



UNIVERSIDADE ESTADUAL DO MARANHÃO
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
CURSO DE MEDICINA VETERINÁRIA

ALEXANDRE JOSÉ DOS SANTOS FRÓES

**ANÁLISE QUALITATIVA DA REAÇÃO COLORIMÉTRICA DO TESTE DE
UREASE EM SALIVA DE CÃES**

São Luís – MA
2017



ALEXANDRE JOSÉ DOS SANTOS FRÓES

**ANÁLISE QUALITATIVA DA REAÇÃO COLORIMÉTRICA DO TESTE DE
UREASE EM SALIVA DE CÃES**

Monografia apresentada ao curso de Medicina Veterinária da Universidade Estadual do Maranhão para a obtenção do grau de bacharel em Medicina Veterinária.

Orientadora: Profa. Dra. Solange de Araujo Melo

São Luís- MA
2017

Fróes, Alexandre José dos Santos.

Análise qualitativa da reação colorimétrica do teste de urease em saliva de cães/ Alexandre José dos Santos Fróes. – São Luís, 2017.
39 f.

Monografia (Graduação) – Curso de Medicina Veterinária,
Universidade Estadual do Maranhão, 2017.

Orientador: Profa.Dra. Solange de Araujo Melo.

1. Zoonose. 2. Vômito. 3. Diagnóstico. 4. Helicobacterioses. I. Título.

CDU 636.7[619:616.61]



ALEXANDRE JOSÉ DOS SANTOS FRÓES

**ANÁLISE QUALITATIVA DA REAÇÃO COLORIMÉTRICA DO TESTE DE
UREASE EM SALIVA DE CÃES**

Monografia apresentada ao curso de Medicina Veterinária da Universidade Estadual do Maranhão para a obtenção do grau de bacharel em Medicina Veterinária.

Aprovada em: ____ / ____ / ____

BANCA EXAMINADORA

Profa. Dra. Solange de Araujo Melo (Orientadora)
Departamento de Patologia /CCA/UEMA

Profª Dra. Alessandra Lima Rocha
Departamento de Patologia
1º examinador

MsC. Adriana Vívian Costa Araujo
2º examinador

DEDICATÓRIA

Ao ingressar nessa jornada da Medicina Veterinária, não houve apoio, vim sozinho, na fé de Deus, muitos me ajudaram nesta caminhada, mas o pontapé inicial veio de mim, pode parecer egoísmo, mas cada um sabe a própria luta que enfrenta, cada um conhece suas fraquezas, derrotas.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus em honra aos meus pais e avós.

Aos meus pais, Lourdes de Fátima e José Antônio, por tudo que sempre fizeram e fazem por mim.

Às minhas avós, Joana Souza por quem tenho muita admiração; e Matilde Fróes (*in memoriam*), que infelizmente tive a tristeza de perdê-la no final do meu primeiro período da graduação.

A minha família por todo apoio e ajuda que proporcionaram na minha vida, em especial meus irmãos, Adelaide Fróes, Diego Cesar, Diogo Sergio, Dinaildes Correa, Lázaro e meus sobrinhos, Rikelme Vinicius e Pedro Alexandre, por serem grandes motivos de alegria.

A minha cachorra Lola, pela alegria constante ao me receber todos os dias: espero ser um ótimo veterinário para ela.

Às amigas/irmãs da graduação, Aline Brito, Luana Madureira, Beatriz Martins, Luana Freire, que a graduação me proporcionou e que estarão para sempre no meu coração e às minhas amigas/irmãs da escola, Elessandra Moraes e Karine Guimarães, pelas quais tenho muito carinho e orgulho por ser amigo de vocês.

Aos meus amigos de turma, Gabriel Ramos, André Lemos, Conrado Arrivabene, Thamirys Freitas, Thiago Martins, e aos demais colegas da turma 80 de Medicina Veterinária, e aos amigos de outras turmas como Valéria, Raysa, Diego, Nayla, Hugo, Pablo e Manu.

A Elizabeth, Patrícia, Francisca, Dona Socorro, Emerson, Margareth por tudo quanto me ajudaram durante a graduação.

A minha orientadora, Prof^a Dra. Solange de Araujo Melo, pela paciência, ensinamentos, gentileza, dedicação de aceitar realizar este trabalho e a minha co-orientadora, Adriana Vívian Costa Araujo, pelo respeito, carinho, exemplo de médica veterinária e pessoa, em quem pretendo sempre me inspirar, e por ter confiado em mim para realização deste trabalho.

A professora Alessandra Lima Rocha, pela participação na banca examinadora, e por quem tenho um carinho muito grande.

A Profª Dra. Alana Lislea de Sousa, por tudo que me proporcionou na graduação, pela bolsa de iniciação científica e pelos ensinamentos.

Ao Profº Dr. Felício Garino Júnior, meu co-orientador na iniciação científica, agradeço aos ensinamentos e carinho.

Ao Hospital Veterinário Universitário “Francisco Edilberto Uchoa Lopes” e Prof. José Arnodson Coelho de Sousa Campelo por permitir que eu coletasse as amostras da minha pesquisa e aos tutores dos animais por terem aceitado participar deste trabalho, e a todos que ajudaram indiretamente e diretamente.

*“A vida é feita de escolhas, e uma hora você é obrigado a escolher o que quer
que seja certo ou errado”*

Vitória Demate

LISTA DE TABELAS

Tabela 1:Resultado do teste colorimétrico de urease em saliva de cães e os respectivos tutores.

Tabela 2:Raça, sexo, idade, alimentação de cães com histórico de êmese.

Tabela 3:Coloração, aspecto, hora do dia e intervalo do vômito de cães.

LISTA DE SIGLAS

DNA: Ácido Desoxirribonucleico

MALT: Tecido linfóide associado à mucosa

PCR: Reação em cadeia da polimerase

SRD: Sem Raça Definida

RESUMO

Helicobacterioses são zoonoses transmitidas por agentes do gênero *Helicobacter*, que colonizam o trato gastrointestinal de humanos e de animais, podendo causar uma infecção crônica gástrica e que tem como característica principal a produção da urease. O mecanismo de transmissão ainda não foi totalmente elucidado, porém sugere-se que possa ocorrer através da via oral-oral e fecal-oral, visto que essa bactéria pode estar presente na saliva e placa dentária, e a transmissão possa ocorrer através da lambertura do cão para o tutor no dia a dia. O objetivo deste estudo foi avaliar a presença de bactéria *Helicobacter* sp. em saliva de cães por meio da reação colorimétrica do teste de urease. Foram coletadas 28 amostras de saliva dos cães e de seus tutores, as quais foram testadas através do teste da Urease[®] e ainda realizados inquéritos através de perguntas abertas e fechadas sobre a relação entre tutores e seus cães, bem como sobre o manejo empregado na criação. Amostras de 17 cães (60,71%) e de 3 tutores (12%) foram reagentes. Cães machos apresentaram maior frequência que as fêmeas, com 58,82%(10) e 41,18%(7), respectivamente. Conclui-se que *Helicobacter* sp. pode estar presente na saliva de cães que apresentam quadros de vômito, e que o teste de urease pode ser utilizado como um meio de diagnóstico presuntivo.

Palavras-chave: zoonose, vômito, diagnóstico, helicobacterioses.

