

**IDENTIFICAÇÃO DE *Helicobacter* spp. EM MUCOSAS GÁSTRICA E DUODENAL DE CÃES (*Canis familiaris*) UTILIZANDO A TÉCNICA DE WARTHIN-STARRY**

**IDENTIFICATION OF *Helicobacter* spp. ON GASTRIC AND DUODENAL MUCOSA OF DOGS (*Canis familiaris*) BY WARTHIN-STARRY TECHNIQUE**

Fernanda Silva Kuzzkowski<sup>1</sup>  
Fernando Soares da Silva<sup>1</sup>  
Neli Branco de Miranda<sup>1</sup>  
Tiffany Christiny Emmerich da Silva<sup>1</sup>  
Joelma Lucioli<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Universidade Regional de Blumenau, Blumenau, SC, Brasil.

\*Autora para correspondência - dra.lucioli@gmail.com

**Resumo**

Bactérias do gênero *Helicobacter* spp. têm sido identificadas na mucosa gástrica de diferentes espécies de mamíferos, inclusive em caninos. Pacientes infectados têm gastrite histológica; no entanto, não são todos os portadores que apresentam sinais clínicos. O objetivo deste trabalho foi identificar as bactérias sugestivas de *Helicobacter* spp. pela impregnação pela prata e caracterizar as lesões histopatológicas observadas. Foram analisadas amostras de mucosas gástrica e entérica de 26 caninos. Para avaliação histopatológica, foi realizada avaliação qualitativa, na qual foram atribuídos escores de ausente (-) a acentuada (+++), considerando a densidade de bactérias espiraladas por campo (400x), presença de células inflamatórias e aglomerados linfóides. Dos 26 animais avaliados, 34,6% apresentaram positividade para helicobacteriose. A gastrite foi observada em 15,38% dos animais e a maior ocorrência de bactérias do gênero *Helicobacter* spp. foi observada em região de corpo/fundo gástrico (23%). Em nove amostras, seis de corpo/fundo gástrico e três de antro pilórico, foram observados aglomerados linfóides associados a *Helicobacter* spp. Por meio de Teste de Fisher, verificou-se associação positiva entre a presença de *Helicobacter* spp. e aglomerados linfóides ( $p < 0,001$ ). A infecção por *Helicobacter* spp. está associada com a presença de aglomerados linfóides em caninos.

**Palavras-chave:** bactéria espiralada; cães; estômago; histoquímica; intestino.

**Abstract**

Bacteria of the genus *Helicobacter* spp. have been identified on the gastric mucosa of different species of mammals, including canines. Infected patients have histological gastritis; however, not all the animals that carry the bacteria show clinical signs. The objective of this work was to

identify the bacteria suggestive of *Helicobacter* spp. by impregnation by silver and to characterize the histopathological lesions observed. Qualitative evaluation was performed for histological analysis, in which scores from absent (-) to severe (+++) were attributed, considering the density of spiral bacteria per field (400x), presence of inflammatory cells, and number of lymphoid aggregates. Of the 26 animals evaluated, 34.6% presented positivity for helicobacteriosis. Gastritis was observed in 15.38% of the animals and a higher occurrence of bacteria of the genus *Helicobacter* spp. was observed in the gastric body/fundus region (23%). In nine samples, six from gastric body/fundus and three from antrum pylorus, lymphoid clusters associated with *Helicobacter* spp. were observed. Fisher's Test revealed a positive association between the presence of *Helicobacter* spp. and lymphoid aggregates ( $p < 0.001$ ). Infection by *Helicobacter* spp. is associated with the presence of lymphoid aggregates in canines.

**Keywords:** dogs; histochemistry; intestine; spiral bacteria; stomach.

Recebido em: 12 março de 2016

Aceito em: 16 maio de 2017

## Introdução

Bactérias do gênero *Helicobacter* spp. têm sido observadas há mais de um século. Foram primeiramente consideradas da espécie *Campylobacter* spp. e, posteriormente, em 1989, como do gênero *Helicobacter*, pertencente à família *Helicobacteraceae*, da classe *Epsilonproteobacteria*<sup>(1)</sup>. Estes organismos são Gram-negativos, microaerófilos, curvados ou em espirais, não-sacarolíticos, oxidase-positivos (em exceção de *H. canis*), catalase e urease-positivos, sendo esta última reação uma característica marcante do gênero<sup>(1-3)</sup>.

