บทที่ 2

ทบทวนวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง

เฮลิโคแบคเตอร์ ไพโลไร
(*Helicobacter pylori*)

ประวัติความเป็นมา

ปี พ.ศ. 2436 Dooley พบแบคทีเรียรูปเกลียวในกระเพาะอาหารของสุนัขเป็นครั้งแรก[46]

ปี พ.ศ. 2526 Marshall และ Warren เพาะเชื้อนี้ได้และตั้งชื่อว่า Campylobacter-like organism (CLO) และเปลี่ยนเป็น *Campylobacter pyloridis*, *Campylobacter pylori* และเป็น *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) ตามลำดับ เนื่องจากคุณสมบัติต่างจากเชื้อใน genus Campylobacter[1]

นอกจากนี้ยังมีชนิดอื่นๆซึ่งใช้เป็น animal model คือ *H. felis* ในแมว, *H. mustelae* ใน ferret, *H. heilmannii*, *H. cinadei*, *H. fennelliae*

H. pylori เป็นแบคทีเรียติดแกรมสีแดงรูปเกลียว ชอบภาวะที่มีออกซิเจนน้อย ขนาด 0.5 x 3 ไมโครเมตร เคลื่อนไหวได้ด้วยแฟลกเจลล่าที่มี 4-6 อัน อยู่เป็นหย่อมๆในกระเพาะอาหาร ใต้ชั้นเยื่อเมือกที่ติดกับ epithelium โดยเฉพาะที่ antrum, pylorus อาจเพราะมีสภาพที่เหมาะสมคือ ภาวะกรดด่างที่เป็นกลาง, ออกซิเจนน้อย นอกจากนั้นยังพบประปรายใน heterotopic gastric mucosa ที่หลอดอาหาร (เกือบร้อยละ 50 ใน Barrett และน้อยมากใน non-Barrett), duodenum, Meckel's diverticulum และ rectum หรือกล่าวโดยสรุปว่าพบเฉพาะที่ที่มี gastric mucosa หรือ gastric metaplasia ไม่ว่าที่ใดก็ตาม

ระบาดวิทยา

ประชากรโลกกว่าร้อยละ 50 พบมีการติดเชื้อนี้ จึงถือว่าเป็นเชื้อแบคทีเรียที่มีการติดเชื้อมากที่สุดในโลก กระจายมากน้อยแตกต่างกันตามแต่ละพื้นที่ ในประเทศที่กำลังพัฒนาพบมากกว่าประเทศที่พัฒนาแล้ว แม้ในประเทศเดียวกันก็พบมีความชุกแตกต่างกัน ปัจจัยเสี่ยงที่สำคัญคือสถานะภาพทางเศรษฐกิจและอายุ โดยพบมากในกลุ่มประชากรที่มีสถานะภาพทางเศรษฐกิจต่ำและพบเพิ่มขึ้นตามอายุ ประเทศที่กำลังพัฒนามักได้รับเชื้อตั้งแต่ในวัยเด็ก (rapid acquisition in childhood) โดยดูจากความชุกที่เพิ่มขึ้นเร็วในวัยเด็กและเพิ่มขึ้นตามอายุ ขณะที่ประเทศที่พัฒนาแล้วมีความชุกต่ำในวัยเด็กแต่ก็เพิ่มขึ้นตามอายุเช่นกันโดยจะเริ่มที่ช่วงอายุ 40-60 ปีหรือประมาณ 50 ปี[47-48] (บางรายงานพบว่าไม่เพิ่มขึ้นหลังอายุ 50 ปีอาจเพราะเกิด gastric atrophy ซึ่งไม่เหมาะต่อการเจริญของเชื้อ) ส่วนปัจจัยอื่นๆ เช่น ความหนาแน่นของประชากร, การใช้น้ำที่มีการปนเปื้อน, การใช้เตียงนอนร่วมกัน ต่างก็มีสถานะภาพทางเศรษฐกิจต่ำเป็นปัจจัยร่วม (common denominator) จึงยากที่จะกล่าวว่าเป็นปัจจัยเสี่ยงที่แท้จริง

การติดต่อ

ที่ทราบแน่ชัดมีเพียง direct oral inoculation เท่านั้น คือ endoscope และ volunteer ingestion แต่ที่พบมากกว่าร้อยละ 50 ของประชากรโลก รวมทั้งรูปแบบทางภูมิศาสตร์และสังคมที่แตกต่างกัน จึงน่าจะมีการติดต่อทาง fecal-oral, oral-oral หรือ gastro-oral (จาก *H. pylori*-containing gastric mucus ใน vomitus) แม้มีข้อมูลทางระบาดวิทยาสนับสนุนแต่ปัจจุบันก็ยังไม่อาจสรุปได้ว่าเป็นทางติดต่อจริง

แหล่งเพาะเชื้อที่ติดต่อได้มีเพียง infected human ส่วนสัตว์อื่นๆที่พบเชื้อนี้ได้คือแมวและลิงบางชนิดแต่ไม่สามารถติดต่อมาสู่คนได้ หรือนั่นคือ *H. pylori* ไม่มีแหล่งเพาะเชื้อในธรรมชาติหรือในสัตว์ (natural or animal reservoir)

ความสำคัญทางคลินิก

H. pylori สัมพันธ์กับการเกิดโรคต่างๆในระบบทางเดินอาหารมากมาย โดยมีบทบาทในพยาธิกำเนิดของ duodenal ulcer (DU) (พบ *H. pylori* ร้อยละ 90-95[2-5]), gastric ulcer (GU) (พบ *H. pylori* ร้อยละ70-80[2-5]), chronic gastritis (superficial and chronic active gastritis (type B) พบ *H. pylori* เกือบร้อยละ 100[49-51]), gastric cancer (พบ *H. pylori*

ร้อยละ 60-70 ซึ่งจัดเป็น class I carcinogen), MALT lymphoma (ใน primary low- graded B cell gastric MALT lymphoma พบ *H. pylori* ร้อยละ 92-97[52])