ABSTRACT

Helicobacterioses are zoonoses transmitted by agents of the genus *Helicobacter*, which colonize the gastrointestinal tract of humans and animals, which can cause a chronic gastric infection and whose main characteristic is the production of urease. The mechanism of transmission has not yet been fully elucidated, but it's suggested that it can occur through the oral-oral and fecal-oral routes, since this bacterium may be present in the saliva and dental plaque, and the transmission can occur through licking the dog to the tutor on a day to day basis. The objective of this study was to evaluate the presence of *Helicobacter* sp. bacteria in saliva of dogs through the colorimetric reaction of the urease test. A total of 28 saliva samples were collected from the dogs and their tutors, which were tested using the Urease® test, and surveys were conducted through open and closed questions about the relationship between tutors and their dogs, as well as the management used in the breeding. Samples from 17 dogs (60.71%) and from 3 tutors (12%) were reagents. Male dogs presented higher incidence than females, with 58.82% and 41.18%, respectively. It is concluded that *Helicobacter* sp. may be present in the saliva of dogs exhibiting vomiting, and that urease test can be used as a means of presumptive diagnosis.

Keywords: zoonosis, vomit, diagnosis, helicobacterioses.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	13
2 REVISÃO DE LITERATURA	15
2.1 <i>Helicobacter</i> sp.	15
2.2 Cavidade oral	16
2.2.1 Saliva	16
2.2.2 Placa dentária	16
2.3 Meios de transmissão da <i>Helicobacter</i> sp. em cães	17
2.4 Diagnóstico	18
2.4.1 Citologia	19
2.4.2 PCR	19
2.4.3 Histologia	19
2.4.4 Teste de urease	19
2.5 Tratamento	21
3 OBJETIVOS	22
3.1 Objetivo geral	22
3.2 Objetivos específicos	22
4 MATERIAL E MÉTODOS	23
4.1 Amostras	23
4.2 Termo de Consentimento Livre e Esclarecido	23
4.3 Teste de Urease	23
4.4 Coleta de dados	24
4.5 Análise de dados	25
5 RESULTADOS	25
6 DISCUSSÃO	26
7 CONCLUSÕES	29
REFERÊNCIAS	30
ANEXOS	35
APÊNDICE A	38
APÊNDICE B	39

1 INTRODUÇÃO

O gênero *Helicobacter* constitui o grupo de bactérias mais comum em humanos e, possivelmente, também nos animais de companhia, colonizando principalmente a mucosa gástrica e as microvilosidades das células epiteliais. Em humanos a infecção pode resultar em úlcera gástrica, adenocarcinoma e linfoma marginal na região extranodal (MALT), ou apenas em sinais clínicos de dispepsia funcional (VITORIANO et al., 2011).

Em animais, principalmente cães e gatos têm se verificado a colonização do estômago por mais de uma espécie de *Helicobacter* e no Brasil foi relatada alta prevalência para *Helicobacter* sp. na mucosa gástrica de cães e gatos (ARAÚJO et al., 2010; TAKEMURA et al., 2012, EKMAN et al., 2013).

Para caninos, ambientes aglomerados associados a íntimo contato com cães infectados pela bactéria é fator determinante para a transmissão de *Helicobacter* spp. (ANACLETO et al., 2011). O sexo, raça e idade não influenciam o processo infeccioso (THIBAUT et al., 2007; VIEIRA et al., 2012).

A prevalência para *Helicobacter* spp. em cães saudáveis é de 96% usando como meio de diagnóstico a análise histológica e 100% pelo teste da urease usando amostras gástricas (MOUTINHO et al., 2007).

A transmissão oral-oral e fecal-oral pode também ser explicada pelo comportamento social dos cães e pela alta incidência da espécie entérica, *H. canis*, encontrado em saliva e fezes de cães, e as espécies gástricas, *H. salomonis* e *H. bizzozeronii*, encontradas em saliva, apoiando a ideia de transmissão pelo contato oral (EKMAN et al., 2013).

O isolamento da bactéria na saliva, placa dentária e nas fezes reforça a hipótese de transmissão pelas vias oral-oral e/ou fecal-oral, sendo a rota mais plausível (GOH et al., 2011; EKMAN et al. 2013), uma vez que o cão pode ser responsável pela transmissão de doenças ao homem e o hábito de atribuir ao animal de companhia o mesmo valor sentimental de um membro da família, há uma preocupação do ponto de vista de saúde pública e a propagação de bactérias gástricas representa um potencial zoonótico (SANTANA et al., 2006; HAESEBROUCK et al., 2009).

Nos seres humanos a infecção por *Helicobacter* produz sinais clínicos caracterizados por queixas inespecíficas como dor epigástrica aguda

ou crônica, náuseas, hematêmese, dispepsia recorrente, vômitos, disfagia e falta de apetite (HAESEBROUCK et al., 2009). Os cães e gatos não manifestam sintomatologia após a infecção por *Helicobacter* spp. embora possam ser evidenciados sinais clínicos como vômitos crônicos, diarreia, febre, dor abdominal, eructação, dispepsia, enterocolite e anorexia, isto é, manifestações gerais e comuns a outras enfermidades (COSTA, 2005).

As bactérias do gênero *Helicobacter* possuem a capacidade de sobreviver em um dos ambientes mais inóspitos do organismo, o estômago, com pH inferior a 4, uma vez que são capazes de apresentar mecanismos para neutralizar a acidez, além de habitar a saliva e placa dentária do hospedeiro.

Diante das evidências de que as bactérias do gênero *Helicobacter* possuem importância antropozoonótica, envolvendo tanto cães sintomáticos quanto assintomáticos, que se comportam como fontes de contaminação para pessoas e outros cães, propôs-se realizar um estudo para avaliar a presença de *Helicobacter* sp. na saliva destes animais com histórico de vômito e da saliva do tutor usando o teste rápido de urease.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 *Helicobacter* sp.

O gênero *Helicobacter* constitui-se de um grupo de bactérias microaerófilas, móveis, em forma de espiral, fortemente associada a doenças gastroduodenais, tendo a placa dentária e a saliva apontados como possíveis fontes de infecção visto que são locais de colonização destas bactérias. Muitos estudos sugerem que a mesma estirpe de bactéria possa existir em estômago e saliva do mesmo paciente (MOMTAZ et al., 2010).

Levando em consideração que a infecção por *Helicobacter* sp. se caracteriza pela cronicidade, o conhecimento de sua patogênese e a correlação com seus fatores de risco tornam-se importantes mecanismos que auxiliam na prevenção (GUIMARÃES et al., 2008).

Helicobacter spp. coloniza o estômago canino e possuem alta prevalência nos cães, causando gastrite caracterizada por infiltrado linfoplasmocitário na lâmina própria e hiperplasia folicular linfoide (FARIAS, 2014). *Helicobacter* sp. apresenta produção de urease bacteriana, que é uma proteína responsável pela conversão da ureia em amônia e bicarbonato (LADEIRA et al., 2003) tornando o ambiente do estômago menos ácido e propício à sua colonização.

Apesar da associação da doença clínica no homem, há pouca informação sobre a relação do gênero *Helicobacter* e a enfermidade gástrica nos animais domésticos e selvagens, sugerindo que esses microrganismos possam contribuir na patogênese das gastrites, tanto dos animais como do homem (CARVALHO et al., 2008). Grande parte dos cães com infecções gástricas produzidas por *Helicobacter* são assintomáticos, porém em casos sintomáticos os cães com infecções gástricas provocadas por *Helicobacter* podem apresentar náuseas, anorexia e/ou vômito (COUTO et al., 2001).

