

TESTE DE UREASE POSITIVO EM EQUINO ADULTO COM ÚLCERA GÁSTRICA - *HELICOBACTER* SP.?

C.B. Belli^{1*}, W.R. Fernandes², L.C.L.C. Silva³

¹Departamento de Clínica Médica, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, Av. Prof. Dr. Orlando Marques de Paiva, 87, CEP 05508-000, São Paulo, SP, Brasil.

RESUMO

Oito eqüinos adultos foram avaliados gastroscopicamente e amostras das mucosas aglandular, glandular e do conteúdo gástrico foram submetidos ao teste rápido de urease. Um dos animais apresentou resultado positivo. São discutidas as possibilidades deste resultado indicar ou não a existência de *Helicobacter* sp. em eqüinos.

PALAVRAS-CHAVE: *Helicobacter*, eqüino, úlcera gástrica, teste de uréase.

ABSTRACT

POSITIVE UREASE TEST IN ADULT HORSE WITH GASTRIC ULCER - *HELICOBACTER* SP.?
Eight adult horses were evaluated by gastroscopy and samples of aglandular and glandular mucosae and gastric content were submitted to the rapid urease test. One of the animals presented a positive result. The possibilities that this result indicates or not the existence of *Helicobacter* sp. in horses are discussed.

KEY WORDS: *Helicobacter*, equine, gastric ulcer, urease test.

INTRODUÇÃO

As espécies de *Helicobacter* são bactérias Gram negativas, microaerófilas, móveis, espirais e multiflageladas, sendo capazes de se multiplicar no estômago apesar de sua secreção ácida, graças à importante atividade da enzima urease. A produção de amônia por esta enzima, a partir da hidrólise da uréia, neutraliza a acidez do meio (GEMI, 2001).

Segundo JENKINS & BASSET (1997), NEIGER & SIMPSON (2000) e GUENEAU *et al.* (2002), há relatos de infecção gástrica por espécies de *Helicobacter* em humanos, gatos, cães, ratos, suínos, bovinos, ferrets, raposas, felinos selvagens e primatas não-humanos.

A *Helicobacter pylori* é reconhecida como a maior causa de gastrite crônica em humanos e é implicada como causa de grande parte das úlceras gástricas e duodenais. Na veterinária, várias espécies desta bactéria têm sido relacionadas com inflamação e ulceração gastrointestinal em diferentes espécies (JENKINS & BASSET, 1997), embora a correlação entre colonização e manifestações clínicas ainda não esteja bem esclarecida (NEIGER & SIMPSON, 2000).

O papel da *Helicobacter* sp. em eqüinos ainda é desconhecido. Há relato de apenas um potro positivo para a presença desta bactéria (GREEN *et al.*, 1990 *apud* COLLIER & STONEHAN, 1997), mas o achado foi inconclusivo. Os mesmos autores, em outro relato, não conseguiram detectar a bactéria em potros com úlceras gástricas (GREEN *et al.*, 1991 *apud* COLLIER & STONEHAN, 1997).

Há ainda um trabalho de DIMOLA & CARUSO (1999) onde é relatada a presença de *Helicobacter pylori* em bovinos, suínos e eqüinos por meio de histopatológico e imunohistoquímica, porém nenhum destes exames é específico para esta espécie de *Helicobacter*. Além disso, nos eqüinos, o histopatológico só identificou a presença de bacilos semelhantes a *Helicobacter pylori* no material vegetal não digerido e não na mucosa gástrica. Por fim, a imunohistoquímica também não foi positiva em nenhum eqüino.

Por todos estes fatos deve-se considerar a possibilidade desta bactéria não ser importante na etiopatogenia das ulcerações gástricas em eqüinos. No entanto, há ainda poucos estudos nesta área para que se possa concluir algo.

*Autor para correspondência: R. Almeida Maia, 38, apto.62, CEP 02338-060 São Paulo, SP, Brasil.

²Departamento de Clínica Médica, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo.

³Departamento de Cirurgia, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo.

