

CAMPYLOBACTER PYLORI AISLAMIENTO EN BIOPSIAS DE MUCOSA GÁSTRICA

Edith Barrantes, Sundry Durán*, León de Mezerville***

RESUMEN

*Se realizó un estudio preliminar para establecer la asociación de Campylobacter pylori con la presencia de gastritis y/o úlcera gástrica. Un total de 53 pacientes de la Consulta de Gastros-
copia del Hospital San Juan de Dios, fueron seleccionados para estudio histológico y microbiológico de biopsia gástrica.*

La bacteria fue identificada como C. pylori en 36 (73,5%) de 49 biopsias de mucosa antral, que presentaba una acentuada reacción inflamatoria neutrofílica, concomitantemente con la presencia del bacilo.

Se encontró una fuerte asociación del C. pylori y los hallazgos histológicos de gastritis aguda antral y úlcera antral, demostrada por examen histológico, frotis por aposición y cultivo.

Se comprobó la sensibilidad de la tinción de Gram en los frotis por aposición, como método de diagnóstico rápido y de bajo costo. [Rev. Cost. Cienc. Méd. 1989; 10 (2) :31-40].

INTRODUCCION

Desde hace casi un siglo, se tienen registros de la observación de espiroquetas en la mucosa gástrica de animales y humanos (18). Esto ha sido motivo de estudio para tratar de deter-

minar el por qué de su presencia en el hombre y su relación con la enfermedad gástrica, considerando de este modo la posibilidad de una etiología infecciosa en la producción de la gastritis y la úlcera péptica (1, 5, 8).

A mediados de siglo aparece el primer trabajo hecho en especímenes de biopsia en humanos, cuyos resultados fueron difíciles de interpretar (18). En 1979 y 1981, Warren y Marshall (10, 12, 23) observaron espiroquetas en especímenes de mucosa antral con gastritis crónica activa, y lograron el aislamiento de un bacilo curvo gramnegativo, con las características de *Campylobacter pylori*, estableciendo así una presunta relación entre su presencia y la producción de enfermedad gástrica.

Con el propósito de estudiar esta relación en Costa Rica, fueron seleccionados 53 pacientes de la Consulta de Gastros-
copia del Hospital San Juan de Dios, San José, Costa Rica, con un diagnóstico clínico de síndrome ulceroso. Este reporte analiza específicamente la presencia de las bacterias, su aislamiento e identificación y su probable asociación con gastritis y/o úlcera péptica comprobada histológicamente.

MATERIAL Y METODOS

Se realizó un estudio prospectivo de 53 pacientes seleccionados de la Consulta de Gastros-
copia del Hospital San

* Servicio de Patología, Hospital San Juan de Dios, San José, Costa Rica.

** Servicio de Gastroenterología, Hospital San Juan de Dios, San José, Costa Rica.

Juan de Dios, San José, Costa Rica, en el período comprendido entre abril y octubre de 1988, quienes presentaban sintomatología presuntiva de gastritis y/o úlcera péptica. Treinta y cinco pacientes eran mujeres (66%) y dieciocho hombres (34%).

El ámbito de edades osciló entre los 16 y 74 años, con una edad mediana de 46 años. Un 76 por ciento de los pacientes eran menores de 60 años. Se realizó el estudio endoscópico y la toma de biopsia gástrica con un doble muestreo; se depositaron los especímenes en un recipiente con formalina y otro con solución salina estéril para proceder el análisis histológico y microbiológico respectivamente.

La muestra para estudio microbiológico se cultivó por oposición del tejido sobre una placa de agar chocolate suplementado (Thayer-Martin Supplement II Mikrobiologie), se incubó a 36°C, en una atmósfera microaerófila la cual se obtuvo con media tableta de Alka-Seltzer (Miles Lab. Inc.) disuelta en 10 ml de agua, en una jarra de Brewer sin catalizador. Luego se hizo un extendido por aposición del tejido en un portaobjetos estéril para proceder a teñir con Gram modificado (17). Al cabo de 4 días se analizaron aquellas colonias con un diámetro de aproximadamente 1 mm, translúcidas y de color grisáceo. Se les realizó tinción de Gram para observar la morfología tipo *Campylobacter*, además de pruebas específicas como catalasa, oxidasa, ureasa rápida, tinción para flagelos, resistencia al ácido nalidixico, crecimiento en NaCl al 3,5 por ciento y en glicina al 1,0 por ciento para confirmar su identificación.