As diferentes lesões orgânicas relacionadas à infecção por *Helicobacter* sp. resultam da interação entre os fatores de virulência da cepa infectante e a resposta inflamatória do hospedeiro (LADEIRA et al., 2003). Estudos sorológicos demonstraram que a prevalência de infecção por

Helicobacter sp. aumenta com a idade e é maior nos países em desenvolvimento (LOGAN et al., 2001).

2.2 Cavidade oral

2.2.1 Saliva

A saliva total que banha as superfícies orais é derivada das glândulas salivares maiores, parótidas, submandibular e sublingual, e menores que é a labial, lingual, bucal e palatal. É uma mistura complexa de íons inorgânicos, incluindo sódio, potássio, cálcio, cloro, bicarbonato e fosfato (SAMARANAYAKE, 2012).

Os estudos têm apontando cada vez mais no sentido de se utilizar análises salivares no diagnóstico de doenças sistêmicas e na monitoração da saúde geral, pois a natureza não invasiva dos testes salivares tem servido de atrativo para se utilizar como método diagnóstico (MOURA et al., 2007).

Berroteran et al.(2002) utilizando PCR, detectaram a presença de *Helicobacter* sp. na cavidade oral de cães e sugerem que a saliva seja uma importante fonte de contaminação e de transmissão para os tutores e mesmo para outros animais e que até mesmo através de espirros, a liberação de muco e aerossóis pode representar uma fonte de infecção.

2.2.2 Placa dentária

A placa dental bacteriana constitui-se de um biofilme onde são encontradas comunidades microbianas sésseis aderidas a superfícies rígidas, cujos microrganismos que a compõem formam comunidades extremamente organizadas envolvidas por uma matriz extracelular, composta principalmente de polissacarídeos produzidos pelos próprios microrganismos, os quais interagem com componentes da saliva com a qual tem contato íntimo (GRANER et al., 2005), e devido a esta proximidade foi identificada como um potencial reservatório de *Helicobacter* sp., embora a reinfecção por este reservatório não tenha sido comprovada, após a terapêutica (POSTIUS, 2001).

2.3 Meios de transmissão da *Helicobacter* sp. em cães

A infecção por *Helicobacter* sp. tornou-se um problema de saúde pública, tornando-se necessário o conhecimento da epidemiologia e do genoma da bactéria, assim como a adoção de medidas que previnam e/ou controlem a infecção (PINTO, 2007).

Ainda há muito que se estudar com relação à forma de transmissão das espécies de *Helicobacter* sp. dos animais para os humanos, pois o entendimento das vias de transmissão pelas quais a infecção se estabelece é fundamental para o desenvolvimento de estratégias para o controle da doença e o contato íntimo dos proprietários com seus animais aumentam a incidência zoonótica dessas bactérias, sendo que algumas espécies de *Helicobacter* sp. podem estar relacionadas com animais usados no consumo humano, como frangos, suínos e bovinos sugerindo uma nova fonte de infecção em potencial (CARVALHO et al., 2008). Klein et al. (1991) sugeriram que a água contaminada por matéria fecal possa constituir uma importante fonte de infecção.

Umeda et al. (2003) concluíram que a presença de *Helicobacter* sp. na cavidade oral pode causar vários problemas e que pode ser uma rota de transmissão de pessoa para pessoa. Os meios de propagação do microrganismo são o vômito e o refluxo esofágico além de que, existem estudos em relação à permanência de *Helicobacter* sp. em placa dentária ou saliva (SIQUEIRA et al., 2007). Houve relatos em que *Helicobacter* sp. pode ser transmitida sexualmente por via oral-anal (ESLICK et al., 2002).

As condições higiênico-sanitárias em que os animais domésticos se encontram e habitam é um fator importante, tal como nos humanos, sendo essa teoria suportada pelo fato de as maiores prevalências serem registradas em animais provenientes de canis, do que em animais provenientes de lares domésticos particulares (EATON et al., 1996).

O fato dos cães apresentarem positividade para *Helicobacter* sp. precisa de uma maior atenção com relação à saúde pública, considerando a possibilidade de os cães servirem como reservatório para a transmissão de helicobactérias para os humanos (COSTA et al., 2012).

Anacleto et al. (2011) detectaram DNA de *Helicobacter* sp. em cavidade oral de cães saudáveis e em vômitos usando o método da PCR, confirmando que as vias oral-oral e fecal-oral podem estar relacionadas aos meios de transmissão a serem considerados entre cães e humanos e entre cães (RECORDATI et al., 2007). Um fator importante para a reinfecção é o contato íntimo com cães infectados associados a ambientes lotados, favorecendo a transmissão do microrganismo entre os caninos (ANACLETO et al., 2011).

Helicobacter sp. tem grande importância clínica em humanos, levando à gastrites e úlceras pépticas, assim como fator de risco para o carcinoma gástrico. Evidências sugerem o potencial dos animais, principalmente os domésticos, como fonte de infecção zoonótica das helicobactérias, pois bactérias com morfologia similar às encontradas em animais foram observadas no estômago de humanos com gastrite, se tornando um importante reservatório (OKUBO et al., 2017). Cães assintomáticos tornam-se um importante reservatório e fonte da bactéria para outros animais e até mesmo para humanos, o que demanda uma especial atenção aos estudos do modo de transmissão das helicobacterioses entre espécies, o que representa uma importante questão relacionada à saúde pública (KUSZKOWSKI et al., 2017).

2.4 Diagnóstico

Para diagnóstico de *Helicobacter* sp. utiliza-se métodos invasivos e não invasivos. Os métodos invasivos necessitam de amostra tecidual, geralmente coletada da mucosa gástrica, que pode ser realizada através de escovação ou biópsia por meio do exame endoscópico, mas também a técnica cirúrgica pode ser empregada (DENOVO, 2005; WILLARD, 2006). Já os métodos não-invasivos consistem em teste respiratório com ureia marcada com o carbono, testes sorológicos com amostras de saliva e testes de antígeno fecal (FERNANDEZ, 2008).

2.4.1 Citologia

A técnica de citologia é a mais eficiente em detectar a presença de bactérias do gênero *Helicobacter* na mucosa gástrica de cães e como material emprega-se um esfregaço feito a partir do material obtido a partir da escovação da mucosa gástrica em lâmina de vidro, fixado em álcool e corado pelo método de Giemsa, para em seguida proceder-se a pesquisa direta do parasita. Outra técnica corriqueiramente utilizada é a histologia do tecido obtido com auxílio de endoscopia, corado por Warthin-Starry. Para ambas as técnicas, os espécimes devem ser colhidos, preferencialmente, na região do fundo gástrico (SANTOS, 2012).

2.4.2 PCR

O método da reação em cadeia da polimerase (PCR) pode ser utilizado em fluidos bucais como fonte de DNA microbiano para detectar bactérias como *Helicobacter* sp. (KOELLE et al., 1997). Berroteran et al. (2002) consideram a técnica de PCR em amostras de placa dentária como a mais sensível dentre as técnicas utilizadas na rotina diagnóstica.

2.4.3 Histologia

O diagnóstico histopatológico de rotina com a coloração de rotina Hematoxilina e eosina (HE) permite a visualização das bactérias helicoidais, muitas vezes localizadas no muco, aderidas à superfície do epitélio e no interior de glândulas gástricas (OWEN, 2010).