O objetivo deste trabalho é a utilização do teste rápido de urease em eqüinos adultos, na tentativa de detectar a presença de *Helicobacter* sp.

MATERIALE MÉTODOS

O exame rápido de urease foi realizado com o Meio de Urease⁴, com a seguinte composição:

- Triptona..... 1,0 g
- Uréia..... 20,0 g
- Excipiente q.s.p.1 litro

O exame foi realizado em oito eqüinos adultos, machos, de várias raças, no Hospital Veterinário da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo. De cada um, durante exame gastroscópico, foram colhidas amostras das mucosas glandular e aglandular do estômago e de conteúdo gástrico.

As amostras foram colocadas em tubos separados com o Meio de Urease⁴ e incubadas a 37° C em banho-maria por 24 horas, sendo considerados positivos os tubos onde houvesse viragem do meio de amarelo para vermelho nas primeiras 6 horas de incubação.

RESULTADO

Dos oito animais avaliados por meio da gastroscopia, cinco apresentavam ulcerações gástricas em mucosa aglandular. Em quatro as úlceras eram superficiais, pequenas e em pequeno número. Em um eqüino as úlceras eram superficiais, mas extensas, ocupando quase 50% da área aglandular. Em nenhum animal as ulcerações foram correlacionadas com a presença de manifestações clínicas. Nenhuma úlcera glandular foi identificada.

Em sete animais não houve nenhum resultado positivo no teste rápido de urease. Em um animal houve viragem do meio com a amostra de conteúdo gástrico e com a de mucosa aglandular, mas não com a amostra de mucosa glandular (Fig. 1). Dois dias depois a gastroscopia e o exame de urease foram repetidos e os resultados confirmados.

DISCUSSÃO

O teste rápido de urease é utilizado para determinar a produção da enzima urease pela bactéria, visto que esta enzima está presente em grande quantidade na mesma e pode fornecer um resultado em uma hora ou menos. Mas sua sensibilidade é de apenas 70% a

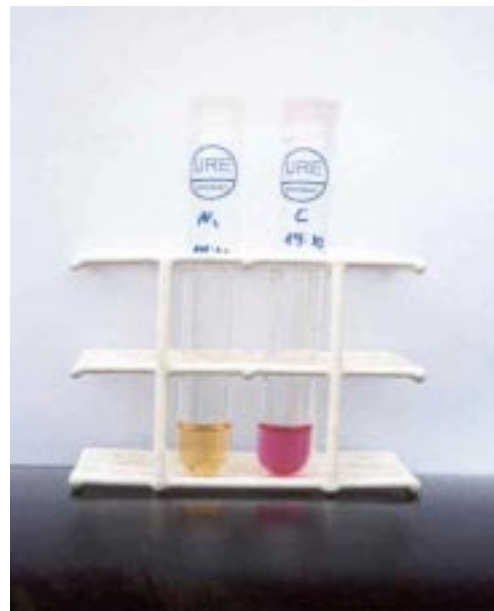


Fig. 1 - Teste de urease positivo (tubo à direita) de eqüino adulto com úlcera gástrica aglandular. À esquerda: teste negativo.

90%, sendo freqüentemente usado em conjunto com o exame histopatológico de múltiplas biópsias gástricas (GEMI, 2001; JENKINS & BASSET, 1997).

Na veterinária, a cultura é pouco utilizada devido à dificuldade de cultivo de algumas espécies de *Helicobacter* (JENKINS & BASSET, 1997).

Em um experimento, onde foram comparados vários testes para detecção de *Helicobacter* sp. no estômago de cães e gatos imediatamente após eutanásia, o teste rápido de urease, aos 30 e 60 minutos, apresentou respectivamente sensibilidade de 85,7% e 87,5%, em cães, e de 94% e 100%, em gatos. A especificidade do método foi de 100% para as duas espécies (HAPPONEN *et al.*, 1996).

A baixa sensibilidade e alta especificidade do teste também são relatadas em medicina humana. GRIÑO *et al.* (2001) relatam que, quando o resultado é positivo, não são necessários outros meios de investigação.

