfica

#### **5.1.4. Recursos de oficina**

- Computadora
- Fotocopiadora
- Impresora
- Papel

### **5.1.5. Recursos de laboratorio**

- Campana de flujo laminar
- Triturador inalámbrico
- Esterilizador de asas
- Incubadora a 37° C
- Jarra para anaerobiosis
- Congelador a -70° C
- Tubos ependorf estériles con capacidad de 1.5 ml
- Solución salina
- Batería de GRAM
- Placa Petri con agar sangre
- Agar urea
- Caldo Brucella
- Láminas portaobjetos
- Tiras para determinar oxidasa
- Guantes
- Bata blanca

## **5.2. Metodología**

### **5.2.1. Diseño del estudio**

Estudio descriptivo de corte transversal.

### **5.2.2. Muestreo**

Se recibieron 25 muestras tomadas mediante endoscopia digestiva y biopsia a nivel del antro pilórico o antro gástrico (como es llamado en algunas literaturas) de perros con signos de gastritis o problemas gástricos que acudieron a consulta

en las diferentes ubicaciones del centro clínico veterinario Palvet (zona 10, zona 15 y kilómetro 14 carretera a El Salvador). Dichas muestras fueron tomadas por el Médico Veterinario encargado del centro clínico veterinario, quien utilizó la metodología y protocolo anestésico de su elección.

Conforme se fueron obteniendo las muestras estas fueron llevadas al Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, utilizando como medio de transporte caldo Brucella.

### **5.2.3 Metodología de laboratorio**

- Las muestras obtenidas fueron colocadas en tubos ependorf estériles de 1.5 ml (las que no se cultivaron de inmediato se colocaron en congelación a  $-60^{\circ}\text{C}$ , hasta el momento de su análisis).
- Se le agregó 50 microlitros de solución salina estéril, se homogenizó con el triturador inalámbrico, se añadió otros 50 microlitros más de solución salina y se homogenizó nuevamente.
- Se tomaron 50 microlitros para sembrar en agar sangre por agotamiento
- La incubación se realizó a  $37^{\circ}\text{C}$ , utilizando la jarra de anaerobiosis, colocándole un sobre de anaerogen, creando así un ambiente de anaerobiosis, lo cual es ideal para el crecimiento de *Helicobacter* spp.
- Después de 8 a 10 días de incubación, se identificaron las colonias, pudiendo saber si existe o no la presencia de *Helicobacter* spp en la muestra tomada. Se realizó la tinción de Gram para determinar sus características microscópicas.

- A las colonias obtenidas en el cultivo que poseían características macroscópicas de *Helicobacter* spp se le realizaron las pruebas bioquímicas siguientes: prueba de ureasa y prueba de oxidasa.

#### **5.2.4. Análisis de datos**

Por medio de estadística descriptiva se estimaron proporciones de perros positivos y negativos a la presencia de *Helicobacter* spp y la información se resumió por medio de cuadros y gráficas.

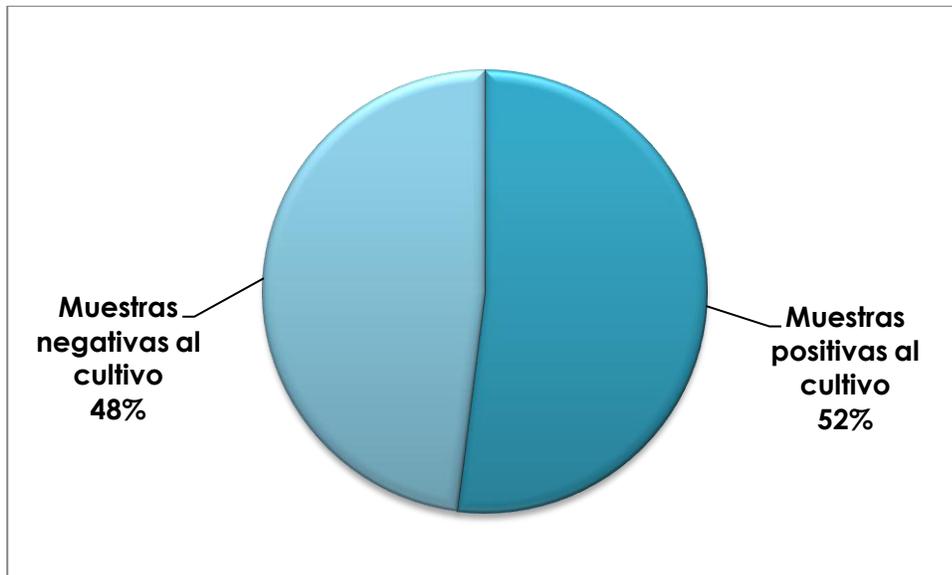
## VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las 25 muestras obtenidas por biopsia gástrica, fueron analizadas en el Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Medicina Vetrinaria y Zootecnia de la Universidad de San Carlos de Guatemala, realizando un cultivo en agar sangre, incubado a una temperatura de 37 °C y en un ambiente de anaerobiosis, lo cual es ideal para el crecimiento de *Helicobacter spp*, según Julio Thibaut y col. en 2007. Después de 8 a 10 días de incubación se obtuvieron 13 muestras positivas al cultivo (52%), observándose crecimiento característico de colonias de *Helicobacter spp*: aproximadamente de 1 mm de diámetro, traslucidos, brillantes y convexos. (Ver cuadro No.1 y gráfica No.1)