Tenório et al. (2009) constataram que a técnica diagnóstica histologia é uma ferramenta eficiente na confirmação da infecção por *Helicobacter* sp. e sua efetividade e eficiência dependem do momento clínico dos pacientes portadores de gastrite a serem investigados.

2.4.4 Teste de urease

Testes de urease são testes simples e rápidos para a detecção de *Helicobacter* sp., mas apenas indicam a presença ou ausência do agente

(FERNANDEZ, 2008). É uma prova, presuntiva, muito utilizada na medicina humana e podendo ser aplicável a medicina veterinária (LOGAN et al., 2001).

A produção da enzima urease permite a sobrevivência no meio ácido do estômago devido à geração de amônia, originando uma camada alcalina ao redor da helicobactéria (THIBAUT et al., 2007).

O teste rápido de urease é realizado através da produção da enzima urease que hidrolisa a ureia em gás carbônico e amônia, alterando o pH do meio e a reação será observada através de uma mudança de coloração indicadora de pH, que apontam a presença da bactéria. Entretanto, o teste não fornece informações sobre a intensidade da inflamação, além dos resultados falso-positivos que podem ocorrer, devido outras bactérias que produzem urease por causa de bactérias da cavidade oral, assim como resultados falso-negativos que podem ocorrer quando o paciente está sendo tratado com inibidores de bomba de prótons como omeprazol, lansoprazol ou pantoprazol, caso o exame seja feito uma semana após o uso de antimicrobianos ou cirurgia gástrica (CUTLER et al., 1995; BROWN, 2000; WILKINSON, 2001).

Resultados falso-positivos podem aparecer devido a outras bactérias que produzem urease estarem presente na cavidade oral (BROWN, 2000) como *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Proteus* sp. (HAPPONEN et al., 1996).

Comercialmente, são utilizados três tipos de testes de urease, CLO, PyloriTek e Hpfast, que através da mudança na coloração da solução, indicam a presença de infecção por *Helicobacter* sp., e o tempo de reação pode acontecer de alguns minutos até 2 horas para obtenção do resultado, onde qualquer tonalidade de coloração rosa é interpretada como positivo e a cor amarela é indicativa de resultado negativo. Para resultados positivos no período de 2 a 30 minutos, considera-se infecção por cepas de alta e média virulência, e quando a reação acontece no período entre 30 e 60 minutos, considera-se cepas de baixa virulência; e, após 60 minutos, o teste é interpretado como não reagente e o resultado negativo (GOODWIN et al., 1997).

2.5 Tratamento

Segundo Mincis et al. (2011) a indicação do tratamento para *Helicobacter* sp. é o esquema “tríplice”, com a utilização de um inibidor de bomba de prótons associado aos antibióticos claritromicina e amoxicilina, duas vezes ao dia, durante sete dias, caso não haja a eliminação do patógeno, utiliza o esquema “quádruplo”, compreendendo um inibidor de bomba de prótons, duas vezes ao dia, sais de bismuto e tetraciclina, quatro vezes ao dia, por um período de 10 a 14 dias. Em caso de falha dos esquemas “tríplice” e “quádruplo”, deve-se adotar o esquema “levofloxacina” em que se utiliza levofloxacina associado a amoxicilina, e inibidor de bomba de prótons nas dosagens usuais, a cada 12 horas, durante o período de 10 a 14 dias.

Ainda pode ser utilizado um esquema de acordo com a individualidade do paciente, empregando-se a associação de probióticos com ação bactericida através da indução de ácidos orgânicos e bacteriocinas que interferem na adesão de *Helicobacter* sp. às células epiteliais, diminuindo a intensidade de colonização. A eliminação de *Helicobacter* sp. em cães e gatos, torna-se difícil em virtude de prováveis reinfecções (NEIGER et al., 2000).

Um fator chave para o controle e eliminação do agente é o desenvolvimento da resistência antimicrobiana e o desenvolvimento de uma infecção mais intensa, tal fato se dá também devido a uma tendência em não seguir a prescrição dos antibióticos durante o período determinado pelo médico (HUNT et al., 2006).

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

- Avaliar a presença de bactéria *Helicobacter* sp. por meio da reação colorimétrica do teste de urease em saliva de cães e seus respectivos tutores.

3.2 Objetivos específicos

- Quantificar os resultados para *Helicobacter* sp. nos cães com histórico clínico de vômito;
- Quantificar os resultados para *Helicobacter* sp. dos tutores submetidos ao teste de urease;

4 MATERIAL E MÉTODOS

Este projeto foi submetido ao Comitê de Ética e experimentação Animal/ UEMA, sob protocolo de nº 12/2017.

4.1 Amostras

As coletas de amostras foram realizadas no Hospital Veterinário Francisco Edilberto Uchôa Lopes, na Universidade Estadual do Maranhão. Onde foram triados cães machos e fêmeas, de diferentes idades, com histórico de vômito, sem administração de antibióticos durante um período prévio de seis meses. Ao todo, foram coletadas amostras de saliva 28 cães e de seus respectivos tutores.

4.2 Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

Os responsáveis pelos animais foram devidamente esclarecidos sobre a metodologia do trabalho e os mesmos assinaram um termo de consentimento livre e esclarecido (APÊNDICE A) no qual consta a autorização para a realização da coleta da amostra e realização do teste de urease URETEST®.

4.3 Teste de urease

Para reação colorimétrica qualitativa para identificação de bactéria *Helicobacter* sp. foi empregado o kit URETEST® segundo a metodologia do fabricante. O teste consiste na adição da amostra biológica em uma solução contendo ureia e um indicador de pH, vermelho fenol, em um *ependorf* (Figura 1), sendo o resultado obtido após um período de um minuto até 2 horas através da mudança de coloração da solução por alteração no pH.

Figura 1: *Eppendorfs* com amostras de saliva. À esquerda resultado reagente/positivo, apresentando coloração rosa e à direita apresentando coloração amarela, caracterizando resultado não reagente/negativo.



FONTE: FRÓES, 2017.

4.4 Coleta de dados

Antes da realização da coleta de material biológico, foi aplicado um questionário (APÊNDICE B) com perguntas abertas e fechadas a respeito do animal sobre o tipo de manejo, ocorrência de vômito, aspecto, coloração e intervalo. Quanto ao tutor, questionou-se sobre algum sintoma digestivo como dor abdominal, azia dentre outros.

Para coleta de amostra de saliva do animal e do tutor, foram utilizadas hastes individuais de *swabs* estéreis. Em seguida, o material coletado foi submerso em *eppendorf* contendo ureia e vermelho fenol como indicador de pH, havendo mudança na coloração de amarelo para rosa, na presença da bactéria, de acordo com a produção da enzima urease por *Helicobacter*, que transforma ureia em CO₂ e amônia.

A leitura foi realizada imediatamente, aguardando mudança de coloração em um intervalo de até duas horas após a realização do teste. Foram positivos aqueles testes que mudaram de coloração nesse intervalo de tempo. Depois de passado tempo de duas horas e não havendo mudança na coloração do conteúdo, o teste foi considerado negativo.

4.5 Análise dos dados

Os resultados das amostras de saliva 28 cães para o teste de urease foram submetidos a análise estatística descritiva do tipo exploratória.

5 RESULTADOS

Conforme tabela 1 (em anexo), das 28 amostras de saliva dos cães coletadas para o teste de urease para detecção de *Helicobacter* sp., obtivemos como resultado 17 amostras positivas (60,71%) e 11 negativas(30,29%).Em relação aos tutores, somente 3 (12%) apresentaram reação positiva para o teste de urease, no qual de acordo com o questionário respondido por eles, observamos que um tutor já havia sido diagnosticado com *Helicobacter* sp. através do exame endoscópico e realizou o tratamento para eliminação do patógeno.

