

Detección de *Helicobacter pylori* en niños con los métodos de Gram, Giemsa y Warthing-Starry, inicialmente negativos con otras técnicas histológicas

Dr. Miguel Ángel Ortiz-Martínez,* Dra. Olga Ruth L. Salazar-Valdez,*
Dra. Olga Rosa Brito-Zurita,** Dra. Leticia Abundis-Castro,*** Histotec. Claudia García-Bajeca,****
Histotec. Shelma J. Gutiérrez-López,**** Histotec. Alejandra Jacobo-Peña****

* Médico adscrito al Departamento de Anatomía Patológica del Hospital de Especialidades No. 1, Centro Médico Nacional del Noroeste. Instituto Mexicano del Seguro Social. Cd. Obregón, Sonora, México. ** M en CM. Unidad de Investigación en Epidemiología Clínica. UMAE Hospital de Especialidades No. 2, Centro Médico Nacional del Noroeste. Instituto Mexicano del Seguro Social. Cd. Obregón, Sonora, México. *** Médico adscrito al Departamento de Pediatría del Hospital de Especialidades No. 1. Centro Médico Nacional del Noroeste. Instituto Mexicano del Seguro Social. Cd. Obregón, Sonora, México. **** Histotecnólogo adscrito al Departamento de Anatomía Patológica, Hospital de Especialidades No. 1, Centro Médico Nacional del Noroeste. Instituto Mexicano del Seguro Social. Cd. Obregón, Sonora, México.

Correspondencia: Dr. Miguel Ángel Ortiz-Martínez. Coahuila No. 120 Sur. Cd. Obregón, Sonora, México. C.P. 85000. Tel.-fax (644) 414-31 83.
Correo electrónico: miguelangel@cob.megared.net.mx

Recibido para publicación: 14 de mayo de 2004.

Aceptado para publicación: 1 de febrero de 2005.

RESUMEN Objetivo: identificar en niños *Helicobacter pylori* con los métodos de Gram, Giemsa y Warthing-Starry en biopsias gastroduodenales inicialmente negativas con hematoxilina y eosina. **Material y métodos:** realizamos un estudio retrospectivo, transversal y comparativo de 36 biopsias gástricas recibidas en el Departamento de Anatomía Patológica, en un lapso de diez meses. Todas las biopsias fueron tratadas inicialmente con la tinción de rutina: hematoxilina y eosina. De las 36 biopsias, 24 salieron negativas a *Helicobacter pylori*. De los bloques de parafina de estas últimas biopsias se obtuvieron tres nuevos cortes histológicos para teñirlos con Gram, Giemsa y Warthing-Starry y se procedió a su interpretación microscópica por dos médicos patólogos. **Resultados:** la búsqueda de *Helicobacter pylori* se realizó en 24 biopsias inicialmente negativas resultando una positiva con Gram (4.16%) y negativa para Giemsa y Warthing-Starry y cuatro coincidieron en positividad para Giemsa y Warthing-Starry (16.66%) y fueron negativas para Gram en la misma biopsia. Sólo una biopsia fue positiva en las tres tinciones. El resto de las muestras fue negativo con los tres tipos de tinción. **Conclusión:** las técnicas histológicas de Giemsa y/o Warthing-Starry pueden ser una alternativa más específica para la determinación de *Helicobacter pylori* en pacientes con biopsias de tubo digestivo negativas al método tradicional de hematoxilina y eosina.

Palabras clave: gastritis, *Helicobacter pylori*, Gram, Giemsa y Warthing-Starry.