นอกจากนี้ยังอาจสัมพันธ์กับ non-ulcer dyspepsia (NUD) โดยพบว่ามีผลต่อ motor derangement, gastric emptying abnormality[53] แต่มีข้อโต้แย้งเพราะพบ *H. pylori* ร้อยละ 60 ใกล้เคียงกับที่พบในประชากรทั่วไป และ NUD มี chronic gastritis ร่วมด้วย ร้อยละ 30-70[20] และไม่มีความสัมพันธ์ระหว่าง chronic gastritis กับอาการ NUD นอกจากนั้นเมื่อรักษา *H. pylori* แล้ว gastritis มีการเปลี่ยนแปลงดีขึ้นแต่อาการ NUD ส่วนใหญ่ไม่ดีขึ้น[31]

พยาธิกำเนิด

หลังจากได้รับเชื้อนี้ ในช่วงแรกจะมี acute inflammatory response (PMN infiltration) ต่อมาบางคนจะมี chronic inflammatory change ตามมา มี lymphocyte มากขึ้น เมื่อตรวจทาง serology พบว่ามี IgM เพิ่มขึ้นในช่วงแรกตามมาด้วย IgG, IgA การเกิดโรคขึ้นอยู่กับ bacterial pathologic determinant, host susceptibility, environmental factor และ อายุที่เริ่มติดเชื้อ

1. <u>Bacterial pathologic determinant</u>

- cagA: cytotoxin-associated gene A

ร้อยละ 70 ของ *H. pylori* มี cagA gene ซึ่งเป็นส่วนหนึ่งของ 30 kb island บน genome สร้าง 120-140 kDa protein ที่ยังไม่ทราบบทบาทแน่ชัด แต่สำคัญที่เป็น marker ของ gene อื่นๆที่อยู่บน pathogenicity island เดียวกันซึ่งกระตุ้นให้เกิด epithelial neutrophil infiltration เช่น picA (permits induction of cytokines A), picB (เดิมคือ cagC) โดยกระตุ้นผ่าน interleukin 8 (IL8)

- vacA: vacuolating cytotoxin A

แม้ว่ามีเพียงร้อยละ 40 ของ *H. pylori* strain ที่เป็น cytotoxic พบว่าทั้งหมดนี้มี vacA gene ซึ่งสร้าง vacuolating cytotoxin vacA allele มี mosaicism ใน 2 region คือ <u>signal sequence</u> (ประกอบด้วย s1a, s1b, s2) ซึ่งพบว่าเป็นตัวทำนายที่ดีที่สุดของ ulcerogenic potential และ <u>mid region</u> (ประกอบด้วย m1, m2) โดย in vitro cytotoxin activity พบว่า s1a > s1b > s2 และ m1 > m2

มีการแบ่งตาม phenotype เป็น 2 type คือ

type I มี cagA และ vacA expression

type II ไม่มี cagA และ vacA expression

พบว่าใน type I จะมีความเสี่ยงต่อ atrophic gastritis และ intestinal metaplasia สูงขึ้น 6 เท่าและ risk gastric cancer สูงขึ้น 3-6 เท่า สัมพันธ์ทั้งชนิด intestinal และ diffuse (แต่มีบางรายงานคัดค้านในชนิด diffuse) เชื่อว่าเป็นผลตามมาจาก superficial and chronic

active gastritis ที่เปลี่ยนไปเป็น chronic atrophic gastritis เกิด fertile field ที่มี epithelial cell proliferation และเกิด carcinogenesis ในที่สุดในเวลา 15-20 ปีต่อมา[12]

- iceA: induced by contact with epithelial gene A

พบใน type I จะ express ออกมาหลังจากมี adhesion ของ *H. pylori* กับ gastric epithelial cell พบสัมพันธ์กับ PUD โดยผ่านทาง cytokine

- ความสามารถในการกระตุ้น neutrophil โดยตรง

ทั้งหมดนี้มีผลให้เกิดการอักเสบ มีการทำลาย mucosa ตามมาด้วย GU และยังมีผลยับยั้ง inhibitory mechanism จาก antrum ไป gastrin cell และ parietal cell ทำให้มีการหลั่ง gastrin เพิ่มขึ้นและเสียการยับยั้งการหลั่งกรด เกิด duodenal acid load และ DU ตามมา[54] เมื่อรักษาเชื้อนี้แล้วลดอัตราการเกิดแผลซ้ำได้จาก ร้อยละ 70-90 เป็น ร้อยละ 0-25 ที่ 1 ปี[14-17] และลดการเกิดเลือดออกซ้ำได้เมื่อมีแผลเกิดขึ้นใหม่[18-20]

2. Host susceptibility ในหนู พบว่า genotype เป็น determinant ในการเกิด PUD หลังติดเชื้อ แต่ยังไม่มีหลักฐานเช่นนี้ในคน

3. Environmental factor โดยเฉพาะการสูบบุหรี่พบว่ามีส่วนร่วมในการเกิด PUD ในผู้ที่มี *H. pylori*

4. อายุที่เริ่มติดเชื้อ โดยเฉพาะวัยเด็กจะมีอัตราเสี่ยงสูงต่อการเกิด gastric cancer แต่ไม่มีผลต่อการเกิด PUD

นอกจากนี้แล้ว ยังมีกลไกอื่นๆอีก คือ

1. การลดลงของ vitamin C ใน gastric juice

ซึ่งไม่สามารถแก้ไขได้ด้วยการรับประทาน vitamin C ถ้ายังไม่สามารถกำจัด *H. pylori* ได้ ซึ่งเป็นไปได้มากว่า scavenger function ในการกำจัด reactive oxygen product ย่อมเสียไปและไม่มีการยับยั้งการสร้าง nitroso compound