Nos resultados observados na tabela 2 (em anexo), quanto ao sexo dos animais amostrados, 10 (58,82%) foram machos e 7 (41,18%) fêmeas. Quanto à idade observamos que 3 (17,64%) dos cães apresentavam idade entre 1 mês e 11 meses de vida;9 (52,94%) eram cães com idade de 1 a 5 anos e 3 (17,64%)estavam na faixa etária acima de 5 anos.O tipo de alimentação consumida pelos cães do estudo foi a ração oferecida a 11 (64,70%) cães,3 (17,64%) eram alimentados com comida caseira ou mistura de ração e comida caseira, cada um, e a maior incidência foi observada em12 (70,59%) cães sem raça definida (SRD).

Dados referentes às características do vômito quanto a coloração, aspecto, horário da ocorrência e intervalo de episódios podem ser visualizadas na tabela 3 (em anexo). Verificou-se maior prevalência da cor amarela em 8 (47,06%) vômitos de cães, seguida em4 (23,53%) da cor branca e 4 (23,53%) marrom e a coloração esverdeada em menor ocorrênciaem apenas 1 (5,88%).

Quanto a avaliação do aspecto do vômito do cão, foram observados que5 (29,41%) apresetavam vômitocom aparência espumosa e

líquida, respectivamente. Vômito com presença de alimento foi verificado em 4 (23, 53%) dos casos, com presença de muco em 2 (11, 77%) dos casos, e 1 (5,88%) dos entrevistados não souberam descrever o aspecto do vômito.

Ao avaliarmos a quantidade de vezes em que o cão vomitou no período de 24 horas, em 12 (70,58%) cães ocorreu apenas uma vez, 2 (11,76%), ocorreram duas vezes e em 1 (5,88%) dos cães ocorreram três vezes ao dia.

De acordo com o intervalo do vômito no período de 7 dias, 2 (11,77%) cães apresentaram episódios diários; 3 (17,64%) apresentavam duas vezes na semana, 7 (41,19%), uma vez na semana, 1 (5,88%) 3 vezes e 4 (23,52%) dos tutores não souberam determinar a quantidade de vezes na semana.

6 DISCUSSÃO

Para o diagnóstico de rotina, o resultado do teste da urease de amostras da mucosa gástrica é comumente avaliado em conjunto com o resultado do exame histopatológico; entretanto, Guarner et al. (2010) empregaram este teste como método de triagem para *Helicobacter* sp. utilizando amostras de saliva de cães com histórico de vômito recorrente.

Outros estudos também apontam esta metodologia de triagem por meio do teste da urease, entretanto observaram que se torna necessária a confirmação por meio de outros testes mais específicos. Em uma pesquisa realizada em cães procedentes da cidade de Campo Grande - MS, a taxa de colonização por *Helicobacter* spp. avaliada precisou ser confirmada por meio do teste de urease com fragmentos de aproximadamente 6 mm obtidos do fundo gástrico foi de 94,7%, já a avaliação por análise histológica evidenciou uma taxa de 100% da amostra positiva, enfatizando a necessidade de um teste confirmatório, utilizando preferencialmente amostra gástrica, coletada por via endoscopia (OKUBO et al., 2017).

A forma exata pela qual ocorre a transmissão desta *Helicobacter* sp. é desconhecida, o isolamento de *Helicobacter* sp. em saliva, placa dentária e nas fezes reforça a hipótese de transmissão oro-oral ou oro-fecal (SOUZA et al.,

2004).Dados sugerem que a transmissão de *Helicobacter* sp.ocorre por meio do contato inter-hospedeiros e pela ingestão de alimentos ou água contaminados, entretanto até o momento não tenha sido totalmente estabelecida(MADIGAN et al., 2004).Siqueira et al. (2007) eHunter et al. (2006) descrevem como causas gerais da alta taxa de prevalência, a falta de saneamento básico, de água potável, de higiene básica e a superpopulação. O vômito e o refluxo esofágico também são considerados meios de propagação do microrganismo, além de indícios em estudos da permanência de*Helicobacter* sp.em placa dentária ou saliva (SIQUEIRA et al., 2007).

Eaton et al. (1996) em seus estudos sobre a ocorrência de *Helicobacter* spp. em cães provenientes de abrigos, laboratórios e serviço de patologia, demonstraram que a infecção por *Helicobacter* spp é amplamente distribuída na espécie canina. No presente trabalho cinco cães reagentes ao teste de urease pertenciam ao mesmo ambiente familiar, fato esse que pode ter facilitado a transmissão de um cão para o outro, visto que os cães apresentam hábitos sociais, de lambedura, veiculando a bactéria por meio da saliva.

Ao avaliar a presença de*Helicobacter*sp. por teste citológico, histopatológico e pelo teste de urease de amostra gástrica de 81 cães,Romero (2013) não observou associação significativa entre a presença da bactéria e gênero, raça e porte corpóreo dos animais quando analisados individualmente, porém o autor pôde correlacionar a presença de infecção por *Helicobacter*sp. e a faixa etária dos cães, nos quais houve uma redução da infecção em cães idosos, fato contrário ao observado nesta pesquisa onde o maior índice foi de cães jovens acometidos.

Quanto aos quesitos faixa etária, sexo e padrão racial, em 100 cães avaliados por Farias (2014) através do teste de urease, coloração de Gram e cultura microbiológica de amostras da mucosa do antro pilórico, corpo e fundo gástricos,se apresentaram positivos para *Helicobacter* spp. 88 cães, sendoque 50% eram machos e 50% fêmeas, destes 79,5% eram SRD e 20,5% de raça pura; com idade entre 3 a 6 meses correspondendo a 10,2%; 9,1% entre 6 a 12 meses; 31,8% na faixa de 1 ano a 3 anos; 28,4% dos 3 anos até 6 anos; 12,5% dos 6 anos aos 10 anos e 8% acima de 10 anos, porém não apresentou associação quanto aos demais dados dos animais referentes a sexo, idade e raça.

Ao verificar a idade e o sexo de cães em amostras de biópsias de mucosa gástrica da região de fundo e antro pilórico para o teste de urease e histopatológico, Thibaut et al. (2007) encontraram a bactéria tanto em animais jovens como em animais idosos de ambos os sexos, o que sugere taxas de prevalência semelhantes em cães de todas as idades, sem detectar associação entre a idade e densidade de colonização.

No trabalho de Monteiro (2004), 70% da amostra apresentou positividade ao teste de urease através da biópsia do estômago, porém ao realizar o exame de PCR com amostra da saliva e placa dentária, o resultado demonstrou ausência de *Helicobacter* sp. Neste estudo foi obtida uma reação positiva através da amostra da saliva, contudo pode ocorrer falso positivo devido a outras bactérias presentes na cavidade oral por apresentarem como características a produção de urease.

De acordo com Agüloğlu et al. (2014), ao coletar amostras de placa dentária e saliva de humanos para a cultura microbiológica, houve crescimento bacteriano de *Helicobacter* sp. em seguida foi feito o teste urease, usando amostra de saliva coletada com o *swab*, apresentando positividade para a bactéria. Os resultados obtidos neste estudo utilizaram metodologia semelhante como triagem de animais, confirmando que a possibilidade da reação positiva do teste de urease quando da produção desta enzima por bactérias do gênero *Helicobacter*.

