บทที่ 2
ทบทวนวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง

ลักษณะของเชื้อ *Helicobacter pylori*

Helicobacter pylori เป็นแบคทีเรีย เมื่อย้อมด้วยสีแกรมจะติดสีแกรมลบเห็นเป็นสีแดง รูปเกลียว หรือรูปตัว s ขนาดประมาณ 0.5 x 3 ไมโครเมตร มี flagella 4-6 อัน อยู่ที่ด้านใดด้านหนึ่งของผนังเซลล์

Helicobacter pylori จะเจริญเติบโตได้ดีในอาหารเพาะเชื้อ ชนิด moise chocolate หรือ blood agar ที่อุณหภูมิ 37°C สามารถเห็นโคโลนี (colony) หลังเพาะเชื้อประมาณ 3-4 วัน ลักษณะของโคโลนี เป็นสีเทามีเส้นผ่าศูนย์กลาง 1-3 มิลลิเมตร ถ้านำมาย้อมสีแกรมจะติดสีแกรมลบเห็นเป็นรูปแท่ง (gram negative rod)

Helicobacter pylori สามารถสร้างเอ็นไซม์ (enzyme) ได้หลายชนิด ได้แก่ oxidase, catalase, r-glutamyltranspeptidase, alkaline phosphatase และ urease ซึ่งเอ็นไซม์ urease นี้เชื้อ *Helicobacter pylori* สามารถสร้างได้เป็นจำนวนมาก มีความสำคัญในแง่ที่สามารถใช้ในการตรวจหาเชื้อได้

เชื้อ *Helicobacter pylori* พบได้ในกระเพาะอาหาร โดยจะอยู่ใต้ชั้นเยื่อเมือก (gastric mucus layer) โดยเฉพาะบริเวณกระเพาะอาหารส่วน antrum และ pylorus จะพบว่ามีเชื้ออยู่เป็นจำนวนมาก นอกจากนั้นบริเวณหลอดอาหารที่เกิดภาวะ Barrett's esophagus, ในลำไส้เล็กส่วนต้นที่มีภาวะ gastric metaplasia, Meckel's diverticulum และ rectum ก็สามารถพบเชื้อได้เช่นกัน

ระบาดวิทยา [11]

ในประชากรปกติมีความชุก (prevalence) ของการพบเชื้อ *Helicobacter pylori* แตกต่างกันขึ้นอยู่กับพื้นที่และอายุ โดยความชุกของการพบเชื้อ *Helicobacter pylori* จะสัมพันธ์กับอายุ กล่าวคือ ในคนอายุน้อยจะมีความชุกของการพบเชื้อน้อยกว่าคนอายุมาก ในประเทศกำลังพัฒนาการติดเชื้อมักเกิดตั้งแต่ยังเป็นเด็ก พบว่าคนที่มีเศรษฐานะยากจน ประเทศกำลังพัฒนา จะมีความเสี่ยงต่อการติดเชื้อมากขึ้น

ในธรรมชาติยังไม่สามารถพบเชื้อ *Helicobacter pylori* จากการเพาะเชื้อจากน้ำ, แมลง, หรือสัตว์เลี้ยง ยกเว้น แมว แต่อย่างไรก็ตามยังไม่พบหลักฐานว่าการมีแมวในบ้านจะทำให้ติดเชื้อ *Helicobacter pylori* ในคนมากขึ้น มีรายงานว่าสามารถตรวจพบเชื้อ *Helicobacter pylori* ได้โดยใช้เทคนิค PCR(polymerase chain reaction)จากน้ำดื่มในเปรู [12]

จากข้อมูลทางระบาดวิทยาพบว่าในครอบครัวที่มีผู้ติดเชื้อ *Helicobacter pylori* จะมีโอกาสติดเชื้อมากกว่าคนในครอบครัวที่ไม่มีผู้ติดเชื้อ *Helicobacter pylori* ดังนั้นจึงเชื่อว่าเชื้อ *Helicobacter pylori* ติดต่อจากคนหนึ่งไปสู่อีกคนหนึ่งได้ แต่วิธีในการติดต่อนั้นยังไม่ทราบชัดเจน พบว่าในอุจจาระสามารถตรวจพบเชื้อ *Helicobacter pylori* ได้โดยการเพาะเชื้อและโดยวิธี PCR แต่ยังไม่มีหลักฐานยืนยันชัดเจนว่าเชื้อ *Helicobacter pylori* ติดต่อจากคนหนึ่งไปสู่อีกคนหนึ่งทางอุจจาระ การติดต่อโดยวิธีจากปากสู่ปาก (oral-oral transmission) อาจมีโอกาสเป็นไปได้เนื่องจากสามารถพบเชื้อ *Helicobacter pylori* ได้จาก dental plaque และน้ำลาย โดยการเพาะเชื้อและ PCR แต่กลับพบว่าคู่สามีภรรยาของผู้ที่ติดเชื้อ รวมทั้งทันตแพทย์ ไม่พบว่ามีความเสี่ยงต่อการติดเชื้อมากขึ้น

การพบว่าแพทย์ระบบทางเดินอาหารมีความชุกในการพบเชื้อ *Helicobacter pylori* สูง และการพบว่าเชื้อ *Helicobacter pylori* สามารถติดต่อได้จากการใช้กล้อง endoscope ที่ทำความสะอาดไม่เพียงพอ ทำให้เชื่อว่าการติดต่อทาง gastro-oral สามารถเป็นการติดต่อได้อีกวิธีหนึ่ง

โดยสรุปยังไม่ทราบแน่นอนว่าการติดต่อโดยวิธีใดมีบทบาทสำคัญในการแพร่กระจายเชื้อจากบุคคลหนึ่งไปสู่อีกบุคคลหนึ่ง แต่เชื่อว่าวิธีใดก็ตามที่สามารถนำเชื้อจากบุคคลหนึ่งไปสู่กระเพาะอาหารของอีกบุคคลหนึ่งนั้นสามารถทำให้เกิดการแพร่กระจายเชื้อได้

ความสำคัญทางคลีนิค

การติดเชื้อเฉียบพลัน(Acute infection)

การติดเชื้อ *Helicobacter pylori* แบบเฉียบพลัน จะทำให้เกิดอาการปวดท้อง (epigastrium pain) และคลื่นไส้อาเจียนได้ ถ้าส่องกล้องตรวจในกระเพาะอาหารจะพบว่ามีกระเพาะอักเสบ ๖ (gastritis) ชนิด neutrophilic gastritis และพบว่าความเป็นกรดในกระเพาะอาหารจะลดลงหลังติดเชื้อ *Helicobacter pylori* เฉียบพลัน และจะกลับมาปกติภายใน 2-3 เดือน [13,14]

การติดเชื้อเรื้อรัง(Chronic infection)

หลังจากติดเชื้อ *Helicobacter pylori* เฉียบพลัน ประมาณ 80% ของผู้ป่วยจะเกิดการติดเชื้อเรื้อรัง โดยเกิดพยาธิสภาพเป็น chronic superficial gastritis [15] ผู้ป่วยส่วนใหญ่จะไม่มีอาการ ประมาณ 1 ใน 6 ของผู้ป่วย จะเกิดโรคแผลในกระเพาะอาหาร (Peptic ulcer disease ,PUD) หลังจากเกิด chronic superficial gastritis แล้วผู้ป่วยส่วนหนึ่งจะเกิดเป็น atrophic gastritis ตามมา นอกจากนั้นยังพบว่าการติดเชื้อ *Helicobacter pylori* เรื้อรังทำให้มีความเสี่ยงต่อการเกิด gastric adenocarcinoma และ gastric lymphoma มากกว่าคนปกติ