SUMMARY Objective: To identify *Helicobacter pylori* by Gram, Giemsa and Warthing-Starry histological staining methods in biopsies of the digestive tract in children, when *Helicobacter pylori* identification was negative with hematoxinilin and eosin. **Material and methods:** We carried out a retrospective, cross-sectional and comparative study of 36 gastric biopsies received in the department of Anatomic-Pathology, in a period of ten months. All the biopsies were initially stained with routine Hematoxinilin and Eosin. Of the 36 biopsies, 24 were negative to *Helicobacter pylori*. From paraffin blocks of these last biopsies three new histological sections were obtained to dye them with Gram, Giemsa and Warthing-Starry, and two medical pathologists performed the microscopic interpretation of these samples. **Results:** The search for *Helicobacter pylori* was carried out in 24 initially negative biopsies, one was positive for Gram (4.16%) and negative for Giemsa and Warthing-Starry and four were both positive for Giemsa and Warthing-Starry (16.66%) and both were also negative for Gram. Only one biopsy was positive for the three methods. The remaining samples were negative for the three stains. **Conclusion:** The Giemsa and/or Warthing-Starry histologic techniques can be a more specific alternative for the determination of *Helicobacter pylori* in patients with negative digestive tract biopsies with the traditional method of hematoxinilin and eosin.

Key words: Gastritis, *Helicobacter pylori*, Gram, Giemsa and Warethin-Starry.

INTRODUCCIÓN

El *Helicobacter pylori* (Hp) se ha relacionado con el desarrollo de la gastritis y úlceras pépticas en el humano¹ y se reporta hasta en 85% del tubo digestivo en niños de América Latina.²

Esta bacteria posee en su membrana una alta actividad de ureasa. La elevación del pH crea un microambiente favorable para la bacteria y se puede observar aproximadamente en 90% de los cortes histológicos de las biopsias gástricas teñidas con hematoxilina y eosina (H y E).³ Ramírez y col. recomiendan que cuando el Hp no puede identificarse con H y E, una alternativa para corroborar la presencia o no del Hp es realizar tinciones con los métodos de Gram (Gr), Giemsa (Gi) y Warthing-Starry (W-S).⁴

Estas técnicas se realizan en cualquier laboratorio de patología. La técnica histológica de Gr se utiliza para su clasificación en Gr positivo cuando las bacterias se tiñen de rojo y de azul como Gr negativo.⁵ La técnica histológica de W-S se basa en la afinidad de esta bacteria por las moléculas de su membrana con la plata, esta tinción no es exclusiva para la bacteria, sino para las que poseen esta característica. El método de Gi también se utiliza para teñir células hematopoyéticas y en general algunas bacterias.⁶ Existe un pequeño porcentaje de biopsias del tubo digestivo en las que no son detectadas las bacterias de Hp por esta técnica, pero el paciente continúa con sintomatología; en estos casos se hace necesaria la búsqueda de esta bacteria por otras técnicas histológicas.

Por lo anterior, el objetivo de nuestro estudio fue determinar cuál de las tres técnicas de tinción histológica identifica con mayor frecuencia *Helicobacter pylori* cuando inicialmente fueron negativas con H y E.

MATERIAL Y MÉTODOS

En el Departamento de Anatomía Patológica del Hospital de Especialidades No. 1 del Centro Médico Nacional del Noroeste del Instituto Mexicano del Seguro Social se recibieron biopsias gastroduodenales procedentes de 36 niños con sintomatología gástrica para la búsqueda de Hp durante un periodo de diez meses. De 36 biopsias, 24 resultaron negativas con el método de H y E.

Se realizaron tres nuevos cortes a cada uno de los bloques de parafina de las 24 biopsias negativas, obteniendo un total de 72 laminillas. Los cortes histológicos se realizaron de tres a cinco micras con un microtomo deslizante, marca Leica modelo RM2145, después fueron

colocados en baño de flotación que contiene agua corriente y gelatina bacteriológica a temperatura de 48 °C para ser extendidos. Los cortes histológicos se adherieron a un portaobjetos, asignándoles su número de folio con un lápiz diamante sobre un extremo de la laminilla.

Las laminillas fueron colocadas en una canastilla y posteriormente se introdujeron al horno a temperatura de 70 °C para desparafinar los tejidos. Terminado este proceso, se pasaron a dos recipientes que contenían xilol permaneciendo 15 minutos en cada uno. Posteriormente los tejidos se hidrataron en diferentes concentraciones de alcoholes (100 a 96°) de forma descendente hasta llegar a agua corriente.