**Cuadro No. 1** Resultados de cultivo en agar sangre realizado a 25 muestras.

	<b>Muestras positivas</b>	<b>%</b>	<b>Muestras negativas</b>	<b>%</b>	<b>Total de muestras</b>
<b>Cultivo en agar sangre</b>	13	52	12	48	25

**Figura No. 1** Resultados de cultivo en agar sangre correspondiente a 25 muestras.



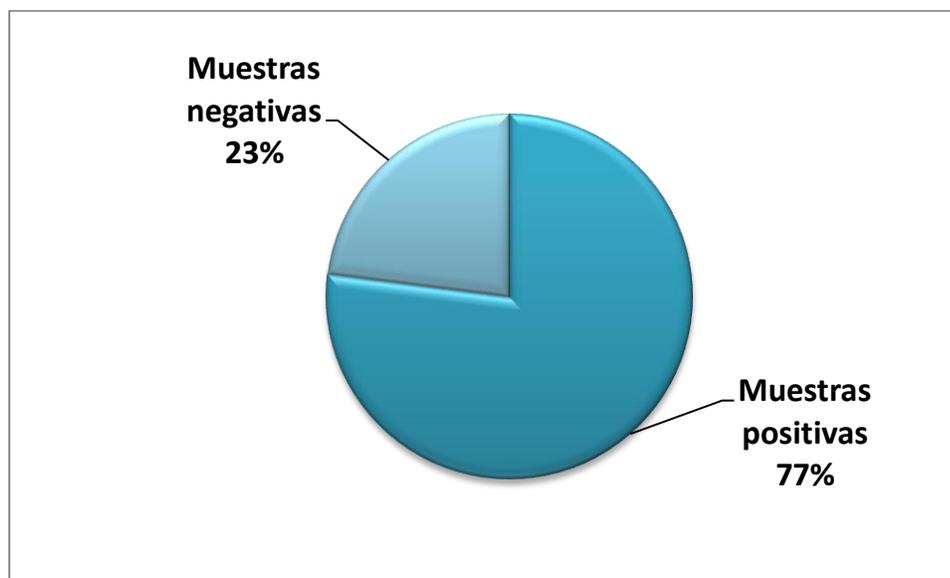
A los cultivos con crecimiento característico de *Helicobacter* spp (13 muestras) se les realizó la Coloración de Gram, de la cual se obtuvo una clasificación Gram negativa en todas las muestras.

Con frecuencia, la identidad de una especie requiere que se conozca de manera detallada su actividad bioquímica, por lo que a los cultivos con crecimiento característico se realizaron las pruebas bioquímicas de ureasa y de oxidasa, de las cuales se obtuvieron 10 muestras con actividad de ureasa positiva y 3 negativa. La actividad de oxidasa en todas las muestras fue positiva (Ver cuadro No.2 y figuras No.2 y 3).