ผู้ป่วยที่เป็นโรคแผลในกระเพาะอาหาร พบว่ามีความสัมพันธ์กับการติดเชื้อ *Helicobacter pylori* จากรายงานในต่างประเทศพบว่าผู้ป่วยแผลในลำไส้เล็กส่วนต้น มีการติดเชื้อ *Helicobacter pylori* 90-95% ผู้ป่วยแผลในกระเพาะอาหารพบว่ามีการติดเชื้อ *Helicobacter pylori* ร้อยละ70-80 [16,17] โดยพบว่าการให้ยากำจัดเชื้อ *Helicobacter pylori* ทำให้โอกาสกลับเป็นซ้ำของแผลภายใน 1 ปี ลดลงจากร้อยละ 60-85 เหลือเพียงร้อยละ 5-10 ส่วนในประเทศไทยผู้ป่วยแผลในกระเพาะอาหารพบเชื้อ *Helicobacter pylori* ร้อยละ50-55แผลในลำไส้เล็กส่วนต้นร้อยละ 70

สำหรับโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ ตั้งแต่ปี พ.ศ. 2534- มีนาคม 2539 จากการตรวจ CLO test® ในผู้ป่วยแผลในลำไส้เล็กส่วนต้น 295 ราย พบเชื้อ *Helicobacter pylori* ร้อยละ 69และในผู้ป่วยแผลในกระเพาะอาหาร 114 ราย พบเชื้อ *Helicobacter pylori* ร้อยละ 53 ส่วนในกรณีผู้ป่วย non ulcer dyspepsia (NUD) พบเชื้อ *Helicobacter pylori* ร้อยละ 40

ผู้ป่วยมะเร็งของกระเพาะอาหาร ชนิด gastric adenocarcinoma พบว่าติดเชื้อ *Helicobacter pylori* ร้อยละ 60-70 ส่วน MALT lymphoma พบเชื้อ *Helicobacter pylori* ร้อยละ 92-97

กลไกในการเกิดโรค

พบว่า *Helicobacter pylori* มีความสัมพันธ์กับการเกิดความผิดปกติในกระเพาะอาหารหลายอย่าง ได้แก่ กระเพาะอักเสบเฉียบพลัน,กระเพาะอักเสบเรื้อรัง,แผลในกระเพาะอาหารและลำไส้เล็กส่วนต้น,มะเร็งกระเพาะอาหารชนิด adenocarcinoma และชนิด MALT lymphoma ยังไม่ทราบกลไกที่แน่นอนในการที่ *Helicobacter pylori* ทำให้เกิดภาวะต่างๆเหล่านี้ แต่น่าจะสัมพันธ์กับการที่เชื้อ *Helicobacter pylori* ทำให้เกิดการอักเสบหรือการทำลายของเยื่อบุกระเพาะอาหาร

Helicobacter pylori มีปัจจัยที่ส่งเสริมในการทำให้เกิดการทำลายของเยื่อบุกระเพาะอาหาร (virulence factors) อยู่ 2 กลุ่มใหญ่ๆ คือปัจจัย(factor) ที่ช่วยในการทำให้ *Helicobacter pylori* สามารถดำรงอยู่ในกระเพาะอาหารได้ (colonigation factors) และ ปัจจัยที่ทำให้เกิดการทำลายของเยื่อบุผิวกระเพาะอาหาร

ปัจจัยที่ส่งเสริมให้ *Helicobacter pylori* สามารถดำรงอยู่ในกระเพาะอาหารและทำให้เกิดการอักเสบของกระเพาะอาหาร [11]

ปัจจัยที่ส่งเสริมให้ *Helicobacter pylori* สามารถดำรงอยู่ในกระเพาะอาหาร

Motility

Urease

Induction of hypochlorhydria

Adherence

P. Type ATP

ปัจจัยที่ทำให้เกิดการทำลายเยื่อบุของกระเพาะอาหาร

Lipopolysaccharide (LPS)

Leukocyte recruitment and activating factors

Cag A and Vac A proteins

Heat shock proteins

1. ปัจจัยที่ส่งเสริมให้ *Helicobacter pylori* สามารถดำรงอยู่ในกระเพาะอาหาร

คือปัจจัยที่ส่งเสริมให้ *Helicobacter pylori* สามารถดำรงอยู่ในกระเพาะอาหารได้ แม้ว่าร่างกายของคนเราจะมีกลไกที่พยายามจะกำจัดเชื้อ *Helicobacter pylori* อยู่ก็ตาม ซึ่งปัจจัยต่างๆ เหล่านี้ได้แก่

1. การที่เชื้อสามารถเคลื่อนไหวได้โดยอาศัย flagella ทำให้เชื้อสามารถเคลื่อนไหวจากบริเวณที่มีกรดมากไปใต้ชั้นเยื่อเมือก ซึ่งเป็นกรดน้อยกว่า ทำให้เชื้อสามารถเจริญเติบโตได้ดี

2. การที่ *Helicobacter pylori* สามารถสร้าง urease enzyme ได้เป็นจำนวนมาก ทำให้ *Helicobacter pylori* สามารถทำให้สิ่งแวดล้อมรอบตัวมีความเป็นกรดน้อยลงและเชื้อสามารถดำรงอยู่ได้

3. การทำให้เกิดภาวะความเป็นกรดน้อยลงในกระเพาะ (induction of hypochlorhydria) โดยพบว่ากระเพาะอาหารจะมีความเป็นกรดน้อยลงหลังจากติดเชื้อ *Helicobacter pylori* เฉียบพลัน แต่ภาวะดังกล่าวจะเป็นอยู่ชั่วคราว ซึ่งเชื่อว่าความเป็นกรดน้อยลงชั่วคราวนี้เป็นปัจจัยที่ทำให้เชื้อสามารถดำรงอยู่ในกระเพาะอาหารต่อไปได้ กลไกที่ทำให้เกิดภาวะนี้ยังไม่ทราบชัดเจน นอกจากนั้นเมื่อเกิดภาวะ chronic gastritis และ atrophic gastritis ในระยะยาว ก็ทำให้ความเป็นกรดในกระเพาะลดลงเช่นกัน

4. Adherence ทำให้ *Helicobacter pylori* สามารถจับกับเยื่อบุผิวกระเพาะอาหาร ไม่หลุดไปเมื่อมีการเคลื่อนไหวของกระเพาะอาหาร การหลั่งเมือก หรือเมื่อมีการหลุดลอกของเซลล์ (cell turnover) ของกระเพาะอาหาร

5. P-Type ATPase จะมีส่วนสำคัญในการป้องกัน ไม่ให้เกิดความเป็นด่างมากเกินไปจากการสร้าง ammonia โดย urease enzyme

ปัจจัยที่ทำให้เกิดการทำลายเยื่อบุของกระเพาะอาหาร

ปัจจัยที่ทำให้เกิดการทำลายของเยื่อบุกระเพาะอาหาร ได้แก่

1. Lipopolysaccharide เป็น glycolipid ซึ่งพบบริเวณผนังเซลล์ของแบคทีเรียแกรมลบรวมทั้ง *Helicobacter pylori* มีคุณสมบัติเป็น endotoxin และสามารถกระตุ้นการหลั่ง cytokines ต่างๆได้ นอกจากนั้นยังมีคุณสมบัติอื่นๆ อีก เช่น ยับยั้งการสร้าง mucin, กระตุ้นการหลั่ง pepsinogen [18]

