

Identificação do *Helicobacter pylori* pela citologia do escovado gástrico: comparação com o método histológico

Helicobacter pylori identification by brush gastric cytology: a comparison with histologic method

Ronaldo de Oliveira Custódio¹, Roberto Ruhman Daher², Yara R. Ximenes³,
Américo de Oliveira Silvério⁴ e Natália Ribeiro de O. Custódio⁵

RESUMO

A proposta deste estudo foi a de verificar o valor da citologia do escovado gástrico no diagnóstico da infecção pelo *Helicobacter pylori* em pacientes submetidos à endoscopia digestiva, comparando-o a outro método endoscópico - a histologia. As endoscopias foram realizadas em 157 pacientes dispépticos, divididos em dois grupos: grupo A (n = 27) com úlcera duodenal, B (n = 130), sem úlcera. No grupo A, a porcentagem de pacientes positivos na citologia (77,8%) foi similar à histologia (74,1%; p = 0,3). No grupo B, a citologia (71,5%) foi superior à histologia (63,1%; p = 0,00002). A citologia do escovado gástrico é um método simples e prático. Foi eficiente para identificar a infecção pelo *Helicobacter pylori* em todos grupos de estudo.

Palavras-chaves: Identificação do *Helicobacter pylori*. Citologia. Histologia.

ABSTRACT

The purpose of this study was to verify the efficacy of brush gastric cytology for diagnosis of *Helicobacter pylori* infection in patients, submitted to elective gastroscopy, compared to the method of endoscopic histology. Endoscopy was performed on 157 patients, divided into two dyspeptic groups: group A (n = 27) with duodenal ulcer; and group B (n = 130) without ulcer. In group A, the percentage of positive cases detected by brush cytology (77.8%) was similar to histology (74.1%; p = 0.3). While in group B, brush cytology (71.5%) was superior to histology (63.1%; p = 0.00002). Brush cytology is a simple and useful diagnostic method. It was efficient for identification of *Helicobacter pylori* infection in both groups.

Key-words: *Helicobacter pylori* identification. Brush cytology. Histology.

Desde a descrição pioneira até o surgimento de evidências do *Helicobacter pylori* ser o principal agente etiológico da doença ulcerosa duodenal^{17,18}, seu diagnóstico e tratamento tiveram uma dramática alteração. A doença ulcerosa duodenal é agora abordada como uma doença infecciosa, na qual a eliminação do agente causador cura esta condição²⁶. A infecção está associada com o aumento de risco de carcinoma gástrico²¹, sendo esta bactéria tida como carcinógeno do tipo I¹⁶. Também há acentuada associação entre a infecção crônica pelo *Helicobacter pylori* e o linfoma Malt^{7,10,11}.

Os testes diagnósticos são classificados em não-invasivos quando a endoscopia não é requerida e são baseados em evidências indiretas da presença da bactéria; invasivos ou

endoscópicos quando detectam a infecção através de material obtido durante o curso de uma endoscopia (Tabela 1).

A citologia do esfregaço gástrico é um método já existente, porém pouco divulgado. O material é obtido por um escovado da mucosa gástrica com o qual se faz um esfregaço na lâmina de vidro. Após corada a lâmina, procede-se a pesquisa direta do *Helicobacter pylori*. É um método mais simples e mais rápido que o histopatológico, além de ser menos agressivo à mucosa gástrica por não se utilizar de biópsia. Há referências de que a sensibilidade da citologia é semelhante ou superior ao da histologia no diagnóstico da infecção pelo *Helicobacter pylori*^{6,15,19}.

1. Serviço de Gastroenterologia e Hepatologia do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Goiás, Goiânia, GO. 2. Departamento de Medicina de Medicina Tropical do Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública da Universidade Federal de Goiás, Goiânia, GO. 3. Laboratório CAPC, Goiânia, GO. 4. Serviço de Gastroenterologia do Hospital Geral de Goiânia, Goiânia, GO. 5. Curso de Medicina da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Goiás, Goiânia, GO.

Endereço para correspondência: Dr. Ronaldo de Oliveira Custódio. Rua 9-A esq. c/ 16-A, nº 344, setor Aeroporto, 74075-040 Goiânia, GO.