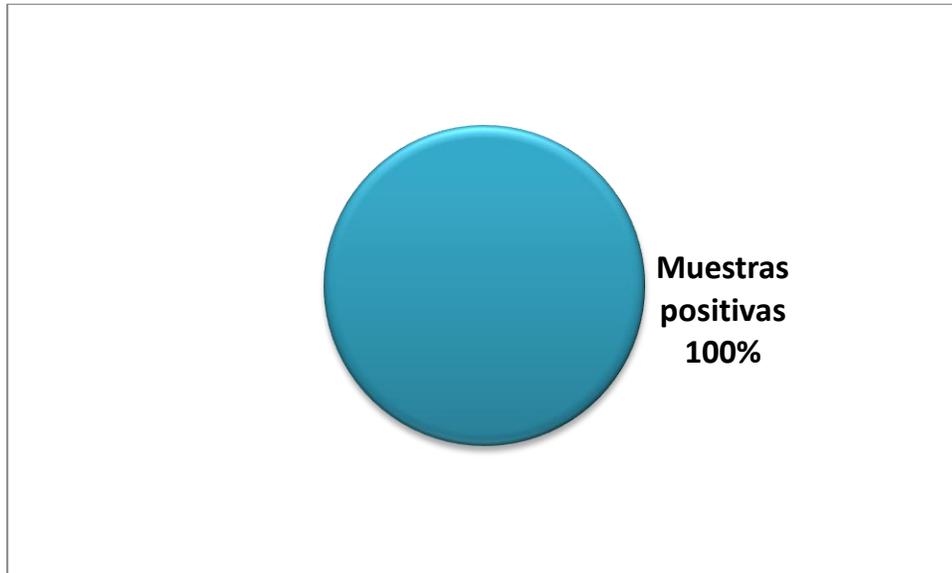
**Cuadro No. 2** Resultados de pruebas bioquímicas ureasa y oxidasa realizadas a las 25 muestras.

	<b>Muestras positivas</b>	<b>%</b>	<b>Muestras negativas</b>	<b>%</b>	<b>Total de muestras</b>
<b>Ureasa</b>	10	77	3	23	13
<b>Oxidasa</b>	13	100	0	0	13

**Figura No. 2** Resultados de prueba bioquímica ureasa correspondiente a 13 muestras.



**Figur No. 3** Resultados de prueba bioquímica oxidasa correspondiente a 13 muestras.



A las 13 muestras positivas al cultivo se les realizó las pruebas bioquímicas ureasa y oxidasa, y el 77% fueron positivas a ambas pruebas, lo que coincide con las características de *H. pylori*, *H. heilmannii*, *H. bizzozeronii*, *H. felis*, *H. salomonis* y *H. bilis*. En el 23% restante se obtuvieron 3 muestras ureasa negativo y oxidasa positivo, entre las especies que poseen esta característica se encuentran *H. cinaedi*, *H. fennelliae*, *H. canis* y *H. canadensis*, todas estas según la literatura encontradas en humano.

Las pruebas realizadas confirman la presencia de *Helicobacter* spp en perros de la Ciudad de Guatemala que acudieron a consulta veterinaria con signos de problemas gástricos agudos o crónicos.

El haber aislado *Helicobacter* spp en perros de la Ciudad de Guatemala por medio del presente estudio, es un hallazgo de gran importancia en la Medicina

Veterinaria y en Medicina Humana, ya que la *Helicobacter* spp es un riesgo zoonótico. Investigaciones aseguran que se ha aislado *Helicobacter pylori* del estómago de perros infectados experimentalmente, por lo que no se descarta una infección natural. También se ha dicho que los perros actúan como reservorio en la transmisión de *Helicobacter heilmannii* a humanos, lo cual es congruente en los hallazgos encontrados en esta investigación.

## VII. CONCLUSIONES

- En la presente investigación se determinó que en el 52% del total de las muestras analizadas existía presencia de *Helicobacter* spp, confirmándose así la hipótesis planteada.
- En la presente investigación se determinó por medio de cultivo que el 52% de las muestras analizadas existía presencia de *Helicobacter* spp, las cuales al realizarles las pruebas bioquímicas ureasa y oxidasa 77% fueron positivas a ambas pruebas, lo que coincide con las características de *H. pylori*, *H. heilmannii*, *H. bizzozeronii*, *H. felis*, *H. salomonis* y *H. bilis*. En el 23% restante la reacción fue ureasa negativo y oxidasa positivo, siendo sospechosa a las siguientes especies *H. cinaedi*, *H. fennelliae*, *H. canis* y *H. canadensis*, todas estas según la literatura encontradas en humano.
- En el presente estudio únicamente se logró agrupar las especies de *Helicobacter*, por no contar con la prueba de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) específica para la diferenciación de las especies aisladas.