2. Cag A และ Vac A proteins ประมาณร้อยละ 50 ของ *Helicobacter pylori* สามารถสร้างโปรตีนที่ทำให้เกิด vacuole formation ใน eukaryotic cell ได้ซึ่งเรียกว่า Vac A (Vacuolating cytotoxin A) แต่ความสำคัญของ Vac A ในทางคลีนิคยังไม่ชัดเจน และประมาณร้อยละ 60 ของ *Helicobacter pylori* พบว่ามีโปรตีนอีกชนิดหนึ่ง ซึ่งสามารถทำให้เกิด vacuole formation ได้เช่นกัน คือ Cag A (cytotoxin-associated gene A) ซึ่งมีรายงานว่า *Helicobacter pylori* strain ที่สร้าง Cag A จะทำให้เกิด inflammation และ interleukin 8 production มากกว่าปกติ [19]

3. Leukocyte recruitment and activating factors

Helicobacter pylori สามารถสร้าง protein ได้อีกหลายชนิด ที่มีคุณสมบัติทำให้ monocyte และ neutrophil มารวมกันที่ lamina propria ทำให้เกิดการอักเสบขึ้น เช่น neutrophil activating protein

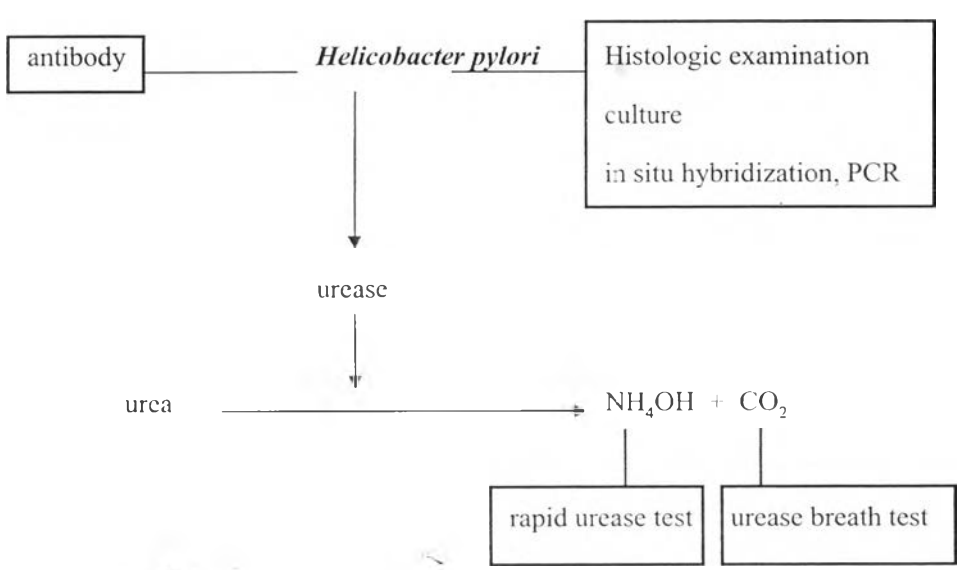
การวินิจฉัย

การวินิจฉัยการติดเชื้อ *Helicobacter pylori* สามารถวินิจฉัยได้หลายวิธีได้แก่

1. การตรวจพบตัวเชื้อ *Helicobacter pylori* ซึ่งได้แก่
   - การตรวจทางวิทยาฮิสโต
   - การเพาะเชื้อ
   - การตรวจโดย in situ hybridization
   - การตรวจโดย polymerase chain reaction (PCR)
2. การตรวจพบสารที่เชื้อ *Helicobacter pylori* สร้างขึ้น ได้แก่
   - rapid urease test
   - ^{13}C หรือ ^{14}C urea breath test (UBT)
3. การตอบสนองทางภูมิคุ้มกัน
   - *Helicobacter pylori* antibody

ในการตรวจวินิจฉัยดังกล่าว สามารถแบ่งวิธีการตรวจได้ออกเป็น 2 กลุ่มใหญ่ ๆ คือ กลุ่มที่ต้องอาศัยการตัดชิ้นเนื้อ ซึ่งต้องอาศัยการส่องกล้อง endoscope (invasive test) กับกลุ่มที่ไม่ต้องอาศัยการตัดชิ้นเนื้อและการส่องกล้อง (noninvasive test)

แผนภาพที่ 1 แสดงหลักการตรวจหาเชื้อ *Helicobacter pylori*



การตรวจที่ไม่ต้องอาศัยการตัดชิ้นเนื้อและการส่องกล้อง

1. การตรวจหาภูมิคุ้มกันต่อเชื้อ *Helicobacter pylori*(*Helicobacter pylori* antibody)

การติดเชื้อ *Helicobacter pylori* สามารถทำให้เกิดร่างกายของมนุษย์สร้างภูมิคุ้มกัน (antibody) ต่อเชื้อได้ทั้งชนิด IgM, IgG IgA การตราจหาภูมิคุ้มกันต่อเชื้อ สามารถตรวจได้หลายวิธี เช่น bacterial agglutination, complement fixation, ELISA และ Western blot ส่วนของเชื้อ *Helicobacter pylori* ที่เป็น antigen ซึ่งกระตุ้นให้เกิดการตอบสนองทางภูมิคุ้มกัน ได้แก่ urease, adhesion molecule และ lipopolysaccharide [20]

การตรวจด้วยวิธี ELISA เป็นการตรวจที่มีความไวสูง และเป็นที่นิยมใช้กันในทางคลีนิค โดยมีการจัดทำออกจำหน่ายเป็น commercial kit มักนิยมตรวจหา IgG มี antigen หลายชนิดที่ใช้ในการตรวจหา antibody โดยวิธี ELISA ได้แก่ urease, glycine extracts, whole cell sonicates และ filtrate of culture supernatants [21] ความแม่นยำของการตรวจขึ้นอยู่กับ antigen ที่ใช้ ,ชนิดของ antibody ที่ตรวจหา และระดับที่ใช้แบ่งแยกค่าระหว่างบวกและลบ (cut-off point) โดยทั่วไป การตรวจโดยวิธี ELISA จะมีความไว ร้อยละ 80-100 และความจำเพาะ ร้อยละ 75-100 [22,23] การตรวจหาภูมิคุ้มกันต่อเชื้อ *Helicobacter pylori* อาจให้ผลบวกปลอม ในรายที่มีภูมิคุ้มกันต่อเชื้อ H. heilmannii ได้