Tel.: 55 62 229-1732, fax: 55 62 225 0952

e-mail: rocust@ig.com.br

Recebido para publicação em 16/8/2004

Aceito em 3/5/2005

Tabela 1 - Testes diagnósticos utilizáveis para a detecção da infecção por *Helicobacter pylori*.

Testes não invasivos	Testes invasivos	
	biópsia	escovado gástrico
Teste respiratório	histologia	citologia
Testes sorológicos	teste da urease	cultura
PCR em antígeno fecal	PCR	
	imunohistoquímica	
	cultura	

Modificado de: Libera e cols¹⁵; Hung e cols⁹; Leodolter e cols¹⁴; Suerbaem & Michetti²⁶; Drum e cols⁵; Howden e cols⁸.

O objetivo é realizar a identificação morfológica do *Helicobacter pylori* mediante a citologia do escovado gástrico, divulgar o método e comparar sua acurácia com a histologia.

PACIENTES E MÉTODOS

Estudo prospectivo, comparativo e aberto. Foram incluídos no estudo 157 pacientes com dispepsia, que seriam submetidos por indicação prévia de outros profissionais dos ambulatórios do Hospital das Clínicas (HC) da Universidade Federal de Goiás (UFG) à endoscopia digestiva. Estes correspondem a 93 mulheres e 64 homens (Tabela 2), com média de idade de $41,8 \pm 15,6$ anos. O período de duração do estudo foi de setembro de 2002 a junho de 2003. Todos eles assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido

Tabela 2 - características da população estudada e sua relação com os grupos de estudo.

Sexo	Número	Porcentagem	Idade ($\pm dp$)	Grupo A	Grupo B
Homens	64	40,8	$44,0 \pm 16,8$	18	46
Mulheres	93	59,2	$40,0 \pm 14,5$	9	84
Total	157	100,0	$p=0,08$	27	130

Grupo A = dispépticos ulcerosos duodenais;

Grupo B = dispépticos não-ulcerosos.

e o estudo foi realizado com aprovação do comitê de ética do HC/UFG. Foram excluídos pacientes com neoplasia gástrica, úlcera gástrica, hemorragia digestiva alta e pacientes submetidos a gastrectomia. De acordo com achados endoscópicos, os pacientes foram agrupados em: grupo A, 27 pacientes dispépticos ulcerosos duodenais; grupo B, 130 pacientes dispépticos não-ulcerosos (Tabela 3). Os achados endoscópicos no esôfago não foram considerados na formação dos grupos. O material era colhido obedecendo à seguinte ordem: escovação e biópsia. O instrumental consistia de escova de citologia endoscópica e pinças de biópsia reutilizáveis. Foi utilizada escova da marca MTW embutida em cateter de teflon com esfera de metal na

Tabela 3 - Análise da distribuição dos 157 pacientes segundo grupos de estudo e positividade nos dois métodos empregados.

	Citologia a		Histologia b	
	nº	%	nº	%
Grupo A (n=27)	21	77,8	20	74,1
Grupo B (n=130)	93	71,5	82	63,1
Total (n=157)	114	72,6	102	65,1

Grupo A: a x b $p=0,3^*$ Grupo B: a x b $p=0,00002^*$

(*Qui-quadrado com correção de Yates).

extremidade; sua montagem e desmontagem é feita pela extremidade distal.

A mucosa do corpo e antro foram escovadas, e em seguida a escova era friccionada em duas lâminas de vidro as quais eram borrifadas com fixador a base de álcool, secadas, colocadas em um cilindro de plástico, vedado e encaminhado ao laboratório para coloração pelo método de Giemsa. Para a histologia, duas amostras do antro e duas do corpo eram colhidas e colocadas em recipiente contendo formalina a dez por cento e encaminhado para exame histopatológico e, posterior coloração pelos métodos de Giemsa e HE. A esterilização da escova de citologia e a pinça de biópsia é padronizada no serviço utilizando o glutaraldeído a 2% por 8 horas²⁴. As lâminas de citologia foram examinadas por um citologista e os exames de histopatologia por outro patologista, os quais não tinham informações entre si. Considerando padrão ouro quando era visto microrganismo na histopatologia.

Na comparação das frequências obtidas nos dois métodos foram empregados o qui-quadrado com correção de Yates e o exato de Fisher quando necessário. Foram considerados níveis de significância estatística os valores de $p \leq 0,05$.