## VIII. RECOMENDACIONES

- En pacientes con signos gástricos agudos o crónicos realizar investigación de la presencia de *Helicobacter* spp, y tomar en cuenta que la falta de signos clínicos obvios no indica que el paciente esté libre de *Helicobacter* spp.
- Es un hecho que la mascota más común en los hogares de la Ciudad de Guatemala actualmente es el perro, por lo que ésta especie requiere de una atención especial en Medicina Veterinaria debido su continuo contacto con el humano, siendo de importancia conocer acerca de las diferentes especies del género *Helicobacter* spp que afectan al perro y considerar el riesgo zoonótico de estas, para una posterior prevención de la transmisión al ser humano.
- Realizar estudios para la estandarización y validación de una técnica no invasiva y de rápidos resultados para ser usada en el diagnóstico de Helicobacteriosis en caninos.
- Contar con PCR específica para la diferenciación de especies en futuras investigaciones.

## IX. RESUMEN

Los perros requieren de atención especial en Medicina Veterinaria por su continuo contacto con los humanos. Es entonces importante conocer sobre las diferentes especies de *Helicobacter* spp que afectan al perro (de las cuales su estudio es limitado), y así mismo considerar el riesgo de transmisión entre humano y perro.

Este estudio tiene como propósito conocer acerca de las diferentes especies de *Helicobacter* spp que afectan a perros en la ciudad de Guatemala. Para ello se procesaron 25 muestras tomadas por biopsia del antro gástrico de perros con signos gástricos que acudieron al centro clínico veterinario Palvet.

Las muestras fueron cultivadas en agar sangre, y a las colonias con características de *Helicobacter* spp se les realizó pruebas bioquímicas de ureasa y oxidasa.

En el presente estudio se analizó por estadística descriptiva, estimando proporciones de perros positivos y negativos a presencia de *Helicobacter* spp y la información se presenta en cuadros y gráficas.

Por medio de cultivo se estableció presencia de *Helicobacter* spp en un 52% de las muestras analizadas, de las cuales 77% fueron ureasa (+) y oxidasa (+), lo que sugiere la presencia de *H. pylori*, *H. heilmannii*, *H. bizzozeronii*, *H. felis*, *H. salomonis* y *H. bilis*. El 23% restante fueron ureasa (-) y oxidasa (+), siendo sospechosas a presencia de *H. cineadi*, *H. fennelliae*, *H. canis* y *H. canadensis*, todas estas presentes en el ser humano según la literatura.

## SUMMARY

Dogs require special attention in Veterinary Medicine for their continued contact with humans. It is then important to know about the different species of *Helicobacter* spp affecting dogs (which its study is limited), and likewise consider the risk of transmission between human and dog.

This study aims to learn about the different species of *Helicobacter* spp affecting dogs in the city of Guatemala. There were 25 biopsy samples made of dogs' gastric antrum that had gastric signs attending to the veterinary clinic center Palvet.

The samples were cultured on blood agar, and the colonies with *Helicobacter* spp characteristics underwent biochemical tests for urease and oxidase.

The present study was analyzed by descriptive statistics, estimating proportions of positive and negative dogs with *Helicobacter* spp, and the information is presented in tables and graphs.

Throughout cultivation, the presence of *Helicobacter* spp was established in 52% of the samples analyzed, of which 77% were urease (+) and oxidase (+), suggesting the presence of *H. pylori*, *H. heilmannii*, *H. bizzozeronii*, *H. felis*, *H. salomonis* and *H. bilis*. The remaining 23% were urease (-) and oxidase (+), being suspicious of *H. cineadi*, *H. fennelliae*, *H. canis* and *H. Canadensis*, all of these present in human according to literature .