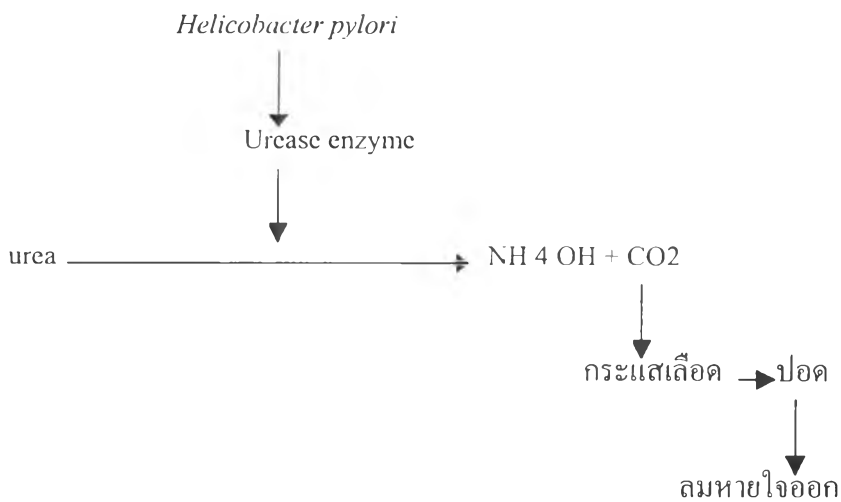
การตรวจหา ภูมิคุ้มกัน*Helicobacter pylori* มีประโยชน์มากในการศึกษาทางด้านระบาดวิทยา นอกจากนั้นยังช่วยในการศึกษาหาความสัมพันธ์ระหว่างการติดเชื้อ *Helicobacter pylori* และมะเร็งของกระเพาะอาหาร ซึ่งศึกษาโดยนำซีรั่มที่เก็บไว้นาน 25 ปี มาตรวจหาภูมิคุ้มกันต่อเชื้อ *Helicobacter pylori* เพื่อนำมาเปรียบเทียบระหว่างกลุ่มที่เป็นมะเร็งกระเพาะอาหาร และไม่เป็น ทำให้ทราบว่าผู้ป่วยที่เป็นมะเร็งกระเพาะอาหารมีการติดเชื้อ *Helicobacter pylori* มากกว่ากลุ่มที่ไม่เป็น [24,25,26]

หลังการให้ยากำจัดเชื้อ *Helicobacter pylori* ในกระเพาะอาหารแล้วพบว่าระดับ ภูมิคุ้มกันต่อ *Helicobacter pylori* จะลดลงอย่างช้า ๆ มีรายงานว่าผู้ป่วย แผลในลำไส้เล็กส่วนต้นหลังจากให้ยากำจัดเชื้อ *Helicobacter pylori* ได้สำเร็จ ระดับ serum IgG จะลดลงร้อยละ 26 ที่ 3 เดือน, ร้อยละ 43 ที่ 6 เดือน และร้อยละ 55 ที่ 1ปี [27] แต่เนื่องจาก กว่าที่ระดับภูมิคุ้มกันจะลดลงต้องใช้เวลานาน ทำให้ไม่นิยมใช้ติดตามการรักษาเนื่องจากจะได้ผลบวกปลอมสูง

ในต่างประเทศมีการแนะนำให้ตรวจหา*Helicobacter pylori* โดยการตรวจหา ภูมิคุ้มกันต่อเชื้อในผู้ป่วยที่มีอาการ dyspepsia ก่อนทุกรายและในกรณีที่การตรวจให้ผลบวกแนะนำให้การรักษาโดยให้ยากำจัดเชื้อ *Helicobacter pylori* ก่อน ซึ่งจะช่วยลดปริมาณผู้ป่วยที่ต้องทำการส่องกล้องตรวจภายในกระเพาะอาหารซึ่งมีราคาแพงลงได้ แต่ในประเทศไทยยังไม่มีการแนะนำให้ปฏิบัติตามแนวทางดังกล่าว

2. Urea breath test

การตรวจด้วยวิธี Urea breath test อาศัยหลักการที่ *Helicobacter pylori* สามารถสร้าง urease enzyme มาย่อย urea ได้ ดังแผนภาพต่อไปนี้



การตรวจทำโดยให้ผู้ป่วยรับประทาน ^{13}C หรือ ^{14}C-urea ซึ่ง urease ของ *Helicobacter pylori* จะย่อย urea แล้วทำให้เกิด $^{13}CO_2$ หรือ $^{14}CO_2$ ในกระเพาะอาหาร ดูดซึมเข้ากระแสโลหิต แล้วขับออกทางลมหายใจออก ^{13}C เป็นอะตอมของคาร์บอนที่มีอยู่ตามธรรมชาติ จึงไม่มีปัญหาเกี่ยวกับกัมมันตภาพรังสี การวัดค่า ^{13}C จะวัดออกมาเป็นสัดส่วน(ratio) ระหว่าง $^{13}CO_2$ และ $^{12}CO_2$ ของลมหายใจออกโดยเครื่อง gas chromatograph isotope ratio mass spectrophotometer (GC/IRMS) แต่เนื่องจากต้องเสียค่าใช้จ่ายสูง การตรวจวิธีนี้จึงควรทำเฉพาะสถานที่ที่มีตัวอย่างตรวจเป็นจำนวนมาก ๆ เท่านั้น ปกติจะมีความไว และความจำเพาะ มากกว่าร้อยละ 95 [28]

ส่วน ^{14}C เป็นสาร radioactive สามารถปล่อย beta ray ซึ่งสามารถวัดได้ด้วยเครื่อง scintillation counter วิธีนี้ใช้เป็นครั้งแรกโดย Marshall B Jและ Surveyor I [29] โดยให้ผู้ป่วยดื่ม ^{14}C urea ที่ผสมในน้ำ หลักการเหมือนกับ ^{13}C urea breath test โดยวัด $^{14}CO_2$ จากลมหายใจออก ในปัจจุบันมีการทำ ^{14}C urea ออกมาเป็นหลายรูปแบบทั้งชนิดแคปซูล, liquid และ meal based test

การตรวจโดยวิธีนี้มีราคาถูกกว่ามาก และไม่มีอันตรายจากสารกัมมันภาพรังสีเนื่องจากปริมาณที่ใช้น้อยมาก

เนื่องจากการย่อยสลาย urea แล้วเปลี่ยนเป็น CO_2 ขึ้นอยู่กับหลายปัจจัย ทั้งจากเทคนิคการตรวจ, จากผู้ป่วย และจากเชื้อ *Helicobacter pylori* เอง แต่สิ่งที่เป็นปัจจัยสำคัญคือปริมาณของเชื้อ *Helicobacter pylori* และความเร็วของอาหารที่เคลื่อนผ่านกระเพาะ(gastric emptying) ถ้าผู้ป่วยมี gastric emptying time ที่เร็วทำให้ urea ไม่มีเวลาพอที่จะเปลี่ยนเป็น CO2 ทำให้เกิดผลลบปลอมได้ การให้อาหารที่ประกอบด้วยไขมัน หรือ กากใยอาหารสูง ๆ หรืออาหารที่เป็นของแข็งร่วมด้วยจะทำให้ gastric emptying ช้าลงได้ อาหารที่นิยมใช้กันได้แก่ Ensure® ร่วมกับ Calogen mixture® หรือ citric acid

ส่วนการที่ผู้ป่วยมีแบคทีเรียที่สามารถสร้าง urease ได้ในช่องปากอาจทำให้เกิดผลบวกปลอมได้ ซึ่งแก้ไขปัญหานี้โดยให้ผู้ป่วยทำความสะอาดช่องปากก่อนตรวจ