Para el análisis histológico, el tejido fijado en formalina al 10 por ciento se impregnó en resma de plástico y en parafina. Se hicieron cortes a 2 micras

y a 5 micras de acuerdo al material de impregnación respectivamente. Se tiñó con hematoxilina-eosina. Se estableció el diagnóstico de la lesión gástrica y se identificaron microorganismos con características semejantes al *Campylobacter*, como estructuras curvas dispuestas a lo largo de la superficie mucosa y dentro de las glándulas. Posteriormente se realizaron tinciones adicionales como azul de toluidina en los cortes en plástico y Giménez en los cortes en parafina, para su observación por microscopía de luz.

De algunos casos se hizo estudio para microscopía electrónica para observar la ultraestructura del bacilo.

RESULTADOS

De los 53 casos evaluados, 22 de ellos (42%) presentaron una úlcera antral al momento de la gastroscopía.

En 49 casos, las biopsias se obtuvieron del antro gástrico, y en 36 de estos (74%) la bacteria fue identificada al examen histológico como bacilos curvos hematoxilínofílicos, fácilmente reconocibles en los cortes teñidos con hematoxilina-eosina, azul de toluidina y tinción de Giménez. (Figuras 1 y 2).

En cuatro pacientes, las biopsias se tomaron de sitios diferentes del antro, distribuidos de la siguiente manera: una de una lesión ulcerada del cuerpo, dos del fondo gástrico y una de la región subcardial.

Las bacterias se encontraron en la capa de moco que reviste el epitelio superficial y en los cuellos glandulares, en contacto estrecho con las células epiteliales. (Figura 2).

La mucosa gástrica exhibía inflamación aguda en 37 de los casos positivos. (Figuras 1, 3 y 4).

La correlación entre el tipo de lesión gástrica encontrada y la presencia de

bacilos se muestra en el Cuadro 1. En el Cuadro 2, se ve la distribución de los casos positivos por grupos de edad. No se abarcó gran número de pacientes mayores de 70 años, en quienes la frecuencia de aislamiento de *C. pylori* es del 70 por ciento (9). La frecuencia del bacilo en los cortes histológicos de los casos con úlcera antral fue mayor (86%) que en aquellos con gastritis.

Los frotis directos de biopsia gástrica teñidos con Gram modificado presentaban un predominio de bacterias gramnegativas, con morfología curva característica de *Campylobacter pylori* (Figura 5).

A los cuatro días de incubación en el medio de agar chocolate suplementado crecieron colonias, a las que se les realizó tinción de Gram, observándose bacilos gramnegativos con morfología de U. (Figura 6).

C. pylori se aisló en 40 de los 53 casos estudiados (75%) y fue identificado como tal basándose en las siguientes pruebas: oxidasa, catalasa y ureasa rápida positivas; fermentación de glucosa, crecimiento en NaCl al 3,5 por ciento y glicina al 1 por ciento negativas, y por su resistencia al ácido nalidíxico.

CUADRO 1
CORRELACION ENTRE LOS TIPOS DE LESION GASTRICA Y
PRESENCIA DE CAMPYLOBACTER PYLORI EN EL ESPECIMEN DE BIOPSIA

TIPO DE LESION	Nº DE PACIENTES						
	TOTAL	CORTE HISTOLOGICO		FROTIS DIRECTO		CULTIVO	
		POSIT.	NEGAT.	POSIT.	NEGAT.	POSIT.	NEGAT.
Úlcera antral	22	17	5	19	3	18	4
Úlcera del cuerpo	1	-	1	-	1	-	1
Gastritis aguda antral	25	19	6	17	8	19	6
Gastritis aguda sub-cardial y del Fondo	2	2	-	2	-	2	-
Gastritis crónica atrófica antral	2	-	2	1	1	1	1
Gastritis crónica atrófica del fondo	1	-	1	-	1	-	1

CUADRO 2
DISTRIBUCION POR EDAD
DE LOS PACIENTES CON
LESION GASTRICA Y PRESENCIA
DE CAMPYLOBACTER PYLORI

GRUPOS DE EDAD (AÑOS)	Nº PACIENTES
10-19	1
20-29	6*
30-39	7
40-49	8
50-59	7
60-69	6
70-79	3
TOTAL	38

* Uno de los casos en este grupo de edad mostraba lesión histológica mínima.