RESULTADOS

Nos 157 pacientes incluídos no estudo, não houve diferença nas médias de idade entre homens e mulheres ($44,0 \pm 16,8$ versus $40,0 \pm 14,5$; $p = 0,08$), demonstradas na Tabela 2. Nestes, foram pesquisados a presença da bactéria *Helicobacter pylori* pelos métodos citológico e histológico com os seguintes achados: 114 (72,6%) positivos pela citologia e 102 (65,1%) positivos pela histologia (Tabela 3); 129 (82,2%) positivos pela associação dos métodos, citologia e histologia (Tabela 4).

Tabela 4 - Demonstração da positividade da infecção nos grupos A e B, considerando a associação da citologia e histologia.

	Positivos		Negativos	
	nº	%	nº	%
Grupo A (n=27)	24	88,9	3	11,1
Grupo B (n=130)	105	80,8	25	19,2
Total	129	82,2	28	17,8

$P=0,24$ RR=1,74 (0,56 5,37) OR=1,90 (0,51 10,62) (Exato de Fisher)

Na Tabela 3, os resultados são comparados nos dois grupos de pacientes. A citologia foi similar à histologia em pacientes com dispepsia ulcerosa duodenal (grupo A, 77,8% versus 74,1%, $p=0,3$), e superior à histologia em pacientes com dispepsia não-ulcerosa (grupo B, 71,5% versus 63,1%, $p=0,00002$).

A Tabela 4 sugere que os resultados da frequência da infecção pelo *Helicobacter pylori* utilizando-se os dois métodos (citologia e/ou histologia) são semelhantes entre os dois grupos estudados (grupo A, 88,9% versus grupo B, 80,8%, $p=0,24$).

DISCUSSÃO

Os métodos mais utilizados na identificação do *Helicobacter pylori* ainda são os invasivos que se utilizam da endoscopia

digestiva. O mais usual destes é o método histológico, que tem com vantagem adicionar dados importantes sobre o estado da mucosa gástrica, como o grau de inflamação, atividade inflamatória, atrofia da mucosa, identificação de metaplasia intestinal na mucosa gástrica e outras informações úteis no cuidado ao paciente. Porém, é um método relativamente caro, demorado e a acurácia na identificação da bactéria sofre influências na dependência do número de fragmentos de biópsia^{12,20}.

O método histológico deve ser realizado com a obtenção de dois ou mais fragmentos da mucosa antral. Há melhora da acurácia se colhido dois fragmentos antral e dois do corpo gástrico²⁰. A sensibilidade da histologia na identificação do *Helicobacter pylori*, quando usadas as colorações HE e Giemsa, pode ser baixa se a densidade de bactérias é pequena e boa se a densidade é alta. Laine e cols¹³ encontrou variação da sensibilidade de acordo com a densidade bacteriana para o HE de 70% a 98% com especificidade variando de 89% a 98%, e para o Giemsa, sensibilidade de 64% a 96% e especificidade de 98% a 100%.

O exame citológico é um método descrito há uma década^{3,19}, porém ainda é pouco estudado. Verificamos sua acurácia na identificação do *Helicobacter pylori* como mais um método a ser associado aos já convencionais, comparando-o com a histopatologia num conjunto de 157 pacientes que foram submetidos à endoscopia digestiva alta por causa das queixas de dispepsia.

Para a proposta deste trabalho, os pacientes foram divididos em dois grupos de estudo:

Grupo A: pacientes dispépticos com úlcera duodenal.

Grupo B: pacientes dispépticos sem úlcera. O sistema de classificação de distúrbios funcionais gastrintestinais "Roma II" não recomenda o uso do termo dispepsia não-ulcerosa com o significado de dispepsia funcional⁴. A dispepsia funcional é um diagnóstico de exclusão, além da endoscopia seriam necessárias outras avaliações para a sua confirmação, portanto não podemos chamar o grupo B de dispepsia funcional.

Considerando os 157 pacientes estudados encontramos: 114 (72,6%) positivos pelo método citológico, 102 (65%) positivos pelo método histológico (Tabela 3) e 129 (82,2%) positivos por ambos os métodos, citologia e/ou histologia (Tabela 4). Este alto índice de infecção pode ser devido à população selecionada de pacientes sintomáticos bem como o seu baixo nível socio-econômico.