2. Epithelial turnover และ apoptosis (programmed cell death)

พบว่าเมื่อมีการติดเชื้อ *H. pylori* จะมี apoptosis เพิ่มขึ้นจากร้อยละ 2.9 เป็นร้อยละ 16.8 และลดลงเป็นร้อยละ 3.1 เมื่อกำจัด *H. pylori* ได้แล้ว ซึ่งอาจเกิดจาก

- overexpression ของ oncogene bcl2 และ bcl2 family member เช่น bclx
- Nitric oxide synthase expression ซึ่งพบว่ากระตุ้นให้เกิด apoptosis ใน gastric epithelial cell ของกระต่าย
- ammonia กระตุ้นให้เกิด apoptosis โดยผ่านการสร้าง monochloramine
- cytokine เช่น TNF-alpha, IFN-gamma

แต่พบว่าไม่เกี่ยวข้องกับ p53 ซึ่งเป็น tumor suppressor gene

3. Gastric acid suppression ด้วย proton pump inhibitor (PPI)

กระตุ้นให้เกิด gastric atrophy เร็วขึ้นและมากขึ้นมากในพวกที่มี *H. pylori* (annual rate ร้อยละ 0.8 ในกลุ่มที่มี *H. pylori* และ ร้อยละ 6.1 ในกลุ่มที่ไม่มี *H. pylori*) ดังนั้นจึงมีผู้แนะนำให้รีบรักษา *H. pylori* (ถ้ามี) ในพวกที่ต้องได้ long-term strong acid suppression

ส่วนกลไกการเกิด gastric atrophy ยังไม่ทราบแน่ชัด อาจเป็นไปได้ว่า lipopolysaccharide ของ *H. pylori* มี Lewis y และ x blood structure ซึ่ง beta chain ของ gastric H^+-K^+ ATPase ก็มี Lewis y epitope ฉะนั้น anti-Lewis y และ x จึงอาจไปจับที่ proton pump ทำให้เกิด parietal cell inactivation, gastric inflammation และเกิด atrophy ในที่สุด

ใน mucosa associated lymphoid tissue (MALT) lymphoma MALT พบมากมายในทางเดินอาหาร โดยเฉพาะที่ Peyer's patch แต่โดยทั่วไปจะไม่มีในกระเพาะอาหาร ยกเว้นเด็กหรือ young adult กลไกการเกิดจริงๆยังไม่ทราบแต่เชื่อว่าอาจเป็นจาก chronic antigenic stimulation เมื่อมี chronic *H. pylori* infection โดยกระตุ้นให้เกิด B-cell hyperplasia ซึ่ง infiltrate epithelium ด้วย small cleaved หรือ centrocyte-like cell (lymphoepithelial lesion) และเกิด autonomous proliferation ในที่สุด มีการศึกษาในหลอดทดลอง พบว่า low-grade primary B-cell gastric MALT lymphoma มี proliferative response เมื่อมี non-neoplastic T lymphocyte และเมื่อนำ cell เหล่านี้ออกไป พบว่า response นี้หายไปด้วย ดังนั้น T lymphocyte น่าจะมีส่วนสำคัญ นอกจากนี้ยังพบว่าอาจเกี่ยวข้องกับ gene คือ DCC และ APC locus เมื่อกำจัดเชื้อนี้แล้ว lymphoma มี regression ได้ร้อยละ 74-90 แต่มีเพียง ร้อยละ 45 เท่านั้นที่มี monoclonality disappearance และมีการเกิดซ้ำของ lymphoma เมื่อมีการติดเชื้อซ้ำ ข้อสรุปยังคงต้องรอการศึกษาติดตามระยะยาวต่อไป

การวินิจฉัย

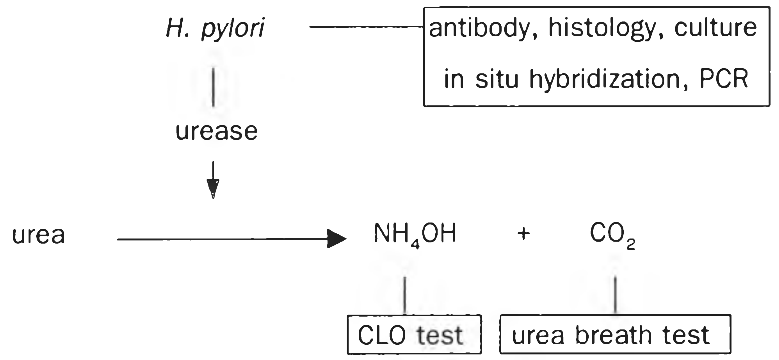
จากที่ทราบว่า *H. pylori* เป็นตัวสร้าง gastric urease มากที่สุด ซึ่งสามารถ hydrolyse urea แล้วทำให้เกิด ammonium hydroxide (NH_4OH) และ CO_2 ได้ ดังภาพที่ 1 และ 2

<u>**ภาพที่ 1**</u> แสดงหลักการตรวจหา *H. pylori* โดยอาศัย

การพบเชื้อ: การตรวจทางพยาธิ (histology), การเพาะเชื้อ (culture), in situ hybridization, PCR

การสร้าง urease ของ *H. pylori*: rapid urease test

การตอบสนองทางภูมิต้านทาน: antibody



<u>**ภาพที่ 2**</u> แสดงสมการการ hydrolyse urea ของ *H. pylori*

$$(NH_2)_2CO + H_2O \xrightarrow{urease} NH_3 + NH_2COOH$$

$$NH_2COOH + H_2O \longrightarrow NH_3 + H_2CO_3$$

$$NH_3 + H_2CO_3 \longrightarrow NH_4OH + CO_2$$

อุณหภูมิ 30-40 °ซ จะช่วยเร่งปฏิกิริยานี้

วิธีการตรวจมีทั้ง noninvasive และ invasive test ซึ่ง องค์การอาหารและยาสหรัฐอเมริกา (the US Food and Drug Administration: the US FDA) ยอมรับ สองวิธีนี้ต่างกันที่ invasive test จำเป็นต้องทำการส่องกล้องตรวจทางเดินอาหารส่วนบนและตัดชิ้นเนื้อกระเพาะอาหารมาตรวจหาเชื้อด้วยวิธีต่างๆต่อไป โดยอาศัยหลักการคือ