DISCUSION

En este estudio, aunque no hubo pacientes control negativos por la dificultad de conseguir biopsias en voluntarios asintomáticos, se pudo corroborar algunos de los datos reportados en la hoy abundante literatura, que habla de la asociación entre *C. pylori* y la producción de gastritis y úlcera péptica. Al igual que otros autores, se obtuvo una buena correlación entre las gastritis aguda y la presencia del bacilo (2, 3, 7, 12, 13, 20).

Con relación a la úlcera antral se encontraron cifras altas de presencia del bacilo (86%), lo cual no concuerda con otros estudios donde no se pudo de-

mostrar (2, 3, 11, 21, 22). Sin embargo, Mc Nulty y colaboradores (13) y Johnston y colaboradores (7) corroboran estos hallazgos.

Al examinar histológicamente los especímenes de biopsia, se observó que en todos los casos en los cuales se demostró el *Campylobacter pylori*, éste era fácilmente reconocible en las tinciones con hematoxilina-eosina como bacilos curvos, de color azul, ubicados en y por debajo de la capa de moco que recubre el epitelio, en los cuellos glandulares de las criptas, relacionados estrechamente con las células epiteliales y en los sitios de unión intercelular, de acuerdo a lo reportado originalmente y en estudios posteriores (6, 12, 22).

Otro dato importante es la actividad neutrofílica acentuada que mostraba el epitelio glandular en los casos positivos, a este hallazgo también se refieren otros autores (10, 20), lo cual se puede interpretar como indicador de la reacción del huésped a la colonización del bacilo.

Semejante a lo reportado en otros trabajos (10, 12, 23) no se encontró la bacteria en áreas con metaplasia intestinal.

La metodología tradicional de aislamiento de *C. pylori* se basa en el uso de medios de cultivo con antibióticos y de sobres generadores de bióxido de carbono. Por razones de índole económico en este estudio se introdujo el uso de agar chocolate suplementado sin antibióticos y las condiciones microaerofílicas se obtuvieron con el uso de tabletas de Alka-Seltzer, obteniéndose magníficos resultados en el aislamiento de la bacteria.

Al igual que otros autores (16, 19) se considera que la tinción de Gram de los frotis por aposición es tan efectiva como el cultivo. Este es un método de

diagnóstico rápido y de bajo costo, comparado con el costo y tiempo requeridos para efectuar tinciones de cortes histológicos, aislamiento e identificación de la bacteria, así como el costo en pruebas comerciales para detectar la producción de ureasa (4, 15); la morfología curva y la característica gramnegativa del *C. pylori* es fácilmente observable sin que medie confusión con otras bacterias del tubo digestivo, que pudieran ser arrastradas durante el proceso de la toma de muestra.

Se debe considerar la ampliación de la investigación en este campo, tomando en cuenta otros factores que intervengan en la colonización e implantación de este microorganismo en la mucosa gástrica.

ABSTRACT

A preliminary study was performed in order to establish the association of Campylobacter pylori with the presence of gastritis and/or gastric ulcer in gastric biopsies. A series of 53 patients from the Gastroscopy Unit of Hospital San Juan de Dios were selected for histologic and microbiologic study of their gastric biopsies. Bacteria present in 36 of 49 biopsies of antral mucosa (73%) were identified as C. pylori and there was a concomitant marked acute inflammatory infiltration. A strong association was found between the presence of C. pylori as shown by histological examination, touch preparations and culture and acute gastritis of the antrum or antral peptic ulcer. Gram stain of touch preparations has great sensibility and it is a quick and low cost diagnostic method.

BIBLIOGRAFÍA

1. Buck GE. *Campylobacter pylori*. A New Organism Involved in Gastritis and Possibly Peptic Ulcer. *Lab. Medica* 1988; 3:39-41.
2. Buck GE, Gourley WK, Lee WK, et al. Relation of *Campylobacter pyloridis* to Gastritis and Peptic Ulcer. *J Infect Dis* 1986; 153:664-669.
3. Burnett RA, Forrest JAH, Girwood RWA, Fricker CR. *Campylobacter* like organisms in the stomach of patients and healthy individuals (letter). *Lancet* 1984; 1:1349.
4. Borromeo M, Lambert JR, Pinkard KJ. Evaluation of "CLO-TEST" to Detect *Campylobacter pyloridis* in gastric mucosa. *J. Clin Pathol.* 1987; 40:462-468.
5. Editorial. Peptic Ulcer Disease: A Bacterial Infection. *N Engl J Med* 1987; 316:1598-1600.
6. Hazell SL, Lee A, Brady L, Hannessey W. *Campylobacter pyloridis* and Gastritis. Association with Intracellular Spaces and Adaptation To an Environment of Mucus as Important factors in Colonization of the Gastric Epithelium. *J Infect Dis* 1986; 153:658-663.
7. Johnston B, y Col. *Campylobacter* like organisms in duodenal and antral endoscopic biopsies: relationship to inflammation. *Gut* 1986; 27:1132-1137.
8. Jones DM, Lessels AM, Elridge J. *Campylobacter* like organisms in the gastric mucosa: culture, histological and serological studies. *J. Clin. Pathol* 1984; 37:1002-1006.
9. Langenberg NL, Tytgat GNJ, Schipper ME. *Campylobacter*-like organisms in the stomach of patients and healthy individuals. *Lancet* 1985; 1:921.
10. Marshall BJ, *Campylobacter pyloridis* and Gastritis. *J Infect Dis* 1986; 153:650-657.
11. Marshall BJ, Mc Geachie DB, Rogers PA, Glancy RJ. Pyloric *Campylobacter* infection and gastroduodenal disease. *Med J Aust* 1985; 142:439-444