A sensibilidade da citologia calculada frente a histologia foi de 85,3%. Cerca de 27 casos positivos pelo método citológico foram negativos pela histologia: a escova de citologia abrange uma área maior a ser estudada e estes dados sugerem ser a citologia mais sensível que os métodos que se utilizam de biópsia na identificação do *Helicobacter pylori*. O microrganismo está distribuído irregularmente no muco gástrico na superfície epitelial, e a relativa baixa densidade da bactéria em vários grupos de pacientes pode levar a resultados falso-negativos em métodos de biópsia¹². A comparação de um método que se utiliza do esfregaço obtido por um escovado gástrico – a citologia, com um método que se utiliza de biópsia – a histologia, influenciou na especificidade do primeiro que foi de 50,9%. Talvez os

achados justifiquem ser a citologia um método com mais sensibilidade que a histologia, sendo necessárias pesquisas comparativas de ambos com métodos mais sensíveis, ou com a combinação de dois ou três métodos, para determinar a sua real sensibilidade e especificidade.

Não houve diferença entre a frequência da infecção por *Helicobacter pylori* no grupo A (88,9%) versus grupo B (80,8%); $p=0,24$ (Tabela 4). No processo de ulcerogênese, as pesquisas apontam para as cepas ulcerogênicas²² associadas a características próprias do hospedeiro, as quais não foram objetos deste estudo.

Nos pacientes do grupo A (pacientes dispépticos com úlcera duodenal), a citologia foi similar à histologia (77,8% X 74,1%, $p=0,3$) na identificação do *Helicobacter pylori* (Tabela 3). No grupo B (pacientes dispépticos sem úlcera), a citologia (71,5%) foi superior à histologia (63,1%; $p=0,00002$) (Tabela 3).

Os resultados quando comparados com trabalhos de outros autores que destacam ser o método fácil de ser executado, mais rápido que a histologia, e a sensibilidade é igual ou superior aos métodos que se utilizam de biópsia, foram concordantes. Estes resultados deixam claro que a citologia do escovado gástrico é um método simples e útil na identificação da infecção pelo *Helicobacter pylori*, nas diferentes formas de dispepsia. É uma opção para ser associado a outros métodos na tentativa de aumentar a acurácia do diagnóstico da infecção por *Helicobacter pylori*. Poderia ser considerado para aqueles pacientes que têm a biópsia gástrica endoscópica contra-indicada.

AGRADECIMENTOS

Desejo expressar o meu apreço às pessoas mencionadas por suas importantes contribuições: Prof. Dr. Décio Chinzon, Prof. Dr. Heitor Rosa e Prof. Dr. Maurício S. Brasil Leite.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Atalay C, Atalay G, Altinok M. Serum *Helicobacter pylori* IgG and IgA levels in patients with gastric cancer. *Neoplasma* 50: 185-190, 2003.
2. Bazzoli F. Key points from the revised Maastricht Consensus Report: the impact on general practice. *European Journal of Gastroenterology & Hepatology* 13: S3-S7, 2001.
3. De Francesco F, Nicotina PA, Picciotto M, Martines F, Ferlazzo G, D'Aquino A. *Helicobacter pylori* in gastroduodenal diseases: rapid identification by endoscopic brush cytology. *Diagnostic Cytopathology* 9: 430-433, 1993.
4. Drossman DA, Corazziari E, Talley NJ, Thompson WG, Whitehead WE. Functional dyspepsia. The functional gastrointestinal disorders. Second edition. Library of Congress 302-350, 2000.
5. Drum B, Koleztko S, Oderda G. *Helicobacter pylori* infection in children: consensus statement. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition* 30: 207-213, 2000.
6. Faraker CA. Diagnosis of *Helicobacter pylori* in gastric brush and biopsy specimens stained by Romanowsky and immunocytochemical methods: comparison with the CIOtest. *Cytopathology* 7: 108-119, 1996.
7. Genta RM, Hammer HW, Graham DY. Gastric lymphoid follicles in *Helicobacter pylori* infection: frequency, distribution, and response to triple therapy. *Human Pathology* 24: 577-583, 1993.