7 CONCLUSÕES

- Existem bactérias produtoras de urease na saliva de cães e respectivos tutores, havendo a possibilidade desta reação ocorrer em função da presença de *Helicobacter* sp.
- A confirmação da presença desta bactéria na saliva de cães é necessária, por meio de testes mais sensíveis.
- A presença da bactéria em saliva de cães pode ser considerada uma importante fonte de contaminação e uma via de transmissão entre animais e interespécies, devido à proximidade de cães e tutores, levando-se em consideração os hábitos sociais desses animais.

REFERÊNCIAS

- AGÜLOĞLU, S.; TURHANOĞLU, M.; TACIR, S. E. I. Detection of *Helicobacter pylori* colonization in human dental plaques and saliva of patients with chronic gastritis. **Biotechnology & Biotechnological Equipment**, v.20, n.2, p.173-178, 2006.
- ANACLETO, T. P.; LOPES, L. R.; ANDREOLLO, N. A.; FILHO, W. O. B.; RESCK, M. C. C.; MACEDO, A. Estudo da recorrência do *Helicobacter* spp. na mucosa gástrica de cães após terapia triplíce. **Acta Cirúrgica Brasileira**, v. 26, n.2, 2011.
- ARAÚJO, I. C. et al. Helicobacter species detection and histopathological changes in stray cats from Niterói, Brazil. **Journal of Feline Medicine and Surgery**. v.12, p.509-511, 2010.
- BERROTERAN, A. et al. Detection of *Helicobacter pylori* DNA in the oral cavity and gastroduodenal system of a Venezuelan population. **Journal of Medical Microbiology**, v.51, n.9, p.764-770, 2002.
- BROWN, L. M. *Helicobacter pylori*: epidemiology and routes of transmission. **Epidemiologic reviews**, v.22, n.2, p.283-297, 2000.
- CARVALHO, G. D. et al. Aspectos zoonóticos de *Helicobacter* spp. **Bioscience Journal**, v.24, n.4, 2008.
- COSTA, M. C. et al. Utilização do extrato de própolis, do óleo de alho e da terapia tripla no controle do *Helicobacter* spp. em cães. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.61, n.2, 2009.
- COSTA, M. C. et al. Detecção de *Helicobacter* spp. em amostras de mucosa gástrica de cães assintomáticos e alterações histológicas associadas. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v.49, n.4, p.285-292, 2012.
- COUTO, C. G.; NELSON, R. **Medicina Interna de pequenos animais – 2ª Ed.**; Guanabara – Koogan; Rio de Janeiro – RJ; p. 332 – 335, 2001.
- CUSTÓDIO, R. O. et al. Identificação do *Helicobacter pylori* pela citologia do escovado gástrico: comparação com o método histológico. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v.38, n.4, p.322-325, 2005.
- CUTLER, A. F. et al. Accuracy of invasive and noninvasive tests to diagnose *Helicobacter pylori* infection. **Gastroenterology**, v.109, n.1, p.136-141, 1995.
- DENOVO, R. C. Doenças do estômago. In: TAMS, T. R. **Gastroenterologia de pequenos animais**. 2. ed. São Paulo: Roca, c. 5, p.155-189, 2005.

EATON, K. A. et al. Prevalence and varieties of *Helicobacter* species in dogs from random sources and pet dogs: animal and public health implications. **Journal of Clinical Microbiology**, v.34, n.12, p.3165-3170, 1996.

EKMAN, E. et al. *Helicobacterspp.* in the saliva, stomach, duodenum and faeces of colony dogs. **The Veterinary Journal**,v.195, n.1, p.127-129, 2013.

ESLICK, G. D. Sexual transmission of *Helicobacter pylori* via oral-anal intercourse. **International Journal of STD & AIDS**, v.13, n.1, p.7-11, 2002.

FARIAS, L. A. **Pesquisa de *Helicobacterspp.* na mucosa gástrica de cães no estado da Paraíba.** 2014. Dissertação (mestrado em ciênciaveterinárias) Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária da Universidade Federal de Campina Grande. Patos, 2014.

FERNANDEZ, H. Gênero *Helicobacter*. In: TRABULSI, L. R.; ALTERTHUM, F. **Microbiologia**,5. ed. São Paulo: Atheneu. c. 48, p.363-368, 2008.

GRANER, R. O. M.; GONÇALVES, R. B.; FURLAN, J. F. H. L. M. **Aspectos microbiológicos da placa dental.** Piracicaba, 2005.

GOH, K. et al. Epidemiology of *Helicobacter pylori*infection and Public Health implications **Helicobacter**. v.16, n.1, p.1-9, 2011.

GOODWIN, C. S.; MENDALL, Michael M.; NORTHFIELD, Timothy C. *Helicobacter pylori* infection. **The Lancet**, v.349, n.9047, p.265-269, 1997.

GUARNER, J. et al.*Helicobacter pylori* diagnostic tests in children: review of the literature from 1999 to 2009. **European journal of pediatrics**, v. 169, n. 1, p. 15-25, 2010.

GUIMARÃES, J.; CORVELO, T. C.; BARILE, K. A. *Helicobacter pylori*: fatores relacionados à sua patogênese. **Revista Paraense de Medicina**, v.22, n.1, p.33-38, 2008.

HAESEBROUCK, F. et al.Gastric helicobacters in domestic animals and nonhuman primates and their significance for human health. **Clinical Microbiology Reviews**.v.22, n.2, p.202–223, 2009.

HAPPONEN, I. et al. Comparison of diagnostic methods for detecting gastric *Helicobacter*-like organisms in dogs and cats. **Journal of Comparative Pathology**, v.115, n.2, p.117-127, 1996.

HUNTER, R. H.X. et al. Diretriz prática*Helicobacter pylori* em países em desenvolvimento. **World Gastroenterology Organisation Practice Guidelines**,p.1-30, 2006.

KLEIN, P. D. et al. Water source as risk factor for *Helicobacter pylori* infection in Peruvian children. **The Lancet**, v.337, n.8756, p.1503-1506, 1991.

KOELLE, D. M. et al. Frequent detection of Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus (human herpesvirus 8) DNA in saliva of human immunodeficiency virus-infected men: clinical and immunologic correlates. **Journal of Infectious Diseases**, v.176, n.1, p.94-102, 1997.

KUSZKOWSKI, F. S. et al. Identificação de *Helicobacter* spp. em mucosas gástrica e duodenal de cães (*Canis familiaris*) utilizando a técnica de Warthin-Starry. **Ciência Animal Brasileira**, v.18, p.1-9, 2017.

LADEIRA, M. S. P.; SALVADORI, D. M. F.; RODRIGUES, M. A. M. Biopathology of *Helicobacter pylori*. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, v.39, n.4, p.335-342, 2003.

LOGAN, R. P. H.; WALKER, M. M. ABC of the upper gastrointestinal tract: Epidemiology and diagnosis of *Helicobacter pylori* infection. **BMJ: British Medical Journal**, v.323, n.7318, p.920, 2001.

MADIGAN, M. T.; M, J. M.; PARKER, J. Diversidade procariótica: bactéria. **Microbiologia de Brock**, v.10, 2004.

MINCIS, M.; MINCIS, R.; MINCIS, R. Avanços no tratamento da bactéria *Helicobacter pylori* (HP). **GED: gastroenterologia endoscopia digestiva**, v. 30, n. 2, p. 75-79, 2011.