12. Marshall BJ, Warren JR. Unidentified curved bacilli in the stomach of patients with gastritis and peptic ulceration. *Lancet*; 1:1311-15.
13. Mc Nulty CAM, Watson DM. Spiral Bacteria of the gastric antrum (letter). *Lancet* 1984; 1:1068-9.
14. Meyrick TJ, Poynter D, Gooding C *et al.* Gastric spiral bacteria. *Lancet* 1984; 2:100.
15. Mobley HL, Cortesia Mj, Rosenthal ME, Jones BD. Characterization of Ureasa from *Campylobacter pylori*. *J. Clin Microbiol.* 1988; 26:831 -836.
16. Montgomery EA, Martin DF, Peura Da. Rapid Diagnosis of Campylobacter by Gram's Stain. *Am J Clin Pathol* 1988; 90:609.
17. Morris GK, Patton CM. Campylobacter. Lennette EH, Balows A, Hausler WJ, Shadomy H. (Ed.) *Manual of Clinical Microbiology*. American Society for Microbiology 4a. ed. Washington DC 1985; 302-308.
18. Palmer ED. Investigation of the gastric mucosa spirochetes of the human. *Gastroenterology* 1954; 27:218-20.
19. Parsonet J y Col. Simple Microbiology Detection of *Campylobacter pylori*. *J. Clin Microbiol* 1988; 26:948-49.
20. Phillips AD, Hine KR, Holmes GKT, Woodings DF. Gastric spiral bacteria. *Lancet* 1984; 2:100-1.
21. Rollason TP, Stone J, Rhodes JM. Spiral organisms in endoscopic biopsies of the human stomach. *J Clin Pathol* 1984;37:23-26.
22. Taylor DE, Hargraves JA, Sherbaniuk RW, Jewel LD: Isolation and Characterization of *Campylobacter pyloridis* from Gastric Biopsies. *Am J Clin Pathol* 1987: 87:49-54.
23. Warren JR. Unidentified curved bacilli on gastric epithelium in active chronic gastritis (letter). *Lancet* 1983; 1:1273-5.

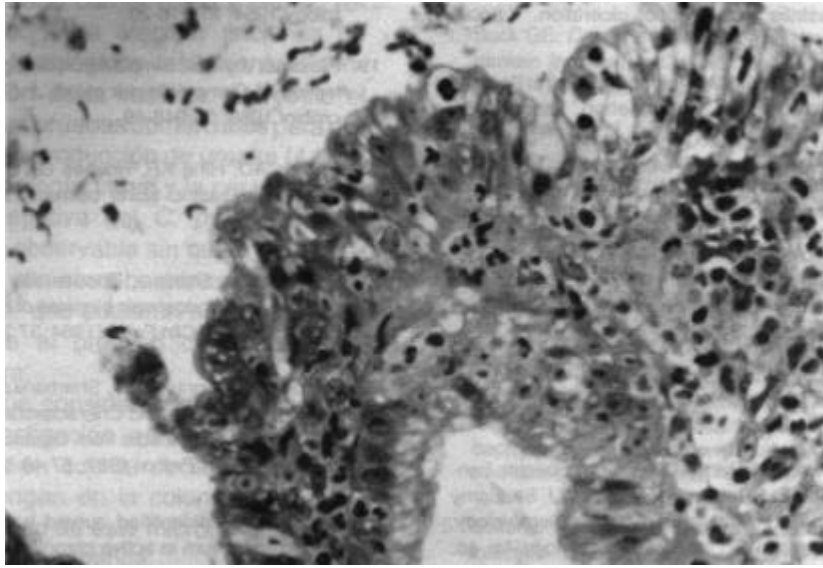


FIG. 1. Mucosa gástrica con un marcado infiltrado inflamatorio polimorfonuclear del corion y del epitelio glandular. En el borde superior izquierdo hay conglomerados de microorganismos bacilares curvos. 1.000 X. HE.

