



## **PROTOCOLO DE RECOGIDA DE BIOPSIAS GÁSTRICAS PARA EL ESTUDIO DE LA SUSCEPTIBILIDAD ANTIBIÓTICA DE HELICOBACTER PYLORI**

Autores: Gonzalo Galicia Poblet<sup>1</sup>, Carmen Gimeno Fernández<sup>2</sup>.

Hospital Universitario de Guadalajara. <sup>1</sup>Servicio de Pediatría. <sup>2</sup>Servicio de Microbiología.

### **1. JUSTIFICACIÓN**

La infección por Helicobacter pylori (HP) es un problema de salud pública a nivel global. Actualmente existe un descenso en la eficacia de la terapia erradicadora, debido a la creciente tasa de resistencias antibióticas motivada por el uso indiscriminado de pautas de tratamiento empíricas. En las últimas Guías de consenso de la ESPGHAN y la NAPSGHAN sobre el manejo de la infección de HP, se indica claramente que cada caso individual debería ser tratado de forma dirigida en base a un antibiograma obtenido del cultivo de biopsias gástricas, reservando la terapia empírica para aquellos casos en los que no se logra el crecimiento de la bacteria en el cultivo y siempre basada en estudios de susceptibilidad antibiótica locales o regionales. El principal objetivo terapéutico, es lograr tasas de erradicación en torno al 90%, mientras que en el momento actual, dichas tasas se sitúan en torno a un 60%.

Según las últimas recomendaciones, en los regímenes de primera línea terapéutica debe evitarse el uso de claritromicina en áreas donde la tasa de resistencia sea mayor del 15-20%, así como el metronidazol cuando superen tasas del 40%.

El presente protocolo tiene como objetivo optimizar la recogida y el procesamiento de las biopsias gástricas para lograr el mayor rendimiento del posterior estudio microbiológico, permitiendo alcanzar un elevado número de cultivos con crecimiento y obtener un antibiograma que oriente la posterior terapia erradicadora, así como el mapa de resistencias actual en nuestro medio.

## **2. CONSIDERACIONES PREVIAS A LA REALIZACIÓN DE LA ENDOSCOPIA**

- ✓ El paciente debe llevar al menos 4 semanas sin recibir tratamiento antibiótico antes de la realización de la endoscopia.
- ✓ El paciente debe suspender el aporte de Inhibidores de la bomba de protones (IBP) al menos 2 semanas antes de la realización de la endoscopia si los estuviese tomando. En caso de precisar mantener la terapia supresora, se realizará el cambio del tratamiento con IBP a una terapia con Ranitidina a 2 mg/Kg/12 horas (preparación en farmacia hospitalaria con principio activo puro), que se suspenderá 48 horas antes de la realización de la prueba.

## **3. RECOGIDA DE BIOPSIAS GÁSTRICAS**

- ✓ Las biopsias gástricas deben recogerse al inicio del procedimiento, **antes de pasar al duodeno**. Debemos tener en cuenta, que el canal de trabajo del endoscopio sirve tanto para la aspiración de secreciones como para el paso de la pinza de biopsias. Cuando pasamos al duodeno, medio rico en bacterias Gram negativas, el uso del canal provoca una contaminación por estos microorganismos, que crecen más rápido y abundantemente en los medios de cultivo que HP comprometiendo de este modo el éxito del cultivo.
- ✓ La toma de **las muestras para el cultivo serán las primeras en ser recogidas**, siendo introducidas en un medio de transporte específico o en su defecto, en 1-2 ml de suero fisiológico, manteniendo el contenedor en nevera a 4°C hasta el envío al laboratorio. Debe evitarse la introducción de la pinza de biopsia previamente en formol, ya que es un alcohol con capacidad bactericida, y el uso de la misma pinza durante el procedimiento puede provocar un menor crecimiento de esta bacteria. La toma de muestras para anatomía patológica se hará después de la del cultivo. En caso de percatarnos a tiempo, si hemos sumergido la pinza en formol, la sustituiremos por otra nueva.
- ✓ El número de biopsias actualmente recomendado por las Guías ESPGHAN/NASPGHAN para el cultivo de HP es de 1 biopsia de antro pilórico y 1 biopsia de cuerpo gástrico. Siempre que sea posible, **recomendamos que al menos sean remitidas 2 biopsias de cada**

**localización para cultivo** reduciendo de este modo el riesgo de fracaso por contaminación de alguna de las placas.

✓ El tiempo desde la recogida de la muestra se antoja crucial para lograr el éxito del crecimiento. **La entrega de la muestra a microbiología debería producirse dentro de la primera hora tras su recogida**, especialmente si el medio de transporte no es selectivo y se trata de suero fisiológico. En medio selectivo la supervivencia de la bacteria es mayor, por lo que debe ser de elección si el cultivo va a ser realizado en otro Centro diferente al de la recogida de las biopsias y no podemos garantizar un procesamiento rápido de las mismas. Para tratar de minimizar el tiempo de demora en este último caso, se debe contactar previamente con el servicio de mensajería urgente de nuestro Centro y asegurarnos que se encuentra ya presente al inicio del procedimiento. Cuando el transporte de las muestras va a ser realizado con demora, se recomienda congelar las muestras a -20°C (siendo preferible congelar a -70°C cuando la demora sea > 24 horas) para preservar su viabilidad hasta poder ser cultivado.