Na mucosa gástrica, estas bactérias adaptaram-se a viver no meio ácido e passaram a produzir urease, que induz a produção de amônia e age como receptor de íons  $H^+$ , propiciando o desenvolvimento de pH neutro no interior da bactéria. Com isso, a *Helicobacter* spp. é capaz de resistir à acidez gástrica<sup>(4)</sup>.

A prevalência da infecção por helicobactérias em cães varia de 82% a 100%<sup>(5-7)</sup>. Já foram identificadas *H. felis*, *H. bizzozeronii*, *H. salomonis*, *H. rappini*, *H. heilmannii*, *H. canis*, *H. cynogastricus* e *H. marmotae*. Em animais com gastrite foram isoladas *H. felis*, *H. bizzozeronii* e *H. heilmannii*, sendo a *H. bizzozeronii* a espécie mais prevalente em biópsias gástricas de cães<sup>(8,9)</sup>. Embora estejam comumente associadas à mucosa gástrica, algumas espécies como *H. canis* podem colonizar também o trato hepatobiliar<sup>(6,10)</sup>.

Em sua maioria, as espécies de *Helicobacter* spp. não possuem um reservatório animal ou ambiental específico. Seu hospedeiro principal é o ser humano; no entanto, já foram observadas em algumas outras espécies de mamíferos como cães, gatos, furões, primatas não humanos, suínos, golfinhos e guepardos<sup>(1,11,12)</sup>.

Mesmo diante dos estudos até então realizados, a patogenicidade da *Helicobacter* spp. ainda é considerada incerta em doenças gastrointestinais nos animais. Há anos que bactérias desse gênero são encontradas em mucosa gástrica de cães, porém a relação entre as mesmas com a doença gástrica ainda é incerta<sup>(13)</sup>. Segundo Quinn<sup>(2)</sup> e Barr e Bowman<sup>(3)</sup>, as infecções causadas pela

*Helicobacter* spp. em cães podem estar associadas a alterações inflamatórias, degeneração glandular e úlceras gástricas.

O *H. pylori* em humanos possui diversidade genotípica e todas as suas cepas são capazes de levar ao desenvolvimento de um processo inflamatório na mucosa gástrica, com mediadores e ocitocinas que podem causar resposta inflamatória em vários níveis no hospedeiro<sup>(4)</sup>. Dessa forma, os sinais clínicos observados podem variar desde vômitos, anorexia, apetite depravado, eructação, dor abdominal e perda de peso e, em alguns casos, severo emagrecimento e diarreia<sup>(3,14,15)</sup>. Na maioria dos casos, os animais infectados por helicobactérias são clinicamente saudáveis, tornando muitas vezes difícil a relação direta entre a causa e o efeito da doença clínica<sup>(15)</sup>.

O objetivo deste trabalho é verificar a presença de bactérias do gênero *Helicobacter* spp. e identificar lesões histopatológicas na mucosa gástrica e duodenal de cães necropsiados no Hospital Escola Veterinário – FURB/Blumenau.

## Material e Métodos

O presente estudo do tipo experimental transversal foi realizado com amostras de estômago e intestino de 26 cães, machos e fêmeas, necropsiados no Laboratório de Patologia Veterinária do Hospital Escola Veterinário – FURB/Blumenau, independente de histórico clínico associado ou não a distúrbios gastrointestinais. Foram coletadas amostras gástricas (corpo/fundo e antro pilórico) e intestinais (duodeno), fixadas em solução de formalina tamponada a 10%, por 24 horas. As amostras foram submetidas a preparo histológico de rotina e secções de três micrômetros (3 µm) de espessura, foram coradas por hematoxilina-eosina (HE) e Warthin-Starry (WS) modificado<sup>(16)</sup> para caracterização histológica e pesquisa de bactérias espiraladas, respectivamente. Utilizando-se microscópio óptico, as alterações histológicas e sua intensidade foram avaliadas de acordo com a presença de agregados linfocitários, intensidade do infiltrado inflamatório e o tipo de células inflamatórias presentes<sup>(17,18)</sup>.