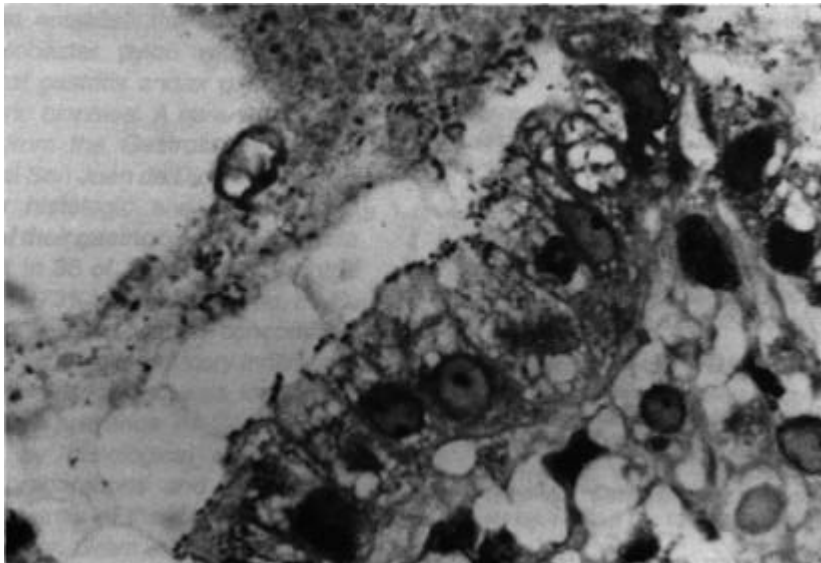


FIG. 2. Conglomerados de bacilos curvos presentes en la capa de moco que reviste el epitelio y adheridos a las membranas celulares de las células epiteliales. 1.000 X. HE.

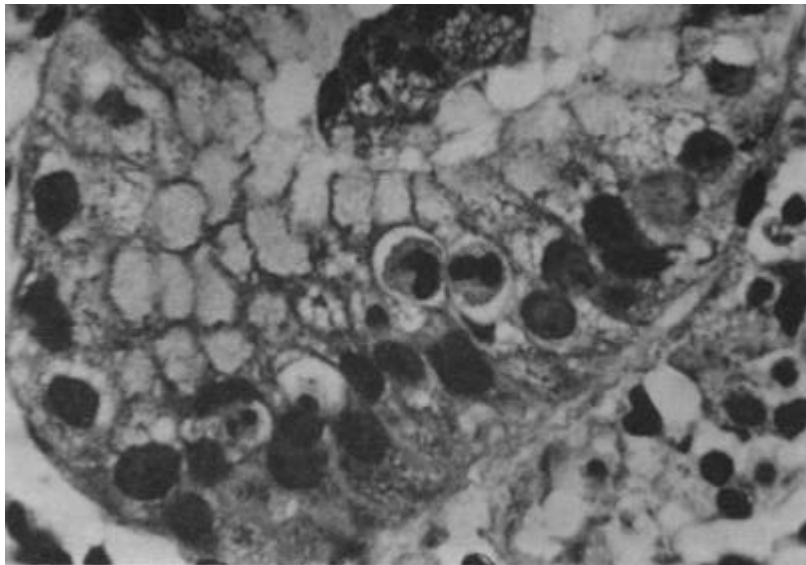
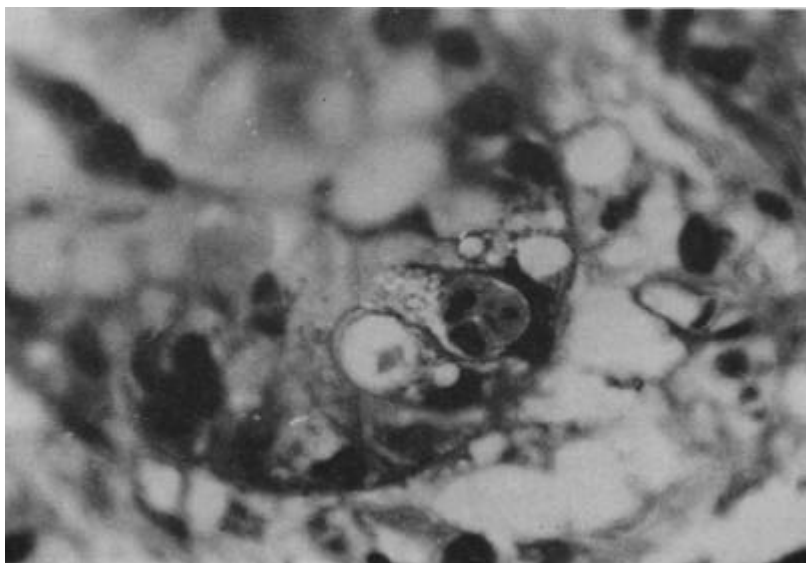