เนื่องจากการตรวจด้วยวิธี urea breath test มักจะให้ผลบวกเฉพาะเมื่อมีการติดเชื้อ *Helicobacter pylori* อยู่ เท่านั้น ในกรณีที่ผู้ป่วยได้รับยาฆ่าเชื้อ *Helicobacter pylori* ได้สำเร็จแล้ว การตรวจด้วย urea breath test จะให้ผลลบดังนั้นจึงสามารถใช้ติดตามผลการรักษาได้ดีกว่าวิธี *Helicobacter pylori* antibody และดีกว่าการตรวจด้วย rapid urease test และการตรวจด้วยวิทยาฮิสโตตรงที่ไม่ต้องอาศัยการส่องกล้องตรวจภายในกระเพาะอาหารในขณะที่มีความแม่นยำพอๆ กัน ดังนั้นจึงถือเป็นการตรวจที่ใช้ติดตามผลการรักษาได้ดีที่สุด ซึ่งโดยทั่วไปผู้ป่วยที่จำเป็นต้องติดตามผลการรักษาหลังให้ยาฆ่าเชื้อ *Helicobacter pylori* แล้วได้แก่ ผู้ป่วยที่เคยมีเลือดออกหรือภาวะแทรกซ้อนอื่นจากแผลในกระเพาะอาหารซึ่งติดเชื้อ *Helicobacter pylori* ซึ่งปัจจุบันในประเทศไทยยังไม่สามารถตรวจด้วยวิธีนี้ได้เนื่องจากไม่มีเครื่องมือซึ่งราคาแพงมาก

การตรวจที่ไม่ต้องอาศัยการตัดชิ้นเนื้อและการส่องกล้อง

1. Rapid urease test

การตรวจด้วยวิธี rapid urease test อาศัยคุณสมบัติของ *Helicobacter pylori* ที่สามารถสร้าง urease ได้เป็นจำนวนมาก เช่นเดียวกับการตรวจโดย urea breath test วิธีนี้ได้รับการเสนอครั้งแรกโดย Marshall B Jและคณะ โดยทำการตัดชิ้นเนื้อจากกระเพาะอาหารใส่ใน urea solution ซึ่งถ้ามีเชื้อ *Helicobacter pylori* ในชิ้นเนื้อก็จะมี urease enzyme สามารถสลาย urea ได้เป็น ammonia

ทำให้ pHในสารละลายสูงขึ้น สามารถทราบได้โดยสังเกตการเปลี่ยนแปลงสีของสารละลายที่มี pH indicator คือ phenol red

urea solution ที่ใช้อาจทำเป็นของแข็ง (solid), กึ่งของแข็ง (semisolid), ของเหลว (liquid) ส่วน pH indicator อาจผสมรวมอยู่ใน urea solution เดียวกัน หรือแยกกันต่างหากอีกส่วนหนึ่ง

ปัจจุบันมี rapid urease test ที่จำหน่ายอยู่หลายชนิดแต่ที่นิยมมีอยู่ 3 ชนิดคือ

1. CLO test® ผลิตโดย Delta West Ltd., Perth, Australia
2. Hp fast® ผลิตโดย GI supply., Camp Hill, Pa
3. Pyloritek® ผลิตโดย Serium Research Corp, Elkhart, Ind.

1.CLO test®

คำว่า CLO ย่อมาจาก Campylobacter Like Organism เป็น rapid urease test ชนิดแรกที่มีวางจำหน่าย คิดค้นโดย Marshall B J. ประกอบด้วย agar gel ซึ่งมีส่วนผสมของ urea, phenol red, buffer และ bacteriostatic agent บรรจุอยู่ภายในสไลด์พลาสติก สามารถเก็บไว้ได้นาน 18 เดือน ที่อุณหภูมิ 2-8 °C ราคาจำหน่ายในประเทศไทยราคาอันละ 206 บาท การอ่านผลให้อ่านภายใน 24 ชั่วโมง ถ้ามีการเปลี่ยนสีของ gel จากสีเหลืองเป็นชมพูหรือแดง ภายใน 24 ชั่วโมงถือว่าให้ผลบวก พบว่าความไวของการตรวจหาเชื้อ *Helicobacter pylori* ประมาณร้อยละ 90 และ ความจำเพาะประมาณร้อยละ 100 [30,31] ก่อนตรวจควรทำให้ CLO test® อุ่นขึ้นเนื่องจากพบว่าอุณหภูมิสูงขึ้นจะทำให้ได้ผลบวกเร็วขึ้นและมีความไวมากขึ้นเมื่อเทียบกับการตรวจที่อุณหภูมิต่ำ ดังแสดงอยู่ในตารางที่1 [32] โดยอุณหภูมิที่เหมาะสมที่urease enzymeจะทำงานได้ดีที่สุดคือ 42 °C ซึ่งทางบริษัทผู้ผลิต CLO test® แนะนำว่าควรทำให้ CLO test® อุ่นขึ้นอยู่ในช่วงอุณหภูมิ 30-40 °C เป็นเวลาอย่างน้อย
3 ชั่วโมงหลังใส่ชิ้นเนื้อลงใน CLO test®

2.Hp fast®

เป็น rapid urease test ซึ่งทำเป็น agar gel เช่นเดียวกับ CLO test® จากการศึกษาพบว่าความไว,ความจำเพาะ และความเร็วในการให้ผลบวกไม่แตกต่างกับ CLO test® [33]

3.Pyloritek®

เป็น rapid urease test ซึ่งมีส่วนของ urea solution แยกออกจากส่วนของ phenol red ที่เป็น indicator โดยส่วนของ urea solution จะอยู่ใน strip ซึ่งเมื่อวางชิ้นเนื้อที่ตัดจากกระเพาะที่มีเชื้อ *Helicobacter pylori* บน strip จะเกิดแอมโมเนียขึ้น ซึ่งแอมโมเนียนี้จะซึมผ่าน microporous membrane ไปสู่ส่วนของ indicator ซึ่งจะเปลี่ยนสีไปทำให้สามารถอ่านผลได้ พบว่า Pyloritek® จะให้ผลบวกเร็วกว่า CLO test® และ Hp fast® โดยพบว่าการอ่านผลที่ 1 ชั่วโมงจะให้ความไวเท่ากับผลของ CLO test® หรือ Hp fast® ที่ 4 ชั่วโมง [33] โดยทั่วไปนิยมอ่านผล Pyloritek® ที่ 1 ชั่วโมง

ตารางที่ 1 : ผลของการตรวจหา *Helicobacter pylori* ด้วย CLO test® ที่อุณหภูมิ 37°C และที่อุณหภูมิห้อง[32]

	37°C	Room temp	p-value
Hours to positive test			
Median	0.75	1.0	<0.0001
Mean	2.76 ± 0.6	3.6 ± 0.6	0.004
Range	0.25 - 24	0.25 -24	-
Sensitivity at			
1 hour	70%	49%	0.001
2 hours	86%	76%	0.07
3 hours	88%	85%	>0.20
6 hours	89%	86%	>0.20
24 hours	98%	96%	>0.20
Specificity at			
1 hour	100%	100%	>0.20
2 to 6 hours	99%	99%	>0.20
24 hours	95%	95%	>0.20

ตารางที่ 2 : เปรียบเทียบความไวในการตรวจหาเชื้อ *Helicobacter pylori* ด้วย agra urease test และ Pyloritek® ที่เวลาต่าง ๆกัน [34]

Incubation time (hours)	Yousfi et al. N = 100		Laine et al. N = 87			Young et al. N = 99
	Gold standard: histology		Gold standard: histology and culture			Gold standard: histology or UBT/CLO test®
	CLO test® / Hp fast®	Pyloritek®	CLO test®	Hp fast®	Pyloritek®	Pyloritek®
0.5	93%	93%	ND	ND	ND	ND
1	93%	98.5%	71%	66%	89%	98%
2	94%	100%	ND	ND	ND	ND
4	97%	ND	86%	82%	ND	ND
24	98.5%	ND	93%	88%	ND	ND