1. **การพบตัวเชื้อ** เช่น

   การสเมียร์ย้อม (smear)หรือการตรวจทางพยาธิ (histology)

   การเพาะเชื้อ (culture)

   in situ hybridization

polymerase chain reaction (PCR)

2. **การพบสารที่เชื้อสร้างขึ้น**

rapid urease test (CLO test, Delta West, Australia)

^{13}C หรือ ^{14}C urea breath test (UBT)

3. **การตอบสนองทางภูมิคุ้มกัน**

H. pylori antibody

I. Noninvasive test

1. *H. pylori* antibody

highly antigenic molecule คือ urease, adhesion molecule และ lipopolysaccharide[55] กระตุ้นให้เกิด Ab ทั้ง IgM, IgG, IgA ตรวจพบได้ด้วยวิธี ELISA หรือ Western blot นิยมตรวจ IgG มากกว่า IgA แต่มี cross reaction กับ *H. heilmannii* ได้ ซึ่งรูปร่างทางพยาธิที่เป็น corkscrew-shaped และคุณสมบัติทางการเพาะแยกเชื้อต่างกับ *H. pylori*[13] นอกจากนี้ยังมี commercial kit ซึ่งดีในการศึกษาทาง seroepidemiology และ office-based test แต่ความไวและความจำเพาะจะลดลง เป็นร้อยละ 63-97 และ 68-92 ตามลำดับ[8-11] จึงจำเป็นต้อง locally validated ด้วยวิธีการตรวจอื่นๆอย่างน้อย 2 วิธี

2. Urea breath test (UBT)

เป็นวิธีการตรวจโดยให้ผู้ป่วยรับประทาน ^{13}C หรือ ^{14}C -urea จากนั้น urease ของ *H. pylori* จะย่อย urea แล้วทำให้เกิด $^{13}CO_2$ หรือ $^{14}CO_2$ ซึ่งถูกดูดซึมเข้ากระแสโลหิตแล้วขับออกทางลมหายใจ จากนั้นตรวจ $^{13}CO_2$ หรือ $^{14}CO_2$ ทางลมหายใจ โดย ^{13}C เป็น natural, non-radioactive ตรวจวัดด้วย gas chromatograph isotope ratio mass spectrography ส่วน ^{14}C เป็น radioactive ปล่อย beta-ray ตรวจวัดด้วย scintillation counter ^{14}C UBT แม้จะมี radioactive ray ก็ยังนิยมใช้เนื่องจากราคาถูกกว่า ^{13}C UBT และ radioactive dose ต่ำเพียง 37 kBq[56] ผลบวกปลอมพบน้อยมากจาก mouth urease แก้ไขโดยแปรงฟันก่อนตรวจ, *H. heilmannii* ผลลบปลอมพบได้ถ้าได้ ยาปฏิชีวนะ, ยาต้านปั๊มโปรตอน หรือบิสมัท มาก่อนภายใน 4 สัปดาห์[57], rapid gastric emptying และ previous gastric resection

II. Invasive test

ตรวจชิ้นเนื้อกระเพาะอาหารที่ตัดจากการส่องกล้องตรวจทางเดินอาหารส่วนบน (upper endoscope หรือ oesophagogastroduodenoscope: OGD) หรือจากการผ่าตัด ซึ่งควรได้ 5-7 ชิ้นขึ้นไป เนื่องจาก *H. pylori* อยู่กระจายเป็นหย่อมๆ ตามตารางที่ 1

<u>ตารางที่ 1</u> แสดงจำนวนชิ้นเนื้อที่ควรได้เพื่อตรวจหา *H. pylori*

จำนวน	ส่งตรวจ	ตำแหน่งในการตัดชิ้นเนื้อ
Essential		
1	rapid urease	antrum ทาง greater curvature
2	histology	antrum ทาง anterior wall
3	histology	antrum ทาง posterior wall
4	histology	mid-body ทาง anterior wall
5	histology	mid-body ทาง posterior wall
Optional		
6	culture	antrum
7	culture	body
8	phase contrast	antrum
9 and 10	PCR	antrum

ในทางปฏิบัติอาจทำเพียง 2 ชิ้นคือ anterior และ posterior wall ของ antrum ห่างจากรูเปิด pylorus 1-2 ซม. ซึ่งเพิ่มความไวมากกว่า 1 ชิ้น จากร้อยละ 90 เป็นร้อยละ 93.3[58]

1. Rapid urease test (CLO test^{R} , hpfast^{R} , PyloriTek II^{R})

CLO test ย่อจาก Campylobacter-like organism test เป็น commercial kit ที่มีลักษณะเป็นวุ้นสีเหลือง ประกอบด้วย urea ทำหน้าที่เป็น substrate และ phenol red ทำหน้าที่เป็น indicator ซึ่งปกติมีสีเหลือง จะเปลี่ยนเป็นสีแดงเมื่อมีภาวะเป็นด่าง ใช้ตรวจหา *H. pylori* โดยใส่ชิ้นเนื้อกระเพาะอาหารที่ antrum 1 ชิ้นและ body 1 ชิ้นรวมกันลงใน kit อาศัยคุณสมบัติของ *H. pylori* ที่มี urease ซึ่งสามารถย่อย urea แล้วทำให้เกิด ammonium hydroxide ที่มีฤทธิ์เป็นด่างเปลี่ยนสีของ phenol red ที่ทำหน้าที่เป็น indicator จากสีเหลืองเป็นสีแดง และเมื่อใส่ชิ้นเนื้อแล้วควรเก็บไว้ที่ 30-40 °ซ จะช่วยเพิ่มความไวและผลบวกมากขึ้นตามเวลาดังตารางที่ 2