A intensidade do infiltrado inflamatório em cada uma das regiões estudadas foi avaliada de acordo com o seguinte escore proposto por Happonen et al.<sup>(17)</sup>: (-) *ausente*, até 4 células inflamatórias; (+) *discreto*, 5 a 15 células inflamatórias; (++) *moderado*, 16 a 25 células inflamatórias; ou (+++) *acentuado*, mais de 26 células inflamatórias por campo visual. A mucosa gástrica foi considerada normal quando da presença de 0 a 4 linfócitos esparsos e ausência de até 4 neutrófilos e/ou eosinófilos, ausência de agregados linfocitários e sem alterações epiteliais. A gastrite foi classificada como discreta, quando infiltrado de 5 a 15 células inflamatórias; moderada, quando infiltrado de 16 a 25 células inflamatórias ou acentuada quando infiltrado igual ou superior a 26 células inflamatórias.

As lâminas submetidas à WS foram avaliadas quanto à morfologia e contagem de bactérias sugestivas de *Helicobacter* spp. presentes em cada uma das regiões analisadas, levando-se em conta a distribuição da mucosa gástrica e duodenal, em três campos visuais aleatórios e com objetiva de 100x. A intensidade da colonização bacteriana seguiu o escore demonstrado no Quadro 1.

**Quadro 1.** Identificação de *Helicobacter* spp. em mucosas gástrica e duodenal de cães utilizando método de impregnação pela prata (WS). Intensidade de colonização da mucosa gástrica e intestinal, de acordo com a densidade de bactérias espiraladas

ESCORE*	DESCRIÇÃO
(-)	0 bactérias por campo visual
(+)	1 a 5 bactérias por campo visual
(++)	6 a 15 bactérias por campo visual
(+++)	Mais de 16 bactérias por campo

\*(-) ausente, (+) leve, (++) moderado e (+++) acentuada.

O teste Exato de Fisher foi utilizado para verificar se a presença de *Helicobacter* spp. estava associada à formação de aglomerados linfóides, congestão e infiltrado inflamatório. Considerando um nível de significância de  $p \leq 0,05$ .