Resultados falso negativos no teste rápido de urease podem ocorrer por baixo número de bactérias (baixa densidade de colonização gástrica) ou por raras *Helicobacter* sp. que não produzem urease (HAPPONEN *et al.*, 1996; NEIGER & SIMPSON, 2000).

Resultados falso positivos são considerados raros, mas podem ocorrer se o teste for lido após 24 horas. Nesta circunstância, o resultado positivo é provavelmente devido a outras bactérias gástricas produtoras de urease, como *Proteus mirabilis* e *Pseudomonas aeruginosa* (HAPPONEN *et al.*, 1996). Em cães com coprofagia são relatados casos de resultado falso

⁴Probac do Brasil - Produtos Bacteriológicos

positivo pela presença de *Proteus* sp. no estômago dos animais (NEIGER & SIMPSON, 2000).

Com relação ao resultado positivo encontrado neste trabalho, apesar da alta especificidade do teste, há alguns pontos importantes a serem discutidos.

Infelizmente os meios de cultura específicos para *Helicobacter* sp. não estavam disponíveis no momento do exame deste animal. O mesmo foi submetido a uma orquiectomia de conveniência (para a qual havia sido encaminhado ao Hospital Veterinário), vermifugado e mandado embora com as recomendações pós-cirúrgicas usuais. Quando de seu retorno, 40 dias após, foi submetido a nova gastroscopia na tentativa de se cultivar a bactéria, visto que o meio de cultura já estava disponível. Mas, durante o procedimento gastroscópico verificou-se que não havia mais nenhuma úlcera presente no estômago do animal. Nenhuma das amostras colhidas causou viragem do meio de urease, não sendo possível tentar o cultivo.

As úlceras presentes no estômago deste animal podem ser relacionadas ao sistema de seu manejo (confinamento, treinamento para competições esportivas, alimentação concentrada) e ao seu próprio comportamento (visto ser um animal extremamente nervoso e agitado). A sua resolução espontânea é difícil de explicar. Apesar de ter permanecido alguns dias sem treinar em decorrência da orquiectomia, foram introduzidos no mesmo período dois novos fatores desencadeadores de úlceras: estresse cirúrgico e o uso de agentes antiinflamatórios não-esteroidais durante os primeiros dias de pós-operatório. Talvez a própria diminuição do nível de hormônios masculinos pela orquiectomia tenha contribuído para a melhora gástrica, visto que o tratador reconheceu uma grande melhora de comportamento do animal, que se tornou mais calmo.

Outro achado controverso é a viragem do teste de urease com fragmentos de mucosa aglandular e não de mucosa glandular. Como citado por MURRAY (1997), a *Helicobacter pylori* não coloniza epitélio escamoso alimentar. Em humanos e outras espécies, a *Helicobacter* sp. atingem a porção glandular da mucosa gástrica e é nesta região que leva a úlceras. E o animal em questão apresentava muitas e grandes úlceras, mas todas na mucosa aglandular.

É ainda possível que a enzima detectada pela viragem do meio de urease fosse de alguma bactéria oportunista que estava colonizando as úlceras gástricas deste animal (explicando as reações positivas apenas com a mucosa aglandular e com o conteúdo gástrico).

No entanto, a hidrólise da uréia e conseqüente alcalinização do meio é um processo rápido, que não requer multiplicação bacteriana, e o tempo decorrido até a alteração de cor está relacionado à densidade bacteriana. Logo, a viragem de meio observada indi-

cava com certeza a presença da enzima urease em grande quantidade, visto que a mesma ocorreu com menos de duas horas de incubação, não podendo ser devida a outras alterações do meio ou contaminação do mesmo. Além disso, o teste é considerado altamente específico, tanto em humanos quanto em animais (GRIÑO *et al.*, 2001; HAPPONEN *et al.*, 1996), e resultados falso-positivos pela presença de outras bactérias produtoras de urease costumam ocorrer com tempos de incubação maiores (HAPPONEN *et al.*, 1996). Tudo isso indica grande probabilidade de que a bactéria produtora de urease neste caso seja uma das espécies de *Helicobacter*.