<u>ตารางที่ 2</u> แสดงร้อยละผล CLO test บวก ที่เวลาต่างๆกัน

20 นาที	1 ชั่วโมง	2 ชั่วโมง	24 ชั่วโมง
ร้อยละ 75	ร้อยละ 85	ร้อยละ 90	ร้อยละ 95

ผลบวกปลอมพบได้ร้อยละ 10 ใน Campylobacter-like organism อื่นๆเช่น *H. heilmannii*, *C. jejuni* หรือ bacterial overgrowth จาก *Klebsiella spp.*, *Proteus spp.*[13] ผลลบปลอมพบได้ถ้าได้ ยาปฏิชีวนะ, ยาต้านปั๊มโปรตอน หรือบิสมัท มาก่อนภายใน 4 สัปดาห์

2. การตรวจทางพยาธิ (Histology)

จากสเมียร์และชิ้นเนื้อโดยดูสดจาก phase contrast microscope หรือย้อมแกรม, hematoxylin and eosin (H&E), modified Giemsa, Warthin-Starry silver, periodic acid-Schiff (PAS), cresyl fast violet, Gomori-aldehyde fuchsin-alcian blue, Giemenez, Brown-Hopps, carbol-fuchsin หรือ Genta จะพบเชื้อมีลักษณะเป็นรูปเกลียว (spiral shape) โดยทั่วไป H&E ได้ผลในการตรวจหาพอควร แต่ถ้าไม่พบควรตรวจด้วย specialized strain ต่อไป คือ modified Giemsa, Genta และ Warthin-Starry silver[59] เพราะมีความไวและความจำเพาะสูง modified Giemsa จะนิยมมากกว่า Genta และ Warthin-Starry silver เพราะ สะดวกในทางปฏิบัติ และราคาถูกกว่า ขณะที่ความไวในการพบเชื้อมากกว่าหรือเท่ากับ[6-7] อาจพบ *H. heilmannii* (พบเพียงร้อยละ 0.5)[13], *H. cinadei*, *H. fennelliae*, *Flexispira rappni*, *Gastrospirillum hominis* ซึ่งมีรูปร่างคล้ายกันหรือบางครั้งพบว่า *H. pylori* มี coccoid form อาจเข้าใจผิดเป็นการปนเปื้อนซึ่งทั้ง 2 กรณีต้องใช้การดูด้วย phase contrast microscope, immunocytochemistry หรือ transmission electron microscope ในการแยก ซึ่ง coccoid form นี้ไม่ทราบถึงความสำคัญแน่ชัด มีข้อโต้แย้งว่าอาจเป็น resistant form, form หนึ่งในวงจรชีวิต หรือ degenerate form เนื่องจากพบว่ามักไม่สามารถอยู่รอดต่อไปได้

3. การเพาะเชื้อ (Culture)

ภาวะที่เหมาะสมคือ อุ่น (37 °ซ), ชื้น (>/= ร้อยละ 95) และออกซิเจนน้อย (O_2 ร้อยละ 5-6 , CO_2 ร้อยละ 8-10 , N_2 ร้อยละ 80-85) และสำคัญในการขนส่งเนื่องจากอยู่รอดได้ในน้ำเกลือนอร์มัลเพียง 6 ชม. แต่ถ้าใส่ใน Stuart's transport media (STM) จะอยู่รอดได้ 6 ชม. ที่ >/= 15 °ซ และ 48 ชม. ที่ 4 °ซ เพาะเชื้อนาน 7 วัน (แต่ถ้าหลังรักษาควรนานขึ้นเป็น 10-14 วัน) เมื่อเชื้อขึ้นแล้วต้องแยกเชื้อต่อด้วยลักษณะเฉพาะทางชีวเคมีที่มี urease, catalase และ oxidase นอกจากนี้ยังบอกความไว (sensitivity) ต่อยาปฏิชีวนะได้ด้วย ซึ่งควรมี regional specialist center ติดตามการดื้อยาปฏิชีวนะของ *H. pylori* นี้[30]

นอกจากนี้ มีวิธีอื่นๆอีก เช่น in situ hybridization, polymerase chain reaction (PCR) วิธีนี้ต้องใช้เครื่องมือพิเศษและผู้ตรวจที่มีความชำนาญสูง จึงใช้ในงานวิจัยเท่านั้น

ทุกวิธีใช้ได้ทั้งในการวินิจฉัยและติดตามหลังการรักษา ยกเว้น *H. pylori* antibody ใช้ติดตามหลังการรักษาไม่ดี เนื่องจากระดับ IgG ยังสูงไปอีกนานอย่างน้อย 12 เดือน ตามตารางที่ 3

ตารางที่ 3 แสดงร้อยละการลดลงของ *H. pylori* antibody หลังการรักษาที่ 3, 6, 12 เดือน

เวลาหลังรักษา	3 เดือน	6 เดือน	12 เดือน
Antibody ลดลง	ร้อยละ 26	ร้อยละ 43	ร้อยละ 55

มีรายงานว่าสามารถใช้ *H. pylori* antibody ในการติดตามว่ารักษาหายได้ ถ้า titer ลดลงมากกว่าร้อยละ 50 แต่ก็ต้องใช้เวลามากกว่า 6 เดือน[60-61]
ส่วนความไวและความจำเพาะของแต่ละวิธีค่อนข้างจะใกล้เคียงกันดังแสดงตามตารางที่ 4[62]

ตารางที่ 4 แสดงความไวและความจำเพาะของวิธีการตรวจหา *H. pylori*

วิธีการตรวจ	ความไว (ร้อยละ)	ความจำเพาะ (ร้อยละ)
Urea breath	90-95	90-95
H. pylori antibody	90-95	90-95
Rapid urease	90-98	90-98
การตรวจทางพยาธิ	70-90	90-98
การเพาะเชื้อ	90-95	100