## X. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Baker, DG. 2003. Natural pathogens of laboratory animals: their effects on research (en línea). Estados Unidos. Consultado 20 feb. 2012. Disponible <http://books.google.com.gt/books?id=EeHcWpPqGtsC&pg=PA45&dq=helicobacter+spp&hl=es&sa=X&ei=RU9yT6beLMWtwfHxazHDw&ved=0CC0Q6AEwAA#v=onepage&q=helicobacter%20spp&f=false>
2. Caldas, L. Tinción de Gram (en línea). Colombia. Consultado 18 oct. 2011. Disponible en [http://facultadsalud.unicauca.edu.co/Documentos2010/DptoMedInt/Tencion\\_de\\_gram.pdf](http://facultadsalud.unicauca.edu.co/Documentos2010/DptoMedInt/Tencion_de_gram.pdf)
3. Cardona, J. 2013. Actualización sobre Helicobacteriosis en animales. Parte 3. Diagnóstico y tratamiento. Revista electrónica de Veterinaria 18(8):1-18p.
4. Dworkin, M. The Prokaryotes: Vol. 7 (en línea). Estados Unidos. Consultado 16 dic. 2013. Disponible en <http://books.google.com.gt/books?id=LcCqW4lVj0C&pg=PA159&dq=helicobacter+canadensis+urease+y+catalase&hl=es419&sa=X&ei=f6LIUq2DBsnW2gXOihHIBA&ved=0CCwQ6AEwAA#v=onepage&q=helicobacter%20canadensis%20urease%20y%20catalase&f=false>
5. Espinal, G. 2005. Manual de Prácticas de Microbiología I. República Dominicana. Instituto Tecnológico de Santo Domingo. 14 p.
6. Faddin, M. 2003. Pruebas Bioquímicas para la identificación de Bacterias de Importancia Clínica. 3 ed. Panamericana. España. 344-345 p.
7. Fernández, H. 2011. Género Helicobacter: un género en expansión, con características zoonóticas. Chile. 2(1): 11-20 p.

8. Gómez, LF; Orozco, S; Salas, SA. 2006. Helicobacteriosis canina y felina (en línea). México. Consultado 16 oct. 2011. Disponible en <http://www.medigraphic.com/pdfs/vetmex/vm-2006/vm061h.pdf>
9. Gómez, LF; Orozco, SC. 2003. Helicobacter spp. en un perro con vómito crónico. Reporte de un caso. Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias. 16: 70-77.
10. Hernández, CA; Gallón, G. 2004. Helicobácteres gástricos de perros y gatos: mínimo riesgo en salud pública. Colombia. Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias. Colombia. 17(3): 267-272 p.
11. Hernández, F. s.f. Caracterización de Campilobacter, Helicobacter y bacterias curvadas asociadas con gastritis y úlceras pépticas. Costa Rica. 11(3): 49-56 p.
12. Jalava, K; Kaartinen, M; Utriainen, M. 2007. *Helicobacter salomonis* sp. nov., a Canine Gastric *Helicobacter* sp Related to *Helicobacter felis* and *Helicobacter bizzozeronii*. 47 (4): 975-982.
13. Macenlle, RM. s.f. Prevalencia de la infección por Helicobacter pylori en la población general adulta de la provincia de Ourense y estudio de factores de riesgo asociados (en línea). Consultado 22 feb. 2012. Disponible en [http://books.google.com.gt/books?id=t0jaOC\\_EAJMC&printsec=frontcover&hl=es&source=gbs\\_ge\\_summary\\_r&cad=0#v=onepage&q&f=false](http://books.google.com.gt/books?id=t0jaOC_EAJMC&printsec=frontcover&hl=es&source=gbs_ge_summary_r&cad=0#v=onepage&q&f=false)
14. Morales, AA; García, F; Bermúdez, V. 2010. El género Helicobacter en los animales domésticos: una revisión. Revista del Instituto Nacional del Higiene Rafael Rangel. 41(2): 63-70