CONCLUSÃO

O resultado positivo encontrado neste trabalho indicaria a possibilidade de existência de *Helicobacter* sp. no estômago de equinos, embora sejam necessários estudos com maior número de animais e a utilização de outros tipos de exame (como o histopatológico e a cultura), em associação com o teste rápido de urease, para a confirmação do resultado.

AGRADECIMENTOS

À FAPESP (Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- DIMOLA, S. & CARUSO, M.L. *Helicobacter pylori* in animals affecting the human habitat through the food chain. *Anticancer Res.*, Greece, v.19, n.15B, p.3889-3894, 1999.
- GEMI (Groupe d'Étude en Médecine Interne) Consensus sur *Helicobacter*. *Prat. Méd. Chir. Anim. Comp.*, Paris, v.36, n.4, p.361-364, 2001.
- GUÉNEAU, P.; FUENMAYOR, J.; ARISTIMUÑO, O.C.; CEDEÑO, S.; BÁEZ, E.; REYES, N.; MICHELANGELI, F.; DOMÍNGUEZ-BELO, M.G. Are goats naturally resistant to gastric *Helicobacter* infection? *Vet. Microbiol.*, v.84, n.1-2, p.115-121, 2002.
- GREEN, E.M.; SPROUSE, R.F.; JONES, B.D.; BARTHEL, J.S. Transendoscopic gastric mucosal biopsy: rapid urease test and bacteriologic culture for identification of *Helicobacter pylori* (*Campylobacter pylori*) in asymptomatic foals. In: INTERNATIONAL SOCIETY OF VETERINARY PERINATOLOGY CONFERENCE, 2., 1990. *Proceedings*. p.60. apud COLLIER, D.S.J. & STONEHAN, S.J. Gastro-oesophageal ulcers in man and horse: semblance and dissemblance. *Equine Vet. J.*, v.29, n.6, p.411, 1997.
- GREEN, E.M.; SPROUSE, R.F.; JONES, B.D.; BARTHEL, J.S. Is *Helicobacter pylori* (*Campylobacter pylori*) associated with gastritis/ulcer disease in asymptomatic foals?.

- In: EQUINE COLIC RESEARCH SYMPOSIUM, 4., 1991. *Abstract*. p.27. apud COLLIER, D.S.J. & STONEHAN, S.J. Gastro-oesophageal ulcers in man and horse: semblance and dissemblance. *Equine Vet. J.*, v.29, n.6, p.411, 1997.
- GRÍÑO, P.; PASCUAL, S.; SUCH, J.; CASELLAS, J.A.; NIVEIRO, M.; ANDREU, M.; SÁEZ, J.; GRÍÑO, E.; PALAZÓN, J.M.; CARNICER, F.; PÉREZ-MATEO, M. Comparison of diagnostic methods for *Helicobacter pylori* infection in patients with upper gastrointestinal bleeding. *Scand. J. Gastroenterol.*, v.36, n.12, p.1254-1258, 2001.
- HAPPONEN, I.; SAARI, S.; CASTREN, L.; TYNI, O.; HÄNNINEN, M.L.; WESTERMARCK, E. Comparison of diagnostic methods for detecting gastric *Helicobacter*-like organisms in dogs and cats. *J. Comp. Pathol.*, v.115, n.2, p.117-127, 1996.
- JENKINS, C.C. & BASSET, J.R. *Helicobacter* infection. *Compend. Contin. Educ. Pract. Vet.*, Treton, v.19, n.3, p.267-279, 1997.
- MURRAY, M.J. Gastroduodenal ulceration. In: ROBINSON, N.E. (Ed.) *Current Therapy in Equine Medicine*. 4. ed. Philadelphia: W.B. Saunders, 1997. p.191-197.
- NEIGER, R. & SIMPSON, K.W. *Helicobacter* infection in dogs and cats: facts and fiction. *J. Vet. Intern. Med.*, Lakewood, v.14, n.2, p.125-133, 2000.

Recebido em 17/10/02

Aceito em 7/1/03