โดยทั่วไปการตรวจด้วยวิธี rapid urease test จะมีความไวลดลงเมื่อใช้ตรวจเพื่อยืนยันการหายของเชื้อ *Helicobacter pylori* หลังได้รับยารักษา แม้จะทำการตรวจเมื่อ 1 เดือนหลังการรักษา ซึ่งน่าจะเป็นผลจากหลังการรักษาปริมาณเชื้อ *Helicobacter pylori* มีจำนวนน้อยกว่า threshold ที่จะสามารถทำให้เกิดผลบวกได้ (ประมาณ 10^4 –10^5 colony forming unit/ml) [34] ดังนั้น rapid urease test จึงเป็นการตรวจที่ไม่เหมาะสมในการใช้เพื่อติดตามผลการรักษา

การใช้ methylene blue เพื่อตรวจหา intestinal metaplasia อาจรบกวนการตรวจหา *Helicobacter pylori* โดยใช้ rapid urease test ได้เพราะ methylene blue อาจมีผลเป็น bactericidal ดังนั้นควรตัดชิ้นเนื้อมาตรวจด้วย rapid urease test ก่อน stain ด้วย methylene blue ส่วนการมีเลือดปนมาก ๆ สามารถทำให้เกิดผลลบปลอมได้

การมีเชื้อแบคทีเรียชนิดอื่นที่สามารถสร้าง urease ได้ เช่น *Helicobacter Heilmannii* หรือ *Enterobacteriaceace* และ *Pseudomonaceae* บางชนิด จะทำให้เกิดผลบวกปลอม โดยเฉพาะใน

กรณีผู้ป่วย hypo-achlorhydria นอกจากนั้นการอ่านผลหลังระยะเวลาที่กำหนดจะทำให้โอกาสเกิดผลบวกปลอมมากขึ้น

urease test ที่ผลิตขึ้นเอง

urease test ที่ผลิตขึ้นเองหรือ locally made rapid urease test เป็นการตรวจที่อาศัยหลักการของ urease test โดยอาศัยสารละลายที่มีส่วนผสมของสารที่สำคัญ 2 ชนิดคือ urea และ pH indicator ซึ่งนิยมใช้ phenol red จุดประสงค์สำคัญของการใช้ urease test ที่ผลิตขึ้นเองคือเพื่อความประหยัด เนื่องจาก urease test ที่ผลิตขึ้นเองมีราคาถูกมากเมื่อเทียบกับ rapid urease test ที่มีจำหน่ายอยู่

ตามปกติในโรงพยาบาลที่มีห้องปฏิบัติการทางจุลชีววิทยา จะมีการตรวจยืนยันเชื้อแบคทีเรียบางชนิดที่สามารถสร้าง urease enzyme ได้ เช่น *Proteus spp.* (ซึ่งแบคทีเรียดังกล่าวแม้จะสามารถสร้าง urease enzyme ได้ แต่มักสร้างได้ปริมาณน้อยกว่าเชื้อ *Helicobacter pylori* มาก) โดยใช้หลักการของ urease test ซึ่งมักเตรียมขึ้นใช้เอง ทำง่ายและมีราคาถูกมากโดย

มีรายงานการศึกษา การใช้ urease test ที่ผลิตขึ้นเอง ในประเทศไทย 2 รายงาน รายงานแรกโดย วรรณา เพ่งเรืองโรจนชัย และคณะ ซึ่งใช้ urea agar base (Difco) ทำเป็น urea broth บรรจุในหลอด 0.5 ml แล้วนำมาตรวจหาเชื้อ *Helicobacter pylori* พบว่ามีความไวร้อยละ 84.7, ความจำเพาะร้อยละ 96.6 เมื่ออ่านผลที่ 24 ชั่วโมง ซึ่งพบว่าความไวต่ำเมื่อเทียบกับรายงานต่างประเทศ ที่ควรจะได้ ความไวร้อยละ 92และ ความจำเพาะร้อยละ 100[9] ต่อมา สิริวรรณ จันทรคุปตังกูร และคณะได้รายงานการตรวจหาเชื้อ *Helicobacter pylori* พบว่า urease test ที่ผลิตขึ้นเอง ชนิดที่ทำเป็น agar จะให้ ความไว และ ความจำเพาะสูงกว่า ชนิดที่ทำเป็น broth และการอ่านผลหลัง 24 ชั่วโมง จะให้ความไวเพิ่มขึ้นจาก 60.3% เป็น 65.1% แต่รายงานดังกล่าวใช้ชิ้นเนื้อบดกับน้ำเกลือ (0.9% NaCl) ให้ละเอียด แล้วใส่ไปตรวจใน urease test เพียง 2 หยด จึงทำให้ค่า ความไวต่ำกว่าปกติ[10]

ในประเทศไทย มีโรงเรียนแพทย์หลายแห่งที่ใช้ urease test ที่ผลิตขึ้นเอง สำหรับตรวจหาเชื้อ *Helicobacter pylori* แต่การเตรียม urease test ต่างกัน เช่นที่โรงพยาบาลรามาธิบดี ใช้ urease test ซึ่งทำเป็น ชนิด broth [35]ส่วนที่ โรงพยาบาลมหาราช จังหวัดเชียงใหม่ ทำเป็นชนิด agar ซึ่งพบว่าได้ผลดี แต่ยังไม่มีการรายงานผลการใช้ทางคลินิก จากสถาบันดังกล่าวเลย รวมทั้งยังไม่มีรายงานผลการศึกษาการใช้ urease test ที่ผลิตขึ้นเอง เปรียบเทียบกับการตรวจทางวิทยาฮิสโตในประเทศไทย

เนื่องจากการทำ urease test ที่ผลิตขึ้นเอง ของแต่ละสถาบัน แม้ว่าจะใช้หลักการเดียวกัน แต่ชนิดของ urease base ว่าเป็น broth หรือ agar การใช้ buffer การปรับค่า pH ที่เหมาะสมรวมทั้งบริษัทที่ ผลิต urea agar base นั้นแตกต่างกัน ทำให้ ความไวและความจำเพาะอาจแตกต่างกันไป และการอ่านผลควรจะอ่านที่ 24 ชั่วโมงเหมือน CLO test ® หรือหลัง 24 ชั่วโมง (48 ชั่วโมง)ตามที่เคยมีรายงานการศึกษาไว้ในประเทศไทย[10] ทำให้แต่ละสถาบันควรมีข้อมูลเกี่ยวกับ urease test ที่ผลิตขึ้นเอง ของตัวเอง ว่ามีความแม่นยำเพียงใด ก่อนนำไปใช้ทางคลินิคจริง

2. การตรวจทางวิทยาฮิสโต (Histologic examination)

จากประวัติการค้นพบเชื้อ *Helicobacter pylori* จะพบว่ามีรายงานการค้นพบเชื้อชนิดนี้จากการตรวจทางวิทยาฮิสโตก่อนที่จะสามารถเพาะเชื้อชนิดนี้ได้ทางคลินิค