วิธีการตรวจหาเชื้อในการติดตามการรักษา ยังไม่มีวิธีใดเป็น gold standard urea breath test น่าจะดีกว่าวิธีอื่นเพราะไม่จำเป็นต้องส่องกล้องตรวจทางเดินอาหาร (ถ้าไม่มีข้อบ่งชี้อื่น) และไม่มีปัญหาใน sampling error เหมือนวิธีอื่นที่จำเป็นต้องใช้ชิ้นเนื้อกระเพาะอาหารในการตรวจ

สำหรับประเทศไทย เนื่องจาก noninvasive test มีข้อจำกัดคือ *H. pylori* antibody ความไวและความจำเพาะจะลดลง จากร้อยละ 90-95 และ 90-95 เป็นร้อยละ 63-97 และ 68-92 ตามลำดับ[8-11] ถ้าใช้ commercial kit จึงจำเป็นต้อง locally validated และไม่สามารถใช้ติดตามการรักษาได้ดี ส่วน urea breath test จำเป็นต้องอาศัยเครื่องมือตรวจที่มีราคาแพงและยังไม่มีในประเทศไทยในขณะนี้ ดังนั้นในการตรวจหาจึงนิยมใช้ invasive test มากกว่า และเป็นที่ยอมรับในการวิจัยว่าการวินิจฉัยควรใช้ 2 วิธีการตรวจขึ้นไป หรือการเพาะเชื้อขึ้น แต่ในทางปฏิบัติรักษาทั่วไป อาจไม่คุ้มในแง่ cost-effectiveness ดังนั้นAsia Pacific Consensus

จึงแนะนำให้วินิจฉัยโดยใช้ CLO test เป็น first choice และใช้การตรวจทางพยาธิกรณีที่ CLO test ได้ผลลบ ส่วนการเพาะเชื้อไม่ควรใช้ตรวจในผู้ป่วยทุกราย เนื่องจากเชื้อนี้เพาะขึ้นได้ยาก ต้องใช้เทคนิคที่ดี ใช้เวลานาน และราคาแพง จึงแนะนำให้ส่งตรวจกรณีที่ให้การรักษาแล้ว 2 ครั้งไม่ได้ผล[30]

การรักษา

เนื่องจากมีการศึกษาพบว่าเชื้อนี้สัมพันธ์กับการเกิดโรคต่างๆมากมาย รวมทั้งประโยชน์จากการรักษา ทั้งที่มี randomized controlled trials เพียงพอและ ไม่มี randomized controlled trials จึงเกิด consensus ออกมามากมายแตกต่างกันในแต่ละพื้นที่ของโลก เพื่อเป็น guideline ในการรักษาในแต่ละพื้นที่นั้นๆ[27-30]

สำหรับประเทศไทย ควรอ้างอิงตาม Asia Pacific Consensus ซึ่งแนะนำให้เลือกรักษาในผู้ป่วยต่างๆ และแบ่ง grade of recommendation เป็น grade A, B, C โดยใช้ level of evidence ตาม grading scale of Sackett[63] ตามตารางที่ 5

ตารางที่ 5 แสดงการแบ่ง grade of recommendation ตาม level of evidence

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

ข้อบ่งชี้ในการรักษา

ตารางที่ 6 แสดงข้อบ่งชี้ในการรักษา *H. pylori* ตาม grade of recommendation ของ Asia Pacific consensus[30]

Indications for *H. 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 NSAID therapy who have current or recent history of dyspepsia, after full investigation	C
The patient's wishes, after appropriate consultation	C

ส่วนผู้ป่วย gastroesophageal reflux disease (GERD) ที่ได้ long-term proton pump inhibitor ยังไม่แนะนำให้รักษา

ข้อบ่งชี้ดังกล่าวมีรายละเอียดปลีกย่อยที่แตกต่างจาก recommendation ของ Maastricht consensus ในยุโรป ซึ่งแบ่ง strength of recommendation เป็น strongly recommended, advisable, uncertain ตาม strength of supporting evidence ซึ่งแบ่งเป็น unequivocal, equivocal, supportive ตามตารางที่ 7

ตารางที่ 7 แสดงข้อบ่งชี้ในการรักษา *H. pylori* ตาม strength of recommendation ของ Masstricht consensus[29]

Indications for *H. pylori* eradication therapy	Strength of recommendation
Strongly recommended	
Peptic ulcer disease (whether active or not)	Unequivocal
Bleeding peptic ulcer	Unequivocal
Low grade gastric MALT lymphoma	Unequivocal
Gartritis with severe abnormalities	Supportive
Following resection of early gastric cancer	Supportive
Advisable	
Functional dyspepsia, after full investigation	Equivocal
Family history of gastric cancer	Equivocal
Long term treatment with proton pump inhibitors for GORD	Supportive
Planned or existing NSAID therapy	Equivocal
Following gastric surgery for peptic ulcer	Supportive
The patient's wishes	Equivocal
Uncertain	
Prevention of gastric cancer in the absence of risk factors	Equivocal
Asymptomatic subjects	Equivocal
Extra-alimentary tract disease	Equivocal

สูตรยาที่ใช้รักษา

สูตรยารวมเท่านั้นที่ได้ผลดี ต้องได้ผลมากกว่าร้อยละ 90 ตาม per protocol analysis และมากกว่าร้อยละ 80 ตาม intention-to-treat analysis สูตรยาที่ทั่วโลกยอมรับโดย recommendation ของ องค์การอาหารและยาสหรัฐอเมริกา (the US Food and Drug Administration: the US FDA), the US National Institutes of Health (NIH)[27], American Digestive Health Foundation (ADHF)[28] , Maastricht consensus ในยุโรป[29], Asia Pacific Consensus[30] คือ สูตรยาสามตัว (triple therapy)

สูตรยาสามตัว

- บิสมัธ + เมโทรนิดาโซล + เตตร้าซัยคลิน
- ยาต้านปั๊มโปรตอน 1 ตัว + ยาปฏิชีวนะ 2 ตัว

หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

นาน 1 ถึง 2 สัปดาห์แล้วแต่สูตรยา โดยแต่ละสูตรยาให้ผลแตกต่างกัน

บิสมัธ มีผลยับยั้ง urease activity และเกาะติดตัวเชื้อทำให้หลุดออกจาก gastric epithelium ยาต้านปั๊มโปรตอน ช่วยเพิ่มคุณสมบัติการกำจัดเชื้อของยาปฏิชีวนะ, เพิ่มความคงตัวของยาปฏิชีวนะ, direct anti *H. pylori* activity, autotoxicity ของ *H. pylori* ที่ภาวะกรดด่างที่เป็นกลาง, overgrowth ของแบคทีเรีย bacteria อื่นๆ[32]

นอกจากนี้ FDA ยังยอมรับ **สูตรยาสองตัว** ซึ่งมีอัตราการกำจัดเชื้อ ร้อยละ 70 (แต่ไม่เป็นที่ยอมรับทั่วโลกตาม intension-to-treat basis) คือ

- โอมิพราโซล + คลาริโธรมัยซิน
- รานิทิดีน-บิสมัท (RBC หรือ Tritec) + คลาริโธรมัยซิน

(โอมิพราโซล + เมโทรนิดาโซล หรือ โอมิพราโซล + อะม๊อกซิซิลลิน ได้ผลเพียงร้อยละ 50)

มีการทดลองใช้ urease inhibitor คือ acetohydroxamic acid แต่ผลในการกำจัดเชื้อไม่ดีและมีภาวะเป็นพิษสูง

เมื่อกำจัดเชื้อได้แล้วสามารถลดการเกิดแผลซ้ำ, ลดการเกิดเลือดออกซ้ำเมื่อมีแผลเกิดซ้ำใหม่, cost-effectiveness ดีกว่าสูตรยามาตราฐานเดิมที่ให้เพียง antisecretory agents ซึ่งมักต้องให้ การรักษาใหม่ และ maintenance therapy และพบว่ามีการติดเชื้อซ้ำน้อยมากคือร้อยละ 1-2 ที่ 1 ปี ไม่มีสูตรยาใดได้ผลร้อยละ 100 การเลือกใช้จึงพิจารณาที่อัตราการกำจัดเชื้อ, ราคาและผลข้างเคียงของยา

สำหรับสูตรยาตาม recommendation ของ Asia Pacific connsensus 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 metronidazloe มากกว่าร้อยละ 30 ให้ใช้สูตรที่ 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 + tetracycline 500 mg. four times daily for 14 days

ถ้าไม่สามารถกำจัดเชื้อได้จาก PPI- or RBC-based clarithromycin and amoxicillin combination ให้รักษาด้วยสูตรเดิมอีกครั้ง
ถ้าไม่สามารถกำจัดเชื้อได้จากสูตรที่มี metronidazole ให้รักษาด้วยสูตรที่มี amoxicillin แทน metronidazole
ถ้าไม่สามารถกำจัดเชื้อได้อีก ให้รักษาด้วย
PPI in standard dose twice daily + colloidal bismuth subcitrate 120 mg. four times daily + metronidazole 400 mg. twice daily + tetracycline 500 mg. four times daily for 7 days
แต่อย่างไรก็ตามยังไม่มีสูตรยาใดที่เป็นมาตราฐานเมื่อมี initial treatment failure

ส่วนสูตรยาตาม recommendation ของ Maastricht consensus มีความแตกต่างเล็กน้อย โดยแนะนำให้ดังนี้คือ

i) PPI in standard dose + clarithromycin 500 mg. + amoxicillin 1000 mg., each given twice daily (advisable when metronidazole resistance is likely);
ii) PPI in standard dose + clarithromycin 500 mg. + metronidazole 400 mg./tinidazole 500 mg., each given twice daily;
iii) PPI in standard dose + amoxicillin 500 mg. three times daily + metronidazole 400 mg. three times daily (advisable when clarithromycin resistance is likely)

ถ้าไม่สามารถกำจัดเชื้อได้อีก ให้พิจารณาตาม previous treatment หรือ microbial sensitivities
PPI in standard dose ได้แก่ omeprazole 20 mg., lansoprozole 30 mg., pantoprazole 40 mg.

ปัญหาในการรักษา

ส่วนใหญ่ เกิดจากการรับประทานยาไม่ครบ[64] ทั้งจากผลข้างเคียงของยา ซึ่งพบร้อยละ 10-30 แล้วแต่ชนิดของยา, ราคา, ความถี่และระยะเวลาในการบริหารยา และ การติดเชื้อซ้ำซึ่งพบน้อย คือร้อยละ 1-2 ที่ 1 ปี นอกจากนี้ยังอาจเกิดจากการดื้อยา เนื่องจากมีการศึกษาพบการดื้อยาในหลอดทดลอง ตามตารางที่ 8[31] โดยดูจาก MIC_{50}, MIC_{90} ใน serum (ซึ่งยังไม่มีวิธีทดสอบใดที่เป็นมาตราฐานในการบอกว่ามีการดื้อยา และจุดตัดที่บอกการดื้อยาก็ไม่อาจดูได้จาก serum level แต่ควรดูที่ local gastric concentration โดยเฉพาะในชั้นเยื่อเมือก เพราะเป็นที่อยู่ของ *H. pylori* ซึ่งยากที่จะตรวจได้) ในการดื้อต่อเมโทรนิดาโซล มักใช้ MIC_{50} ที่ 8 มก./ล. และ MIC_{90} ที่ 32 มก./ล. เป็นจุดตัด เนื่องจากสัมพันธ์กันกับ serum level หลังจากได้ standard dose ของเมโทรนิดาโซล[31] ส่วนวิธีการตรวจมีหลายวิธีเช่น agar dilution, disc diffusion, Epsilometer test (E test) ซึ่งพบว่า E test เป็นวิธีที่สะดวก[65]และดีเพราะสัมพันธ์กับผลที่ได้โดยวิธี agar dilution ซึ่งเป็นวิธีที่ดีที่สุด[31]