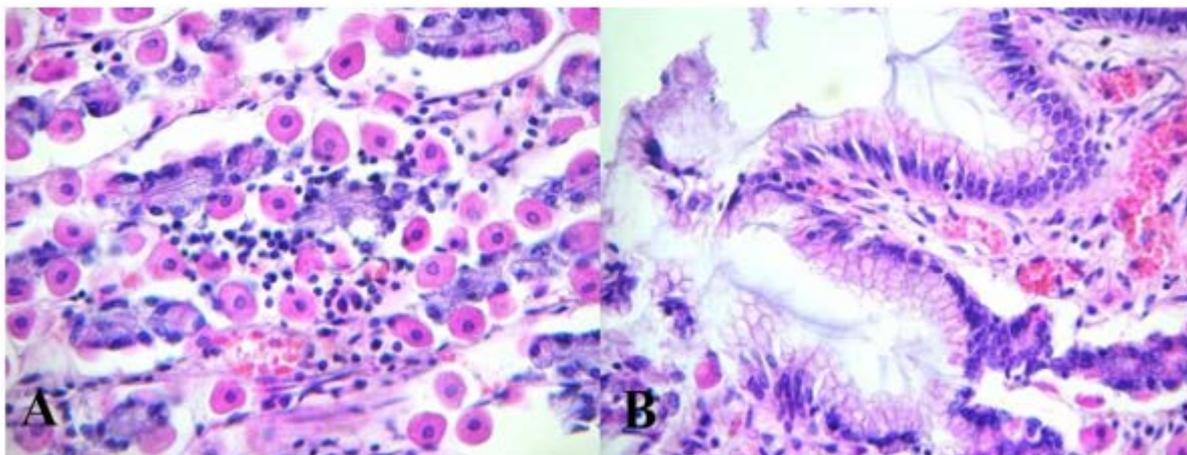
## Resultados e Discussão

Ao todo foram coletadas 78 amostras de tecidos, sendo 26 de corpo/fundo gástrico, 26 de antro pilórico e 26 de duodeno, que foram fixadas em solução formalina a 10% por 24 horas e coradas pelas técnicas de HE e WS.

Não foram observadas alterações macroscópicas em nenhuma das amostras de estômago e intestinos coletadas. Entretanto, por meio da histopatologia foram observados agregados linfocitários em 23% (6/26) das amostras de corpo/fundo gástrico e em 11,5% (3/26) de antro pilórico; congestão de intensidade variando de discreta a moderada em 19,2% (5/26) das amostras de corpo/fundo gástrico e em 7,7% (2/26) de antro pilórico e infiltrado linfoplasmocitário multifocal discreto em 11,5% (3/26) das amostras de corpo/fundo gástrico e moderado em 3,8% (1/26) de antro pilórico. Nas amostras de duodeno foi observada congestão moderada e infiltrado linfoplasmocitário difuso moderado em 11,5% (3/26) das amostras analisadas (Figura 1).

Por meio de WS, nove amostras (34,6%) apresentaram positividade para helicobacteriose. Bactérias espiraladas foram visualizadas na camada superficial de muco e superfície do epitélio glandular, nas regiões gástricas de corpo/fundo (6/26), antro pilórico (3/26) e em duodeno (1/26), conforme demonstrado na Tabela 1.

Tais achados vão de encontro aos observados em outras pesquisas que afirmam que essa bactéria atinge normalmente a camada de muco que recobre a mucosa do estômago em epitélio superficial e criptas gástricas<sup>(8)</sup> e interior de glândulas<sup>(8,10)</sup>. Destacamos ainda que as estruturas alongadas ao serem visualizadas em objetiva de maior aumento (100x) demonstravam conformação espiralada, compatível com *Helicobacter* spp.



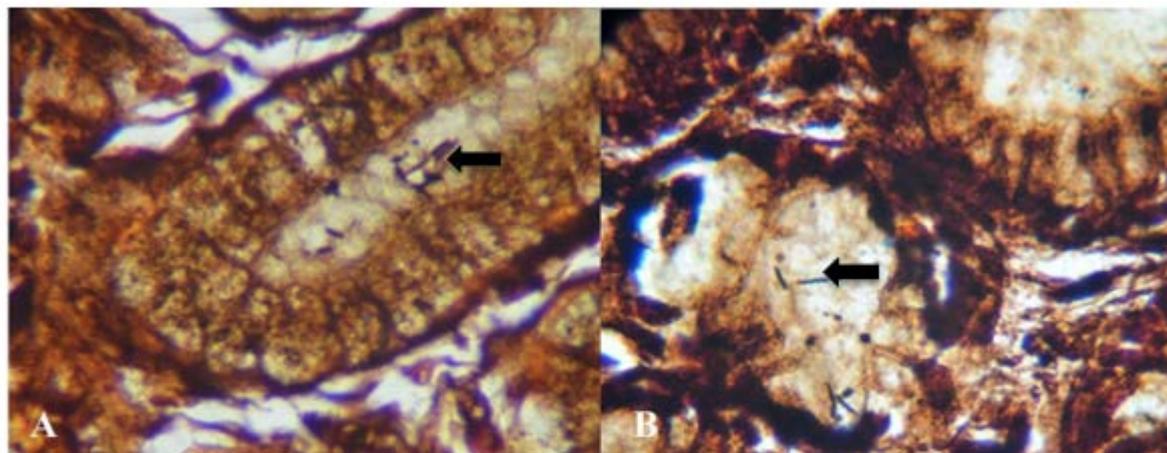
**Figura 1.** Fotomicrografias de mucosa gástrica de cães. (A) Infiltrado linfoplasmocitário moderado em fragmento de corpo/fundo gástrico, HE obj. 40x. (B) Congestão moderada em fragmento de corpo/fundo gástrico, HE, obj. 40x.