MOMTAZ, H.; SOUOD, N.; DABIRI, H. Comparison of the virulence factors of *Helicobacter pylori* isolated in stomach and saliva in Iran. **The American Journal of the Medical Sciences**, v. 340, n. 5, p. 345-349, 2010.

MONTEIRO, R. S. B. **Análise de *Helicobacter pylori* na placa dental e saliva e biópsia gástrica**. 2004. Dissertação (mestrado em odontologia) Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Universidade do Grande Rio. Rio de Janeiro, 2004.

MOURA, S. A. B. et al. Valor diagnóstico da saliva em doenças sistêmicas: uma revisão de literatura. **Pesquisa Brasileira em Odontopediatria e Clínica Integrada**, v.7, p.187-194, 2007.

MOUTINHO, F. Q. et al. Prevalência de helicobactérias e alterações na mucosa gástrica de cães saudáveis. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.59, n.4. p.1080-1083, 2007.

NEIGER, R.; SIMPSON, K. W. Helicobacter infection in dogs and cats: facts and fiction. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v.14, n.2, p.125-133, 2000.

OKUBO, B. M. et al. Prevalência de *Helicobacter* spp. em cães de Campo Grande - MS. **Ciência Animal Brasileira**. Goiânia, v.18, p.1-10, e-17286, 2017.

OWEN, R. J. *Helicobacter*. **Topley and Wilson's Microbiology and Microbial Infection**: Leslie Collier, p.1-22, 2010.

PINTO, A, C. R. ***Helicobacter pylori*: uma revisão**. 2007. Monografia (Graduação em Farmácia).Centro Universitário das Faculdades Metropolitanas Unidas. São Paulo, 2007.

POSTIUS, S. *Helicobacter Pylori*. **Contributions to Microbiology**,v.8, p. 35-50, 2001.

RECORDATI, C. et al.Detection of *Helicobacter* spp. DNA in the oral cavity of dogs. **Veterinary Microbiology**, v.119, n.2, p.346-351, 2007.

ROMERO, D. C. **Estudo da helicobacteriose em cães e gatos: determinação da frequência de ocorrência na mucosa gástrica de animais necropsiados e comparação entre métodos de diagnóstico**. 2013. Dissertação (mestrado em ciências) Programa de Pós-Graduação em Patologia Experimental e Comparada da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo. São Paulo, 2013.

SAMARANAYAKE, L. **Fundamentos de microbiologia e imunologia na odontologia**. Elsevier Brasil, 2012.

SANTANA, L.R.; OLIVEIRA, T. P. Guarda responsável e dignidade dos animais. **Revista Brasileira de Direito Animal**, v.1, n.1, p.67-104, 2006.

SANTOS, B. M.**Endoscopia em cães: aspectos macroscópicos e microscópicos da mucosa gástrica após intoxicação por tetracloreto de carbono e técnicas para detecção de *Helicobacter* spp.** 2012. Tese (doutorado em Ciência Animal)da Universidade Federal de Goiás. Goiânia, 2012.

SIQUEIRA, J. S. et al. Aspectos Gerais nas Infecções por *Helicobacter pylori* Revisão.**Revista Brasileira de Análises Clínicas**, v.39, n.1, p.9-13, 2007.

SOUZA, M.L. et al. Prevalência de *Helicobacter* em cães oriundos do biotério central da Universidade Estadual de São Paulo (UNESP) - Botucatu. **Acta Cirurgica Brasileira**, v.19, n.5 São Paulo Set/Out, 2004.

TAKEMURA, L. S. **Caracterização molecular de *Helicobacter* spp. em sistema hepatobiliar de cães e gatos com lesões hepáticas**. Londrina, 2012. Tese de Doutorado. Tese (Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, Doutorado em Ciência Animal) - Universidade Estadual de Londrina. Londrina, 2012.

TENÓRIO, P. P.; MELO JUNIOR, M. R. Correlação entre a histopatologia e teste da urease para pesquisa de *H. pylori* em pacientes portadores de gastrite. **Revista de Ciências Médicas e Biológicas**, v.8, n.3, p.301-306, 2009.

THIBAUT, J.; PAZ,V.; PAREDES,E., ERNST,S. Determinación de la presencia de *Helicobacter* spp. en perros, mediante biopsia gástrica obtenida por endoscopia. **Revista Científica**, v.17, n.3, 2007.

UMEDA, M. et al. High prevalence of *Helicobacter pylori* detected by PCR in the oral cavities of periodontitis patients. **Journal of periodontology**, v.74, n.1, p.129-134, 2003.

VIEIRA, F. T. et al.Frequência e distribuição de *Helicobacterspp.* na mucosa gástrica de cães. **Revista Ceres**,v.59, n.1, p. 25-31, 2012.

VITORIANO, I. et al. Ulcerogenic *Helicobacter pylori* strains isolated from children: a contribution to get insight into the virulence of the bacteria. **PLOS ONE**, v.6, n.10, p.26265, 2011.

WEBB, J. L.; RAKICH, P. M.; LATIMER, K. S. O trato gastrointestinal. In: DENICOLA, D. B.; COWELL, R. L.; MEINKOTH, J. H.; TYLER, R. D. **Diagnóstico citológico e hematologia de cães e gatos**. 3. edição São Paulo: Mosby Elsevier. c.18, p. 288-289. 2009.

WILKINSON, M. *Helicobacter pylori*: An Overview. **British Journal of Biomedical Science**,v.58, p. 59-60, 2001.

WILLARD, M. B. Distúrbios do estômago. In: NELSON, R. W.; COUTO, C. G. (Ed.) **Medicina interna de pequenos animais**. 3. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, c. 32, p. 405-416, 2006.

Anexos

Tabela 1: Resultado do teste colorimétrico de urease em saliva de cães e os respectivos tutores

	TUTOR	CÃO
Nº	RESULTADO	RESULTADO
1	POSITIVO	POSITIVO
2	NEGATIVO	NEGATIVO
3	POSITIVO	POSITIVO
4	POSITIVO	POSITIVO
5	NEGATIVO	POSITIVO
6	NEGATIVO	POSITIVO
7	NEGATIVO	POSITIVO
8	NEGATIVO	POSITIVO
9	NEGATIVO	NEGATIVO
10	NEGATIVO	POSITIVO
11	NEGATIVO	NEGATIVO
12	NEGATIVO	NEGATIVO
13	NEGATIVO	NEGATIVO
14	NEGATIVO	NEGATIVO
15	NEGATIVO	NEGATIVO
16	NEGATIVO	NEGATIVO
17	NEGATIVO	POSITIVO
18	NEGATIVO	NEGATIVO
19	NEGATIVO	POSITIVO
20	NEGATIVO	NEGATIVO
21	NEGATIVO	POSITIVO
22	NEGATIVO	POSITIVO
23	NEGATIVO	NEGATIVO
24	NEGATIVO	POSITIVO
25	NEGATIVO	POSITIVO
26	NEGATIVO	POSITIVO
27	NEGATIVO	POSITIVO
28	NEGATIVO	POSITIVO