การตรวจต้องอาศัยการตัดชิ้นเนื้อจากกระเพาะอาหารมาตรวจหาเชื้อ โดยทั่วไปแนะนำให้ตัดชิ้นเนื้อจากกระเพาะอย่างน้อย 2ชิ้น 2 ตำแหน่ง[39] คือบริเวณ antrum ซึ่งห่างจาก pylorus ไม่เกิน 2-3 เซนติเมตร และที่บริเวณ corpus แห่งละ 1ชิ้นในบางกรณีเช่นผู้ป่วยหลังได้รับยาปฏิชีวนะ หรือยาลดกรดประเภท proton pump inhibitor เชื้อมักจะน้อยลงหรือหายไปจากบริเวณ antrum แต่ยังคงพบได้ในบริเวณ corpus [36]เชื้อ *Helicobacter pylori* สามารถติดสีจากการย้อมชิ้นเนื้อด้วย Haematoxylin and Eosin, Warthin-Starry stain, Giemsa stain และ Gram stain โดยสามารถมองเห็นจากกล้องจุลทรรศน์ซึ่งเชื้อ *Helicobacter pylori* จะมีขนาดยาว 3-6 μm และกว้าง 0.6 μm อยู่บริเวณผิวของเยื่อบุกระเพาะอาหารบริเวณช่องระหว่างเซลล์และในชั้นเยื่อเมือกของกระเพาะอาหาร การพบเชื้อควรเห็นเชื้อที่มีลักษณะเฉพาะคือมีรูปร่างคล้ายนกนางนวล (seagull shaped) ร่วมด้วย ถ้ามีเชื้อจำนวนมากจะวินิจฉัยได้ไม่ยาก บางครั้งเชื้ออาจมีรูปร่างเป็นแท่ง (rod), เกลียว (spiral) หรือกลม (cocci) การย้อมด้วยวิธี Haematoxylin and Eosin อาจจะแยกเชื้อ *Helicobacter pylori* จากเศษของ mucus ได้ยาก จะทำให้เกิดผลบวกปลอมได้ ซึ่งพบได้ประมาณร้อยละ 10 ของการตรวจหาเชื้อ *Helicobacter pylori*โดย Hematoxylin and Eosin พบว่ามี ความไวน้อยกว่าการย้อมด้วยวิธีอื่นซึ่งพบว่ามี ความไว ประมาณร้อยละ 66 ดังนั้นการตรวจไม่พบโดยวิธีนี้ควรย้อมเชื้อตรวจด้วยวิธีอื่นเพิ่มเติม การย้อมด้วย Warthin-Starry silver stain จะเห็นเชื้อ *Helicobacter pylori* มีลักษณะเป็นแท่งเกลียวสีดำ โดยมีพื้นเป็นสีเหลือง ตัวเชื้อจะเห็นใหญ่และชัดเจนกว่าการย้อมชนิดอื่น แต่เนื่องจากการย้อมด้วยวิธีนี้ทำยาก และมีราคาแพงกว่าการย้อมชนิดอื่นจึงไม่นิยมใช้

การย้อมด้วย Giemsa stain สามารถเห็นเชื้อติดสี giemsa เป็นสีน้ำเงินเข้ม (dark blue) รูปแท่งเกลียว (spiral rod) แต่ตัวไม่ใหญ่เท่าการย้อมด้วยวิธี Warthin-Starry silver stain มีรายงานการศึกษาเปรียบเทียบระหว่าง Giemsa stain และ Warthin-Starry silver stain พบว่าได้ผลไม่แตก

หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ต่างกันในการตรวจหาเชื้อ *Helicobacter pylori* และเนื่องจากเป็นการย้อมที่ทำได้ง่ายและไม่แพง จึงเป็นการตรวจที่นิยมทำคู่กับการย้อมด้วยวิธี Haemotoxylin and eosin

การย้อมด้วยสีแกรม(gram stain) จะเห็นเชื้อ *Helicobacter pylori* ติดสีแกรมลบเป็นรูปแท่งเกลียวโดยสามารถตรวจหาได้อย่างรวดเร็วโดยการทำ smear จากชิ้นเนื้อที่ตัดจากกระเพาะอาหารหรือจาก mucosal brushing ในกรณีที่มีเชื้อปริมาณมากสามารถตรวจได้ง่าย พอ ๆ กับ Warthin-Starry silver stain

การย้อมเพื่อตรวจหาเชื้อ *Helicobacter pylori* ทางวิทยาฮิสโต เป็นการตรวจที่ไม่จำเพาะ เช่นเห็นเป็น cocci form จะบอกไม่ได้ว่าเป็น *Helicobacter pylori* หรือไม่ ต้องอาศัยการย้อมพิเศษด้วย immunocytochemistry แต่จากการศึกษาต่าง ๆพบว่าการตรวจทางวิทยาฮิสโตโดยอาศัยการเห็นลักษณะเฉพาะของเชื้อจะมี ความไวประมาณร้อยละ 90 และความจำเพาะประมาณร้อยละ 95-100 เมื่อตัดชิ้นเนื้อตรวจอย่างน้อย 2 ชิ้น ดังนั้นในปัจจุบันการตรวจโดยวิธีนี้จึงถือเป็น การตรวจมาตรฐาน(gold standard) ในการตรวจหาเชื้อ *Helicobacter pylori*

3. การตรวจหาเชื้อ *Helicobacter pylori* โดยการเพาะเชื้อ (culture)

ในทางทฤษฎีการเพาะเชื้อเพื่อหาเชื้อ *Helicobacter pylori* น่าจะถือว่าเป็นการตรวจมาตรฐาน (gold standard)ที่ดีในการตรวจหาเชื้อ *Helicobacter pylori* แต่เนื่องจากเชื้อ *Helicobacter pylori* เป็นเชื้อที่ขึ้นช้า ใช้เวลาเพาะเชื้อประมาณ 3-12วัน และ การเพาะเชื้อได้หรือไม่ขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายอย่าง รวมทั้งความชำนาญของผู้เพาะเชื้อ ทำให้ ความไวไม่มากเมื่อเทียบกับการตรวจโดยวิธีอื่น พบว่าในสถานที่ที่มีความเชี่ยวชาญในการเพาะเชื้อชนิดนี้สามารถเพาะเชื้อขึ้นได้ร้อยละ 75-90

ชิ้นเนื้อที่ตัดมาทำการเพาะเชื้อมักตัดจากบริเวณ antrum หรือ body และควรส่งไปยังห้องปฏิบัติการเพาะเชื้อโดยเร็วที่สุดเนื่องจากเชื้อจะตายง่ายเมื่อถูก oxygen และเมื่ออยู่ในอุณหภูมิห้อง อุณหภูมิที่เหมาะสมระหว่างส่งตรวจคือ น้อยกว่า 10 $^{\circ}C$ ถ้าเวลาในการส่งเชื้อไปยังห้องปฏิบัติการน้อยกว่า 4ชั่วโมง อาจใส่ชิ้นเนื้อลงในน้ำเกลือ (saline solution) หรือ 20% glucose solution ได้ แต่ต้องรักษาอุณหภูมิอยู่ที่ 4 $^{\circ}C$ ถ้าใช้ transport medium เช่น stuart medium หรือ Portagerm pylori สามารถเก็บไว้ได้ถึง 24ชั่วโมง ที่ 4 $^{\circ}C$ แต่ถ้าต้องการเก็บชิ้นเนื้อไว้นานกว่านั้น ชิ้นเนื้อจะต้องแช่ไว้ที่อุณหภูมิ -70$^{\circ}C$ หรือแช่ในไนโตรเจนเหลว

ก่อนจะทำการเพาะเชื้อจะต้องบดชิ้นเนื้อให้ละเอียดก่อนที่จะใส่ลงใน อาหารเพาะเชื้อ (culture media) ซึ่งอาหารเพาะเชื้อจะประกอบไปด้วย 3ส่วนคือ agar base, growth supplement และ selective supplement