**Tabela 1.** Avaliação da intensidade de colonização pela bactéria *Helicobacter* spp na região do corpo/fundo gástrico e antro pilórico e na região do duodeno de caninos

Intensidade Colonização*	Região Gástrica				Região Intestinal Duodeno	
	Corpo/Fundo		Antro Pilórico		(n)	(%)
	(n)	(%)	(n)	(%)	(n)	(%)
(-)	20	76,9	23	88,5	25	96,2
(+)	04	15,5	02	7,7	1	3,8
(++)	00	-	00	-	0	-
(+++)	02	7,6	01	3,8	0	-
<b>TOTAL</b>	<b>26</b>	<b>100</b>	<b>26</b>	<b>100</b>	<b>26</b>	<b>100</b>

\*(-) ausente, (+) leve, (++) moderado e (+++) acentuada.

A colonização das mucosas gástrica e entérica pela *Helicobacter* spp. foi classificada como sendo leve em 14,4% (4/26) das amostras de corpo/fundo gástrico, 7,7% (2/26) de antro pilórico e 3,8% (1/26) de duodeno. Em 7,6% (2/26) das amostras de corpo/fundo gástrico e 3,8% (1/26) de antro pilórico, foram visualizadas mais de 16 bactérias espiraladas por campo visual, caracterizando assim a colonização acentuada (Figura 2). Assim como Moutinho e colaboradores<sup>(7)</sup>, que observaram um maior número de bactérias do gênero *Helicobacter* spp. em região do corpo (62%) e fundo gástrico (82%), a maior ocorrência de bactérias do gênero *Helicobacter* spp. no presente estudo foi nessa região, representando 23% (6/26) das amostras avaliadas. Já em região de antro pilórico foi observado que 11,5% (3/26) das amostras apresentavam a bactéria. A existência de bactérias espiraladas na mucosa gástrica pode não estar correlacionada com doenças digestivas do animal<sup>(19,20)</sup>, podendo, entretanto, ser uma fonte de disseminação dessas bactérias. A falta de sinais clínicos e lesões macroscópicas evidentes em caninos infectados nos levam a crer que a bactéria não seja tão patogênica para esses como são para os felinos, em que as lesões se assemelham às observadas em humanos.



**Figura 2.** Fotomicrografias de mucosa gástrica de cães. (A) Fotomicrografia evidenciando bactérias *Helicobacter* spp. (seta) em fragmento de corpo/fundo gástrico, WS, obj. 40x. (B) Fotomicrografia evidenciando bactérias *Helicobacter* spp. (seta) em fragmento de antro pilórico, WS, obj. 40x.

A região de corpo/fundo gástrico foi a mais acometida por lesões histopatológicas e também onde foram localizadas com maior frequência estruturas espiraladas, morfologicamente identificadas como *Helicobacter* spp, pela Técnica de Warthin-Starry, resultados esses que corroboram os achados de Handt et al.<sup>(21)</sup>.