15. Neiger, R; Simpson, K. 2000. Helicobacter Infection in Dogs and Cats: Facts and Fiction. J Vet Intern Med14:125-133p.
16. Odriozola, V. s.f. Helicobacter gástrico en caninos y felinos. s.n.t.
17. Polanco, RR; Bermúdez, VM; Vivas I; Saldivia, CM; Arévalo, L. 2006. Lesiones gástricas asociadas a la presencia de bacterias del género Helicobacter en caninos. Revista científica. 16(6): 585-592.
18. Premoli, G; González, A; Millán-Mendoza, B; Percoco, T; Vielma, A. 2004. Diagnóstico de *Helicobacter pylori* mediante la reacción en cadena de la polimerasa. Revista cubana de medicina tropical. 56(2): 85-90.
19. Quiroga, AL; Urrutia Cid, P; Merino Muñoz, V; Tobar Villanueva, J; García Cancino, A. 2009. Relación entre el grado de contacto perro-propietario y la carga de helicobacterias en mucosa gástrica canina. Revista Científica. Chile. 19(5):455-459
20. Rodríguez-Franco, F; García-Sancho, M; Delgado, J; Sainz, A. 2003. Estudio de prevalencia de Helicobacter spp. en 70 perros mediante test de ureasa. España. 23(2): 101-106 p.
21. Royo García, G. s.f. Helicobacter pylori: aportación al estudio microbiológico, epidemiológico y patogénico. España. 73-74 p.
22. Thibaut, J; Paz, V; Paredes, E; Ernst, S. 2007. Determinación de la presencia de Helicobacter spp. en perros, mediante biopsia gástrica obtenida por endoscopia. Revista Científica. 17(3):217-225
23. Valdés, A. s.f. Helicobacteriosis. Chile, s.e. 6 p.

24. Valdés, A; Astudillo, M. 2007. Helicobacter pylori y organismos Helicobacter heilmannii: ¿Qué rol juegan en perros y gatos?. Chile. 72-83p.

# **XI. ANEXOS**

**DETERMINACIÓN DE LA PRESENCIA E IDENTIFICACIÓN DE *Helicobacter* spp EN PERROS (*Canis lupus familiaris*) DE LA CIUDAD DE GUATEMALA QUE ACUDAN A LA CONSULTA VETERINARIA CON SIGNOS DE PROBLEMAS GÁSTRICOS AGUDOS O CRÓNICOS.**

Cuadro de recepción de muestras

<b>No. de muestra</b>	<b>Fecha de toma de muestra</b>	<b>Observaciones del paciente</b>
1		
2		
3		
4		
5		
6		
7		
8		
9		
10		
11		
12		
13		
14		
15		
16		
17		
18		
19		
20		
21		
22		
23		
24		
25		

**DETERMINACIÓN DE LA PRESENCIA E IDENTIFICACIÓN DE *Helicobacter* spp EN PERROS (*Canis lupus familiaris*) DE LA CIUDAD DE GUATEMALA QUE ACUDAN A LA CONSULTA VETERINARIA CON SIGNOS DE PROBLEMAS GÁSTRICOS AGUDOS O CRÓNICOS.**

Cuadro de resultados de cultivo

No. de muestra	Crecimiento	
	Positivo	Negativo
1		
2		
3		
4		
5		
6		
7		
8		
9		
10		
11		
12		
13		
14		
15		
16		
17		
18		
19		
20		
21		
22		
23		
24		
25		

**DETERMINACIÓN DE LA PRESENCIA E IDENTIFICACIÓN DE *Helicobacter* spp EN PERROS (*Canis lupus familiaris*) DE LA CIUDAD DE GUATEMALA QUE ACUDAN A LA CONSULTA VETERINARIA CON SIGNOS DE PROBLEMAS GÁSTRICOS AGUDOS O CRÓNICOS.**

Cuadro de resultados de coloración GRAM

No. de muestra	Crecimiento	
	Positivo	Negativo
1		
2		
3		
4		
5		
6		
7		
8		
9		
10		
11		
12		
13		
14		
15		
16		
17		
18		
19		
20		
21		
22		
23		
24		
25		

**DETERMINACIÓN DE LA PRESENCIA E IDENTIFICACIÓN DE *Helicobacter* spp EN PERROS (*Canis lupus familiaris*) DE LA CIUDAD DE GUATEMALA QUE ACUDAN A LA CONSULTA VETERINARIA CON SIGNOS DE PROBLEMAS GÁSTRICOS AGUDOS O CRÓNICOS.**

Tabla de resultados de pruebas bioquímicas

No. de muestra	Nombre de la prueba	
	Ureasa	Oxidasa
1		
2		
3		
4		
5		
6		
7		
8		
9		
10		
11		
12		
13		
14		
15		
16		
17		
18		
19		
20		
21		
22		
23		
24		
25		