Tabela 2: Raça, sexo, idade, alimentação de cães com histórico de êmese

CÃO	TESTE	RAÇA	SEXO	IDADE	ALIMENTAÇÃO
1	Positivo	SRD	F	10 anos	Ração/Comida caseira
2	Negativo	Poodle	F	7 anos	Ração/Comida caseira
3	Positivo	Pit Bull	F	7 meses	Ração
4	Positivo	SRD	F	2 meses	Ração
5	Positivo	Poodle	M	10 anos	Ração/Comida caseira
6	Positivo	SRD	M	1 ano 3 meses	Comida
7	Positivo	SRD	M	*	Comida
8	Positivo	SRD	F	10 anos	Ração/Comida caseira
9	Negativo	SRD	F	*	Ração
10	Positivo	SRD	F	3 anos	Comida
11	Negativo	Poodle	M	10 anos	Ração
12	Negativo	Chow Chow	M	1 ano 6 meses	Ração
13	Negativo	Poodle	F	9 anos 3 meses	Ração
14	Negativo	Shih Tzu	F	1 ano 8 meses	Ração
15	Negativo	Shih Tzu	F	5 anos	Ração
16	Negativo	Poodle	M	4 anos	Ração
17	Positivo	SRD	F	2 anos	Ração
18	Negativo	Poodle	F	10 anos	Ração
19	Positivo	Poodle	M	3 anos	Ração
20	Negativo	Poodle	M	4 anos	Ração
21	Positivo	Pit Bull	M	1 ano 3 meses	Ração
22	Positivo	Pit Bull	M	1 ano 3 meses	Ração
23	Negativo	Shih Tzu	M	1 ano 6 meses	Ração
24	Positivo	SRD	M	4 anos	Ração
25	Positivo	SRD	M	4 anos	Ração
26	Positivo	SRD	M	*	Ração
27	Positivo	SRD	F	5 anos	Ração
28	Positivo	SRD	M	10 meses	Ração

*Dado não informado pelo tutor

Tabela 3: Coloração, aspecto, hora do dia e intervalo do vômito de cães

CÃO	RESULTADO	COLORAÇÃO	ASPECTO	FREQUÊNCIA	INTERVALO
1	POSITIVO	BRANCA	ESPUMOSO	3 VEZES	DIÁRIO
2	NEGATIVO	AMARELA	VISCOSO	3 VEZES	2 VEZES
3	POSITIVO	AMARELA	LIQUIDO	*	3 VEZES
4	POSITIVO	AMARELA	ESPUMOSO	2 VEZES	*
5	POSITIVO	AMARELA	ESPUMOSO	1 VEZ	*
6	POSITIVO	BRANCA	ESPUMOSO	*	2 VEZES
7	POSITIVO	AMARELA	ALIMENTO	1 VEZ	DIARIO
8	POSITIVO	BRANCA	LIQUIDO	2 VEZES	*
9	NEGATIVO	VERDE	*	2 VEZES	*
10	POSITIVO	BRANCA	ESPUMOSO	1 VEZ	1 VEZ
11	NEGATIVO	AMARELA	LIQUIDO	*	*
12	NEGATIVO	AMARELA	ALIMENTO	1 VEZ	2 VEZES
13	NEGATIVO	AMARELA	PASTOSA	1 VEZ	1 VEZ
14	NEGATIVO	AMARELA	ESPUMOSO	2 VEZES	2 VEZES
15	NEGATIVO	AMARELA	ESPUMOSO	2 VEZES	2 VEZES
16	NEGATIVO	AMARELA	ESPUMOSO	1 VEZ	2 VEZES
17	POSITIVO	AMARELA	LIQUIDO	1 VEZ	1 VEZ
18	NEGATIVO	BRANCA	ESPUMOSO	1 VEZ	1 VEZ
19	POSITIVO	AMARELA	*	1 VEZ	*
20	NEGATIVO	AMARELA	ESPUMOSO	3 VEZES	*
21	POSITIVO	AMARELA	VISCOSO	1 VEZ	2 VEZES
22	POSITIVO	AMARELA	VISCOSO	1 VEZ	2 VEZES
23	NEGATIVO	AMARELA	LIQUIDO	2 VEZES	1 VEZ
24	POSITIVO	MARROM	ALIMENTO	1 VEZ	1 VEZ
25	POSITIVO	MARROM	ALIMENTO	1 VEZ	1 VEZ
26	POSITIVO	MARROM	LIQUIDO	1 VEZ	1 VEZ
27	POSITIVO	MARROM	ALIMENTO	1 VEZ	1 VEZ
28	POSITIVO	VERDE	LIQUIDO	1 VEZ	1 VEZ

*Dado não informado pelo tutor

APÊNDICE A - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO MARANHÃO
CENTRO DO CIENCIAS AGRÁRIAS
CURSO DE MEDICINA VETERINÁRIA

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

O Sr. (a) está sendo convidado (a) a participar e autorizar a participação de seu(s) animal(is) na pesquisa de doutorado intitulada “**análise qualitativa da reação colorimétrica do teste de urease para *Helicobacter sp.* em saliva de cães**”, que tem por objetivo detectar os casos de infecção por *Helicobacter sp* em cães e seus respectivos tutores, identificar as espécies presentes em cães e testar atividade do óleo de coco frente a esta infecção.

Ao participar deste estudo o Sr. (a) permitirá que o (a) pesquisador (a) colete amostras de saliva da cavidade oral do tutor e de seu cão (es), e depois de consentir sua participação se o Sr. (a) desistir de continuar participando, tem o direito e a liberdade de retirar seu consentimento em qualquer fase da pesquisa, seja antes ou depois da coleta de dados, independente do motivo e sem nenhum prejuízo a sua pessoa e animal.

O Sr. (a) não terá nenhuma despesa para participar desta pesquisa (diagnóstico do tutor e do seu animal) e não receberá nenhuma remuneração.

Os resultados da pesquisa serão analisados e publicados, mas sua identidade não será divulgada, sendo guardada em sigilo.

Esperamos que este estudo traga contribuições importantes, como a atual prevalência da doença no mundo inteiro, a fim de evitar que seja um fator de risco para problemas mais graves.

Após estes esclarecimentos, solicitamos o seu consentimento de forma livre para participar desta pesquisa. Portanto preencha, por favor, os itens que se seguem:

Eu, _____,
portador de RG/CPF nº _____, nascido em
_____ telefone _____, residente à _____
_____, e-mail
_____ tutor/responsável pelo (s) animal (is)
_____, raça _____, sexo
_____, autorizo a utilizar a minha amostra e de meu animal como sujeito de
pesquisa para fins científicos.

Assinatura do Tutor

Assinatura do pesquisador

Data: ____/____/____

APÊNDICE B – Questionário

**ANÁLISE QUALITATIVA DA REAÇÃO COLORIMÉTRICA DO TESTE DE UREASE PARA
Helicobacter sp. EM SALIVA DE CÃES**

Questionário

Informações sobre o tutor

Identificação do paciente: N°

Nome:

Idade: Cor: Sexo: Estado civil:

Peso: Altura: Profissão: IMC:

Endereço:

Telefone: Email:

Histórico clínico:

Desconforto abdominal: () Vômito () Azia ()

Fez uso de tratamento: Qual?

Já fez endoscopia:

Diagnóstico:

Informações sobre o animal

Nome: Raça: Sexo: Idade:

Alimentação: Mais de um cão no convívio:

Outros animais:

Histórico de vômito: Frequência/Intervalo:

Coloração: Aspecto: Hora do dia:

Dados dos pesquisadores:

Prof. Ana Lucia Abreu Silva

Prof. Dra. Solange de Araujo Melo

MSc. Adriana Vívian Costa Araujo

Alexandre José dos Santos Froes

Ana Paula Marques Muller

Larissa de Moraes Abreu