ส่วน selective supplement มักประกอบด้วย antibiotic หลายชนิด เพื่อป้องกันการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียที่ไม่ต้องการเช่นใช้ vancomycin, polymyxin และ trimetroprim สำหรับ Skirrow's medium หรือ vancomycin, nalidixic acid และ amphotericin B สำหรับ Goodwin's medium เป็นต้น ซึ่งพบว่าไม่มีอาหารเพาะเชื้อชนิดไหนที่สามารถทำให้เชื้อขึ้นได้ 100% ส่วนใหญ่จะต้องใช้อาหารเพาะเชื้อหลายชนิดร่วมกัน [34] โดยหลังจากใส่ชิ้นเนื้อที่บดลงในอาหารเพาะเชื้อแล้วจะต้องเก็บที่อุณหภูมิ 37°C ในภาวะ microaerobic เป็นเวลาอย่างน้อย 12วัน

เชื้อที่ขึ้นจะเป็น colony เล็ก ๆ ผิวเรียบกลม มักขึ้น 3-4 วัน หลังเพาะเชื้อถ้าย้อม gram stain จะเห็นเป็น gram negative curved bacteria การยืนยันชนิดของเชื้อจะต้องตรวจโดย biochemical test ซึ่งมักเป็นการตรวจหาเอนไซม์ต่าง ๆ ของเชื้อ เช่น urease, catalase และ oxidase

ในทางปฏิบัติมักไม่นิยมเพาะเชื้อ *Helicobacter pylori* เพื่อวินิจฉัย แต่นิยมใช้เพื่อทดสอบการตอบสนองต่อยาของเชื้อมากกว่าเนื่องจากยุ่งยากและอาจมีความไวต่ำสำหรับห้องปฏิบัติการที่ไม่ชำนาญ

4. การตรวจหาเชื้อ *Helicobacter pylori* โดยวิธี polymerase chain reaction (PCR)

เป็นการตรวจหา DNA ของเชื้อ *Helicobacter pylori* โดยตรง ได้ผลรวดเร็วกว่าการเพาะเชื้อ แต่มีข้อเสียคือไม่สามารถตรวจหาการดื้อยาได้ แต่คาดว่าในอนาคตอาจสามารถตรวจหาการดื้อยาของเชื้อได้โดยตรวจหา DNA ตรงส่วนที่ควบคุมการดื้อยาโดยตรง เนื่องจากการตรวจยุ่งยากและมีราคาแพงจึงไม่นิยมใช้ตรวจหาเชื้อ *Helicobacter pylori* ในทางคลินิค

การรักษา

ในปัจจุบันภาวะที่เป็นข้อบ่งชี้สำหรับการรักษาเชื้อ *Helicobacter pylori* คือ แผลในกระเพาะอาหารและแผลในลำไส้เล็กส่วนต้นโดยพบว่าการให้ยากำจัดเชื้อ *Helicobacter pylori* ได้สำเร็จจะทำให้โอกาสเกิดแผลกลับเป็นซ้ำลดลง แผลหายเร็วขึ้นและลดโอกาสเกิดภาวะแทรกซ้อน เช่นเลือดออกในทางเดินอาหารซ้ำ

ตาม Asia Pacific Consensus[38] ได้แบ่ง grade of recommendation ในการรักษาผู้ป่วยเป็น grade A, B, C ตาม level of evidence ของ grading scale of Sackett ตามตารางที่ 3 และ4 ดังนี้

ตารางที่ 3 : แสดงการแบ่ง grade of recommendation ตาม level of evidence [37]

Level of Evidence	Grade of Recommendation
Level I: Large randomized trials with clear-cut results (and low risk of error)	A
Level II: Small randomized trials with uncertain results (and moderate to high risk of error)	B
Level III: Nonrandomized, contemporaneous controls Level IV: Nonrandomized, historical controls Level V: No controls, case-series only	C

ตารางที่ 4 : ข้อบ่งชี้ในการรักษาเชื้อ *Helicobacter pylori* ตาม Asia Pacific Consensus[38]

Indications for *Helicobacter pylori* eradication therapy	**Grade of Recommendation**
Peptic ulcer disease (whether active or not)	A
Bleeding or perforated peptic ulcer (whether present or past)	A
Low grade gastric MALT lymphoma	C
Following resection of early gastric cancer	C
Functional dyspepsia, after full investigation	C
Family history of gastric cancer	C
Long-term NSAIDs therapy who have current or recent history of dyspepsia, after full investigation	C
The patient's wishes, after appropriate consultation	C

ยาที่ใช้ในการรักษา

ในปัจจุบันยังไม่มีข้อสรุปว่ายาสูตรใดใช้รักษาเชื้อ *Helicobacter pylori* ได้ดีที่สุด ทั้งนี้ปัจจัยสำคัญขึ้นอยู่กับการดื้อยาของเชื้อในสถานที่ต่าง ๆ สูตรยาที่ได้ผลดีควรได้ผลมากกว่าร้อยละ 90 ของผู้ป่วยที่ได้รับยาจนครบ (per protocol analysis) หรือมากกว่า ร้อยละ 80 ของผู้ป่วยที่ได้รับยาทั้งหมด (intention-to-treat analysis)

สูตรยาที่ประกอบด้วยยาสามตัว (triple therapy) ปัจจุบันได้รับการยอมรับกันทั่วไปได้แก่

1. บิสมัธ (Bismuth) ร่วมกับ เมโทรนิดาโซล (Metronidazole) และ เตตราไซคลิน (Tetracyclin)
2. ยาต้านโปรตอนปั๊ม (Proton pump inhibitor, PPI) 1ตัวร่วมกับยาปฏิชีวนะ 2ตัว

สำหรับสูตรยาตาม recommendation ของ Asia Pacific consensus มีดังนี้คือ

ถ้ามี Clarithromycin

i. PPI in standard dose + clarithromycin 500 mg + amoxicillin 1000 mg, each given twice daily;

ii. PPI in standard dose + clarithromycin 500 mg + metronidazole 400 mg, each given twice daily;

iii. Ranitidine bismuth citrate (RBC) 400 mg + clarithromycin 500 mg + amoxicillin 1000 mg, each given twice daily;

iv. RBC 400 mg + clarithromycin 500 mg + metronidazole 400 mg, each given twice daily

ทุกสูตรให้นาน 1 สัปดาห์

ถ้ามีอัตราการดื้อต่อ metronidazole มากกว่า ร้อยละ 30 ให้ใช้สูตรที่มี amoxicillin แทน

ถ้าไม่มี clarithromycin

i. PPI in standard dose + amoxicillin 1000 mg + metronidazole 400 mg, each given twice daily for 7 days

ii. Colloidal bismuth subcitrate 120 mg four times daily + metronidazole 400 mg twice daily + tetracyclin 500 mg four times daily for 14 days

ถ้าไม่สามารถกำจัดเชื้อได้จาก PPI- or RBC based clarithromycin and amoxicillin combination ให้รักษาด้วยสูตรเดิมอีกครั้ง

ถ้าไม่สามารถกำจัดเชื้อได้จากสูตรที่มี metronidazole ให้รักษาด้วยสูตรที่มี amoxicillin แทน metronidazole

ถ้าไม่สามารถกำจัดได้อีก ให้รักษาด้วย

PPI in standard dose twice daily + colloidal bismuth subcitrate 120 mg four times daily + metronidazole 400 mg twice daily + tetracyclin 500 mg four times daily for 7 days

แต่อย่างไรก็ตามยังไม่มีสูตรยาใดที่เป็นมาตรฐานเมื่อมี initial treatment failure