Na Tabela 2 é possível confrontar as alterações histopatológicas observadas nos fragmentos de corpo/fundo gástrico, antro pilórico e duodeno com a presença de estruturas espiraladas compatíveis com *Helicobacter* spp. em diferentes intensidades de colonização. Nove cães apresentaram pelo menos um aglomerado linfóide e não mais que cinco em pelo menos uma região gástrica e em nenhum destes foi observado, de maneira associada, infiltrado inflamatório em mucosa. Entretanto, associado aos aglomerados linfóides, observou-se que seis animais apresentaram colonização leve e três, colonização acentuada de *Helicobacter* spp. A gastrite foi observada em apenas 15,38% (4/26) animais do nosso estudo, sendo que em 11,5% (3/26) dos casos era leve e em 3,84% (1/26) moderada. Em nenhum dos animais que apresentaram gastrite foram evidenciadas bactérias associadas. De acordo com Ülgen et al.<sup>(22)</sup>, não há relação entre carga bacteriana, sintomas clínicos e presença de *Helicobacter* spp. na mucosa gástrica, o que dificulta a avaliação da relação helicobacteriose e gastrite, permanecendo incerto seu significado patogênico, provavelmente associado à dependência da relação cepa e hospedeiro<sup>(19)</sup>. Estudos apontam a presença de *Helicobacter* spp. na saliva de cães com gastrite, o que indica que a saliva é uma potencial fonte da bactéria<sup>(23,24)</sup>. Apesar de não totalmente elucidado, suspeita-se que a infecção entre outros animais e seres humanos ocorra por via oral como, por exemplo, por meio de lambedura<sup>(24, 25)</sup>.

Dos sete animais que apresentaram infiltrado inflamatório do tipo linfoplasmocitário, em apenas um evidenciaram-se bactérias do gênero *Helicobacter* spp. e estas estavam localizadas no segmento duodeno.

**Tabela 2.** Alterações histopatológicas e densidade de bactérias observadas em fragmentos de corpo/fundo gástrico, antro pilórico e duodeno

Alteração Histopatológica	Intensidade de colonização de bactérias*				Valor de <i>p</i>
	(-)	(+)	(++)	(+++)	
<b>Congestão</b>					
Corpo/fundo gástrico	5	0	0	1	<i>p</i> < 0,001
Antro pilórico	2	0	0	1	<i>p</i> < 0,001
Duodeno	2	1	0	0	<i>p</i> < 0,001
<b>Agregados Linfóides</b>					
Corpo/fundo gástrico	0	4	0	2	<i>p</i> < 0,001
Antro pilórico	0	2	0	1	<i>p</i> < 0,001
Duodeno	0	0	0	0	<i>p</i> < 0,001
<b>Infiltrado Inflamatório</b>					
Corpo/fundo gástrico	3	0	0	0	<i>p</i> < 0,001
Antro pilórico	1	0	0	0	<i>p</i> < 0,001
Duodeno	2	1	0	0	<i>p</i> < 0,001

\*(-) ausente, (+) leve, (++) moderado e (+++) acentuada

Teste de Fisher significância quando  $p \leq 0,05$ .

Em relação aos aglomerados linfóides, em nosso estudo estes foram observados em nove amostras gástricas, sendo 06/26 de corpo/fundo gástrico e 3/26 de antro pilórico e, nessas amostras, por meio da técnica de WS, foram evidenciadas estruturas espiraladas compatíveis com *Helicobacter* spp. Por meio de Teste de Fisher, observou-se uma associação positiva entre a presença de *Helicobacter* spp. e agregados linfóides ( $p < 0,001$ ), o que corrobora com os achados de Handt et al.<sup>(21)</sup> e Mysorekar et al.<sup>(26)</sup>, que afirmaram que a hiperplasia de nódulos linfóides representa uma resposta local à presença da *Helicobacter* spp. Esse sim é um importante achado histopatológico, indicativo de comprometimento da mucosa gástrica diante da bactéria. Entretanto, nossos achados são controversos aos de Takemura et al.<sup>(9)</sup>, que em estudo semelhante constatou que existe associação entre os aglomerados linfóides e a helicobacteriose em felinos, mas não em caninos, e aumento da proliferação celular em ambas as espécies.

## Conclusões

Com base nos achados, fica evidente a associação entre a presença de bactérias e a formação dos aglomerados linfóides, o que representa uma resposta local do tecido diante do agressor. Mesmo assintomáticos, cães podem apresentar bactérias espiraladas em mucosa gástrica e duodenal, podendo, dessa forma, se comportarem como um importante reservatório e disseminador da bactéria para outros animais e até mesmo para humanos. Esse fato demanda uma especial atenção ao estudo do modo de transmissão da helicobacteriose entre espécies, visto que representa uma importante questão relacionada à saúde pública.