Una vez terminado este proceso se realizó cada una de las tinciones de Gr, Gi y W-S como vienen descritas en el manual de métodos de histología de la Armed Forces of Institute of Pathology (AFIP).⁷

Ya realizadas las tinciones se montaron con resina sintética, colocando un cubreobjeto y etiquetando las laminillas para después pasarlas para su lectura con dos médicos patólogos cegados al diagnóstico. Para su interpretación se utilizó un microscopio óptico marca Olympus modelo BH2. Si la técnica histológica identificaba a la bacteria, entonces se clasificaba como positiva para (Hp).

Se tomaron fotografías de cada una de las tinciones positivas y se recopilaron los datos en el anexo para hacer la gráfica de valores de cada tinción, así como el grado correlación interobservador.

RESULTADOS

Una de las 24 biopsias fue positiva para las tres tinciones. Hubo coincidencia entre la tinción de Gi y W-S en los cortes histológicos de cuatro de las biopsias. De las muestras, 4.16% fue positiva para Gram y 16.66% de las biopsias coincidieron en positividad para los métodos de Giemsa y Warthing-Starry (*Figuras 1, 2 y 3*). La correlación interobservador fue de 100%.

DISCUSIÓN

Los resultados de nuestro estudio mostraron que las técnicas histológicas de Giemsa y Warthing-Starry detectaron con mayor frecuencia *Helicobacter pylori* en los cortes histológicos del tracto gastrointestinal. Sólo una muestra fue positiva para Gram. Esto concuerda con otros estudios, como el realizado por Nichols y col., quienes utilizaron varias técnicas histológicas, entre ellas Gr, Gi y W-S⁸ coincidiendo con nuestros resultados. También

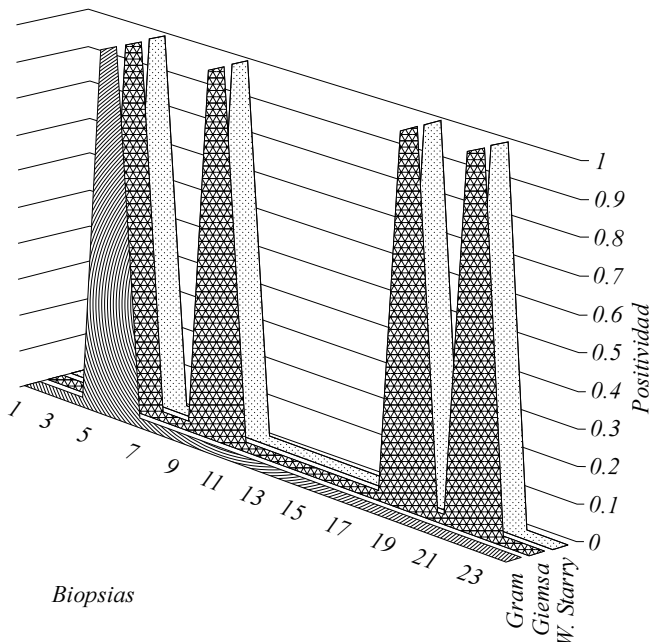


Figura 1. Comparación de tinciones positivas y negativas.

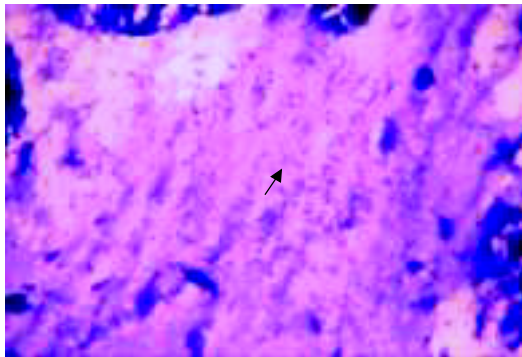


Figura 2. Tinción de Giemsa muestra abundantes bacterias (flecha) (40X).