#### **4. CONSIDERACIONES TRAS LA RECOGIDA DE LA MUESTRA (MICROBIOLOGÍA)**

✓ Las muestras de biopsias gástricas deben ser procesadas inmediatamente una vez recepcionadas en el laboratorio de Microbiología. La finalidad es realizar el diagnóstico de infección por HP mediante tinción de Gram, cultivo y estudio de susceptibilidad.

✓ El contenedor con las muestras de biopsia gástrica debe estar correctamente identificado.

✓ Medios de cultivo necesarios:

- Columbia Agar Sangre
- Medio Schaedler
- Medio específico para cultivo de HP
- Tubo inclinado con Agar Urea
- BHI o suero salino
- Generador comercial de atmósfera microaerofílica.

✓ Cada muestra de biopsia gástrica será depositada en una placa de Petri estéril y con una hoja de bisturí será cortada en dos trozos pequeños:

- Con uno de los trozos se hará una impronta sobre un porta-objetos limpio para posteriormente teñir con Tinción de Gram.
- El otro trozo de biopsia gástrica será homogeneizado mecánicamente en un volumen de 0,5 ml de caldo BHI o en su defecto suero salino, con un homogenizador de cristal durante al menos 1 minuto. El objetivo de este procedimiento es liberar las bacterias de la superficie del tejido biopsiado.
- Este homogeneizado se inoculará en una placa de Agar Sangre, una de Agar Schaedler y otra de medio específico de HP (2-4 gotas por cada placa). Se reestriarán las placas. Además, con el homogenizado de uno de los trozos se inoculará un tubo con Agar inclinado de Urea.
- Todas las placas se incubarán a 35-37°C, en atmósfera microaerofílica húmeda para lo cual se empleará una campana en cuyo fondo se colocarán gasas estériles mojadas ligeramente con agua destilada estéril. Para crear la atmósfera microaerofílica se empleará un generador comercial.
- Las placas se examinarán cada 24-72 horas tras el tercer día de incubación.

## **5. RESUMEN**

- 1) Asegurarse de que el paciente no ha tomado antibióticos en las 4 semanas previas a la realización de la endoscopia.
- 2) Suspender la administración de IBP al menos 2 semanas antes de la realización de la endoscopia y/o de Ranitidina 48 horas antes.
- 3) Avisar al Servicio de mensajería urgente con antelación para que esté presente en el momento de la recogida de las biopsias si van a ser remitidas a otro Centro. En caso de no ser posible, congelar las muestras a -20°C o -70°C.

- 4) Si es posible, tomar 2 biopsias de antro y 2 de cuerpo para cultivo ANTES DE PASAR AL DUODENO y antes de recoger las biopsias para histología.
- 5) Sustituir la pinza de biopsia si ya la hemos introducido previamente en formol.
- 6) Introducir las biopsias en medio selectivo de transporte (especialmente si la muestra va a ser referida a otro Centro o se va a tardar en ser procesada) o en 1-2 ml de SSF y mantener en nevera a 4º hasta su envío al laboratorio.
- 7) Trasladar la muestra al Servicio de Microbiología en la primera hora tras su recogida y ENTREGAR EN MANO al microbiólogo o persona encargada de procesarla para realizar la siembra a la mayor brevedad posible.

### **BIBLIOGRAFÍA**

1. Jones NL, Koletzko S, Goodman K, Bontems P, Cadranet S, Casswall T, et al. Joint ESPGHAN/NASPGHAN Guidelines for the Management of Helicobacter pylori in Children and Adolescents (Update 2016). *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2017; 64:991-1003.
2. Peng C, Hu Y, Ge Z-M, Zou Q-M, Lyu N-H. Diagnosis and treatment of Helicobacter pylori infections in children and elderly populations. *Chronic Dis Transl Med.* 2019;5:243-51.
3. Kotilea K, Kalach N, Homan M, Bontems P. Helicobacter pylori Infection in Pediatric Patients: Update on Diagnosis and Eradication Strategies. *Paediatr Drugs.* 2018;20:337-51.
4. Manfredi M, Gaiani F, Kayali S, Bizzarri B, Iuliano S, Minelli R, et al. How and when investigating and treating Helicobacter pylori infection in children. *Acta Biomed.* 2018;89 (8-S):65-71.
5. Sabbagh P, Javanian M, Koppolu V, Vasigala VR, Ebrahimpour S. Helicobacter pylori infection in children: an overview of diagnostic methods. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2019;38:1035-45.
6. Mišak Z, Hojsak I, Homan M. Review: Helicobacter pylori in pediatrics. *Helicobacter.* 2019;24 Suppl 1:e12639.