## Agradecimento

Ao Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica – PIBIC/FURB, pela bolsa de Iniciação Científica concedida.

## Referências

1. Fox JG. Organismos espiralados II: *Helicobacter*. In: HIRSH, D. C.; ZEE, Y. Microbiologia veterinária. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2003. p. 87-93. Português
2. Quinn PJ. Espécies bacterianas de significado patogênico limitado. In: \_\_. Microbiologia veterinária e doenças infecciosas. Porto Alegre: Artmed, 2005. p. 217. Português.
3. Barr SC, Bowman DD. *Helicobacter*. In: BARR, et al. Doenças infecciosas e parasitárias em cães e gatos: consulta em 5 minutos. Rio de Janeiro: Revinter, 2010, 619 p. Português.
4. Ladeira MSP, Salvadori DMF, Rodrigues MAM. Biopatologia da *Helicobacter pylori*. Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial. 2003; 39(4):335-342. <http://dx.doi.org/10.1590/S1676-24442003000400011>
5. Hermanns W, Kregel K, Breuer W, Lechner J. *Helicobacter*-like organisms: histopathological examination of gastric biopsies from dogs and cats. Journal of Comparative Pathology. 1995; 112: 307-318. [http://dx.doi.org/10.1016/S0021-9975\(05\)80083-0](http://dx.doi.org/10.1016/S0021-9975(05)80083-0)
6. Simpson KW, Burrows CF. Gastritis, úlceras y helicobacterias en humanos, perros y gatos. Waltham Focus. 1997; 7:2-6.
7. Moutinho FQ, Thomassian A, Watanabe MJ, Suzano SMC, Sequeira JL. Prevalência de helicobacterias e alterações na mucosa gástrica de cães saudáveis. Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia. 2007; 59(4):1080-1083. <http://dx.doi.org/10.1590/S0102-09352007000400040>
8. Vieira FT, Silva JCP, Vitoria MIV, Vieira MT, Pereira CER. Frequência e distribuição de *Helicobacter* spp. na mucosa gástrica de cães. Revista Ceres, Viçosa, v. 59, n. 1, p. 25-31, 2012. <http://dx.doi.org/10.1590/S0034-737X2012000100004>
9. Takemura LS, Lot RE, Camargo PL, Silva EO, Alfieri AA, Bracarense APFRL. *Helicobacter* spp. infection in dogs is not associated with changes in epithelial proliferation or E-cadherin expression in gastric mucosa. Semina: Ciências Agrárias. 2013; 33(2):3211-3222. <http://dx.doi.org/10.5433/1679-0359.2012v33Supl2p3211>
10. Takemura, L.S. Caracterização molecular de *Helicobacter* spp. em sistema hepatobiliar de cães e gatos com lesões hepáticas. Londrina, 2012. 100 f. Tese (Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, Doutorado em Ciência Animal) - Universidade Estadual de Londrina. [http://www.uel.br/pos/ciencia\\_animal/wp-content/uploads/LUCIANA-SAYURI-TAKEMURA-DOCTORADO-2012.pdf](http://www.uel.br/pos/ciencia_animal/wp-content/uploads/LUCIANA-SAYURI-TAKEMURA-DOCTORADO-2012.pdf)
11. Denovo RC. Doenças do Estômago. In: TAMS, T. R. Gastroenterologia de Pequenos Animais. 2. ed. São Paulo: Roca, 2005. p. 172-175. Português.
12. Carvalho GD, Pinto PSA, Vitoria MIV, Nero LA . Aspectos zoonóticos de *Helicobacter* spp. Bioscience Journal. 2008; 24(4):121-130.
13. [Prachasilpchai W](#), [Nuanualsuwan S](#), [Chatsuwat T](#), [Techangamsuwan S](#), [Wangnaitam S](#), [Sailasuta A](#). Diagnosis of *Helicobacter* spp. Infection in canine stomach. Journal of Veterinary Science, v. 8, n. 2, p.139-