Elio Madan y cols.⁶ informaron resultados similares a los nuestros con la diferencia de que nosotros estudiamos población pediátrica. En el estudio de Madan las técnicas histológicas de Gi y W-S tuvieron mayor porcentaje de positividad, mientras que la técnica de Gram mostró poca capacidad de detección para esta bacteria. A diferencia de lo descrito, Collazo y col. mencionaron que la coloración de Gram es muy útil para la identificación de esta bacteria y encontraron correlación con la prueba de ureasa.⁹

Nosotros sugerimos la técnica histológica de Gi por ser un método sencillo, práctico y fácilmente reproducible en cualquier laboratorio de patología para detectar la presencia de Hp. Por el contrario, la técnica histológica de W-S debido al tiempo para su realización, uso de

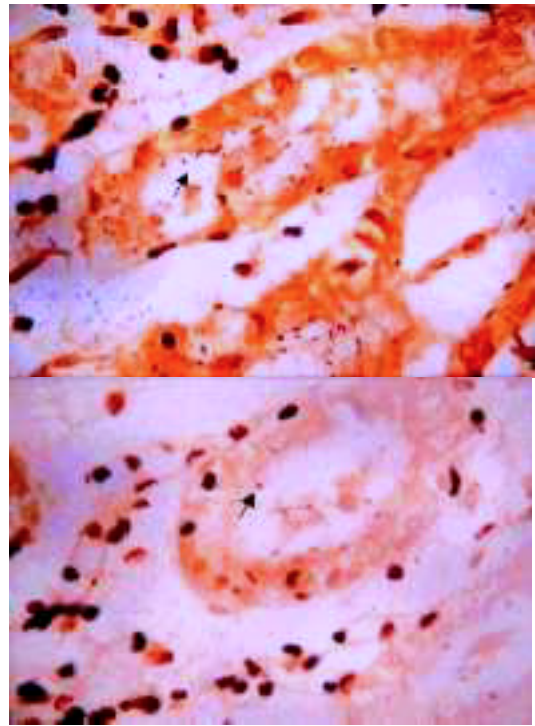


Figura 3. Tinción de Warthing-Starry muestra (flechas) la presencia de bacterias, algunas de forma cocoide (variante morfológica) y otras de forma bacilar (40X).

plata y cloruro de oro en el procedimiento, es menos práctica para su aplicación en forma rutinaria.

En conclusión, recomendamos realizar técnicas histológicas de Gram, Gi y W-S para demostrar la presencia de Hp en biopsias negativas con hematoxilina y eosina.

REFERENCIAS

1. Goodwin CS. The Sydney System: Microbiologic gastritis. *J Gastroenterol Hepatol* 1991; 6: 223-35.
2. Vandeplas Y, Blecker U. Infección por *Helicobacter pylori* en niños. *Acta Paediatr* 1998; 87: 1105-12.
3. Warren MJB Jr. Unidentified curved bacilli in the stomach of patients with gastritis and peptic ulceration. *Lancet* 1984; 1: 1311-14.
4. Ramirez Mayans JA y cols. Enfermedad ácido péptica y *Helicobacter pylori* en pediatría. *Acta Pediatr Mex* 1999; 20(1): 23-9.
5. Hurtado AH. Relación de *Helicobacter pylori* con el estómago operado por úlcera péptica. *Rev Gastroenterol Méx* 1998; 63: 191.
6. Madan F, Kemp J, Westblom T, et al. Evaluation of staining methods for identifying *Campylobacter pylori*. *Am J Clin Pathol* 1988; 90: 450-3.
7. Prophet BE, et al. Laboratory methods in histotechnology AFIP. *Am Reg Pathol* 1992; 203, 212, 214.
8. Nichols L, Sughayer M, De Girolami, et al. Evaluation of diagnostic methods for *Helicobacter pylori* in gastritis. *A J Clin Pathol* 1991; 95: 769.
9. Bonet Collazo O y cols. Infección por *Helicobacter pylori* en los trastornos del tractus gastrointestinal alto de la infancia. *Rev Cubana Pediatr* 2000; 72(2): 106-11.