8. Howden CW, Hunt RH. Guidelines for the management of *Helicobacter pylori* infection. *The American Journal of Gastroenterology* 93: 2330-2338, 1998.
9. Hung CT, Leung WK, Chan FK, Sung JJ. Comparison of two new rapid tests for diagnosis of *Helicobacter pylori* infection in Chinese patients. *Digestive and Liver Diseases* 34: 111-115, 2002.
10. Isaacson PG, Spencer J. Is gastric lymphoma an infectious disease? *Human Pathology* 24: 569-570, 1993.
11. Isaacson PG. Gastrointestinal lymphoma. *Human Pathology* 24: 1020-1029, 1994.
12. Khulusi S, Mendall MA, Patal P, Levy J, Badve S, Northfield TC. *Helicobacter pylori* infection density and gastric inflammation in duodenal ulcer and non-ulcer subjects. *Gut* 37:319-324, 1995.
13. Laine L, Lewin DN, Naritoku W, Cohen H. Prospective comparison of H&E, Giemsa, and Genta stains for the diagnosis of *Helicobacter pylori*. *Gastrointestinal Endoscopy* 45: 463-467, 1997.
14. Leodolter A, Vaira D, Bazzoli F, Schutze K, Hirschl A, Megraud F, Malfertheiner P. European multicentre validation trial of two new non-invasive tests for the detection of *Helicobacter pylori* antibodies: urine based ELISA and rapid urine test. *Aliment Pharmacology* 18: 927-931, 2001.
15. Libera MD, Pazzi P, Carli G, Contato E, Piva I, Scagliorini R, Merighi A, Ricci N, Gullini S. Brush cytology: A reliable method to detect *Helicobacter pylori*. *Journal of Clinical Gastroenterology* 22: 317-321, 1996.
16. Logan RPH. *Helicobacter pylori* and gastric cancer. *Lancet* 34: 1078-1079, 1994.
17. Marshall BJ, Warren JR. Unidentified curved bacilli in the stomach of patients with gastritis and peptic ulceration. *Lancet* 1311-1314, 1984.
18. Marshall BJ, Warren JR, Francis GJ, Langton SR, Godwin CS, Blincow ED. Rapid urease test in the management of *Campylobacter pyloridis* associated gastritis. *The American Journal of Gastroenterology* 82: 200-210, 1987.
19. Mendoza ML, Martin-Rabadan P, Carrion I, Morillas JD, Lopez-Alonso G, Diaz-Rubio M. *Helicobacter pylori* infection. Rapid diagnosis with brush cytology. *Acta Cytologica* 37: 181-185, 1993.
20. Morris A, Ali MR, Brown P, Lane M, Patton K. *Campylobacter pylori* infection in biopsy specimens of gastric antrum: laboratory diagnosis and estimation of sampling error. *Journal of Clinical Pathology* 42: 727-732, 1989.
21. Nomura A, Stemmerman G, Chyon PH, Kato I, Perez-Perez GI, Blaser MJ. *Helicobacter pylori* infection and gastric carcinoma among Japanese Americans in Hawaii. *The New England Journal of Medicine* 325: 1132-1136 1991.
22. Regula J, Hennig E, Burzykoswski T, Orłowska J, Przytulski K, Polkow M, Dziurkowska-Marek A, Marek T, Nowak A, Butruk E, Ostrowski J. Multivariate analysis of risk factors for development of duodenal ulcers in *Helicobacter pylori*-infected patients. *Digestion* 67: 25-31, 2003.
23. Schnading VJ, Bigio EH, Gourley WK, Stewart GD, Newton GA, Shabot JM. Identification of *Campylobacter pylori* by endoscopic brush cytology. *Diagnostic Cytopathology* 6: 227-234, 1990.
24. Silva AB, Favaro BL, Araujo MB, Passos MLP, Toledo SV. Manual de Padronização de Procedimentos de Enfermagem do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2003.
25. Sjunnesson H, Falt T, Sturegard E, Abu-Al Soud W, Ljungh A, Wadstrom T. PCR-denaturing gradient gel electrophoresis and two feces antigen tests for detection of *Helicobacter pylori* in mice. *Current Microbiology* 47: 278-285, 2003.
26. Suerbaum S, Michett P. *Helicobacter pylori* infection. *The New England Journal of Medicine* 347: 1175-1176, 2002.
27. Tolentino MM, Faifer JG. Úlcera Péptica duodenal. *In: SOBED (ed) Sociedade Brasileira de Endoscopia digestiva*, Editora Medsi, Rio de Janeiro, p. 177-215, 1994.