- 145, 2007. <http://dx.doi.org/10.4142/jvs.2007.8.2.139>
14. Shaw D, Sherry, I. Doenças Gastrointestinais. In: \_\_\_\_\_. Medicina interna de pequenos animais. Porto Alegre: Artmed, 1999. p. 287-289. Português.
15. Fox JG. Enteric Bacterial Infections. In: GREENE, C. E. Infectious diseases of the dog and cat. 3. ed. St. Louis: Saunders Elsevier, 2006. p. 343-351. Inglês.
16. Crocker J., Skilbeck N. Nucleolar organizer region associated proteins in cutaneous melanotic lesions: a quantitative study. *Journal of Clinical Pathology* 40, 885-889. 1987. <http://dx.doi.org/10.1136/jcp.40.8.885>
17. Happonen I., Linden J., Saari S., Karjalainen M., Hänninen M.-L., Jalava, K., Westermarck E., 1998. Detection and effects of helicobacters in healthy dogs and dogs with signs of gastritis. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 213, 1767-1773.
18. Costa MC, Costa PRS, Silva JCP, Maia REN, Moreira JCL. Detecção de *Helicobacter* spp. em amostras de mucosa gástrica de cães assintomáticos e alterações histológicas associadas. *Brazilian Journal of Veterinary Research Animal Science*. 2012; 49(4):285-292. <http://dx.doi.org/10.11606/issn.1678-4456.v49i4p285-292>
19. Haesebrouck F, Pasmans F, Flahou B, Chiers K, Baele M, Meyns T, Decostere A, Ducatelle R. Gastric *Helicobacters* in domestic animals and nonhuman primates and their significance for human health. *Clinical Microbiology Review*. 2009; 22(2): 202-23. <http://dx.doi.org/10.1128/CMR.00041-08>
20. Camargo PL, Uenaka AS, Motta MB, Adania CH, Yamasaki L, Alfieri AA, Bracarense APFRL. Gastric *Helicobacter* spp. Infection in captive neotropical brazilian feline. *Brazilian Journal of Microbiology*. 2011; 42: 290-297. <http://dx.doi.org/10.1590/S1517-83822011000100037>
21. Handt LK, Fox JG, Stalis IH, Rufo R, Lee G, Linn J, Li X, Kleanthous H. Characterization of feline *Helicobacter pylori* stains and associated gastritis in a colony of domestic cats. *Journal of Clinical Microbiology*. 1995;33(9):2280-2289. <http://dx.doi.org/10.4142/jvs.2009.10.1.67>
22. Ülgen S, Ergin S, Şennazlı G, Bakirel U. Detection of *Helicobacter heilmannii* type ii and *Helicobacter pylori* in dogs and their role in the development of gastritis. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*. 2016; 40: 81-88. <http://dx.doi:10.3906/vet-1502-82>
23. Jankowski M, Spuzak J, Kubiak K, Glińska-Suchocka K, Biernat M. Detection of *Helicobacter* spp. in the saliva of dogs with gastritis. *Polish Journal of Veterinary Sciences*. 2016; 19(1):133–140. <http://dx.doi:10.1515/pjvs-2016-0017>
24. Recordati C, Gualdi V, Tosi S, Facchini RV, Pengo G, Luini M, Simpson KW, Scanziani E. Detection of *Helicobacter* spp. DNA in the oral cavity of dogs. *Veterinary Microbiology*. 2007; 119(2-4): 346-51. <http://dx.doi:10.1016/j.vetmic.2006.08.029>
25. Shojajee TA, Jamshidi S, Oghalaei A, Zahraei ST, Bayati EA, Mohammadi M. Identification of *Helicobacter* spp. in oral secretions vs. gastric mucosa of stray cats. *Veterinary Microbiology*. 2010; 140(1-2): 142-146. <http://dx.doi.org/10.1016/j.vetmic.2009.07.019>
26. Mysorekar VVA, Dandekar P, Prakash BSS. Antral histopatological changes in acid peptic disease associated with *Helicobacter pylori*. *Indian Journal Pathology Microbiology*. 1999;42(4):427-435.