FIG. 3. Epitelio glandular infiltrado por polimorfonucleares neutrófilos. 1.000 X. HE.



HG. 4. Leucocito polimorfonuclear neutrofílico fagocitando bacilos. 1.000 X. HE.

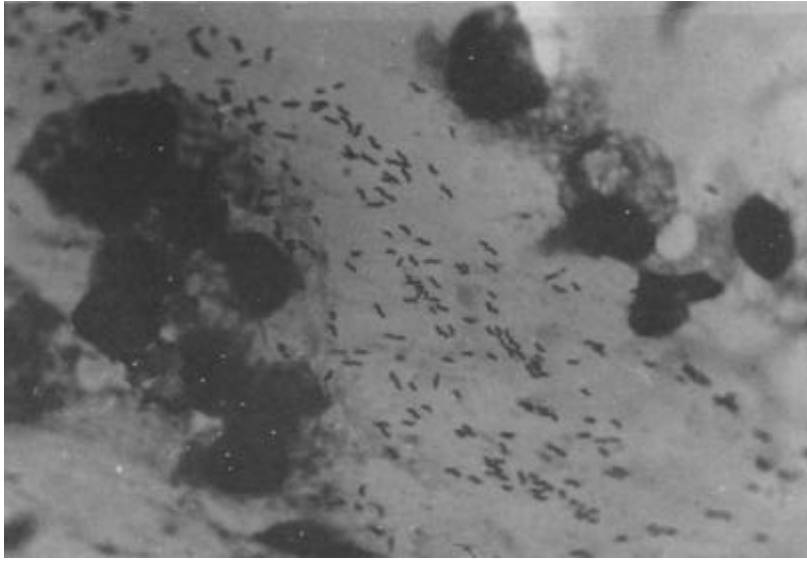


FIG. 5. Tinción de GRAM modificado, frotis por aposición de mucosa gástrica. 1.000 X.

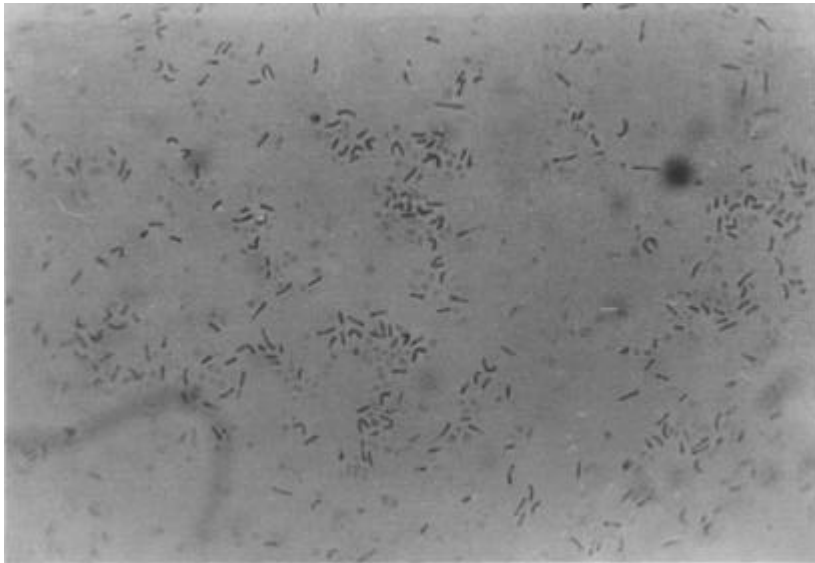


FIG. 6. Tinción de GRAM modificado, microorganismos en forma de U obtenidos en una colonia de cuatro días de crecimiento. 1.000 X.