ตารางที่ 8 แสดงอัตราการดื้อยาปฏิชีวนะของ *H. pylori* ในต่างประเทศ[31]

ยาปฏิชีวนะ	อัตราการดื้อยาเฉลี่ย (ร้อยละ)	ช่วง (ร้อยละ)	ประชากรที่ศึกษา
เมโทรนิดาโซล	20-30	< 10-90	ยุโรป < ร้อยละ 10-50 อเมริกาเหนือ ร้อยละ 25-30 ออสเตรเลีย ร้อยละ 10-20 อเมริกาใต้ ร้อยละ 30-70 อัฟฟริกา ร้อยละ70-90
ซิโพรฟล๊อกซาซิน โอฟล๊อกซาซิน	< 1	< 1	ยุโรป < ร้อยละ 1
อีริโธรมัยซิน คลาริโธรมัยซิน ร็อกซิโธรมัยซิน	5-10	< 5-15	ยุโรป, อเมริกา < ร้อยละ 5-15
คลินด้ามัยซิน	< 5	0-27	ยุโรป, ออสเตรเลีย ร้อยละ 1-5 อเมริกา ร้อยละ 27

ในไทยมีการศึกษาถึง ความไว, MIC_{50}, MIC_{90} ของยาปฏิชีวนะ[12] ดังตารางที่ 9

ตารางที่ 9 แสดงอัตราการดื้อยาปฏิชีวนะของ *H. pylori* ในประเทศไทย[12]
(defined by lack of inhibition zone)

ยาปฏิชีวนะ	MIC_{50} (มก./ล.)	MIC_{90} (มก./ล.)	อัตราการดื้อยา (ร้อยละ)
แอมพิซิลลิน	0.016	0.046	0
อ๊อกเมนติน	0.016	0.032	0
คลาริโธรมัยซิน	0.064	0.250	13.3
อีริโธรมัยซิน	0.094	0.380	20
เมโทรนิดาโซล	4.00	>/= 32	51
นอร์ฟล๊อกซาซิน	0.225	0.50	28
เตตราซัยคลิน	0.105	0.250	16.6

in vitro resistance ที่พบอาจไม่บ่งถึง in vivo resistance เนื่องจาก MIC ใน serum ซึ่งบอกถึง in vitro resistance อาจไม่สัมพันธ์กันกับ MIC ใน gastric mucus และ มีการศึกษาตามมาพบว่า ระดับยาใน gastric juice มากกว่าใน serum มาก[32] นอกจากนั้นยาบางตัวแม้ได้ผลดี in vitro แต่อาจไม่คงตัวในภาวะที่เป็นกรด (อีริโธรมัยซิน)[33] หรือ antimicrobial activity ลดลงในภาวะที่เป็นกรด (ควิโนโลน)[34-35] เนื่องจากยาที่พบการดื้อยาสูงสุดคือ เมโทรนิดาโซล ร้อยละ 20-30 (แต่ในไทยพบสูงถึงร้อยละ 51)[12, 36-38] และเป็นยาที่มีราคาถูก มีผลข้างเคียงยอมรับได้ จึงมีการศึกษากันมากในการดื้อต่อเมโทรนิดาโซล ซึ่งพบว่าสัมพันธ์กับการสูบบุหรี่ แต่ไม่สัมพันธ์กับ อายุ, สุรา, gastritis score และ bacterial load[37, 45, 66-68]ไม่แตกต่างระหว่างกลุ่มที่ PUD และ ไม่มี PUD[68] มีทั้ง primary และ secondary resistance ระหว่างการรักษา มีผลการศึกษามากมายทั้งสนับสนุน[36-42] และคัดค้าน[43-44] ว่าผลการรักษา *H. pylori* ด้วยสูตรยาที่มีเมโทรนิดาโซลลดลงในกลุ่มที่ดื้อต่อเมโทรนิดาโซล เมื่อเทียบกับกลุ่มที่ไวต่อเมโทรนิดาโซล ตามตารางที่ 10 และ 11

ตารางที่ 10 แสดงผลการศึกษาที่สนับสนุนว่า in vitro metronidazole resistance มีผลต่อ in vivo *H. pylori* eradication โดยเปรียบเทียบอัตราการกำจัด *H. pylori* ระหว่างชนิดที่ไวและชนิดที่ดื้อต่อเมโทรนิดาโซล[36-42]

การศึกษา	สูตรยาที่ใช้	*H. pylori* ที่ไวต่อเมโทรนิดาโซล (ร้อยละ)	*H. pylori* ที่ดื้อต่อเมโทรนิดาโซล (ร้อยละ)
Rautelin 1992	BAM	91	63
Seppala 1992	BAM	89	61
Bell 1993	OAM OA	96 48	75 48
Noach 1994	BAM	91	68
Midolo 1996	BAM	68	17
Gisbert 1996 (Abstract)	BMT	87	25
Peitz 1996 (Abstract)	OCM	100	82

ตารางที่ 11 แสดงผลการศึกษาที่คัดค้านว่า in vitro metronidazole resistance มีผลต่อ in vivo *H. pylori* eradication โดยเปรียบเทียบอัตราการกำจัด *H. pylori* ระหว่างชนิดที่ไวและชนิดที่ดื้อต่อเมโทรนิดาโซล[43-44]

การศึกษา	สูตรยาที่ใช้	*H. pylori* ที่ไวต่อเมโทรนิดาโซล (ร้อยละ)	*H. pylori* ที่ดื้อต่อเมโทรนิดาโซล (ร้อยละ)
Whitehead 1996 (Abstract)	BAM OAM	77 75	74 75
Moayyedi 1996 (Abstract)	OCT	90	93

B = bismuth salt, O = omeprazole, A = amoxicillin,
M = metronidazole, T = tinidazole, C = clarithromycin

กลไกการเกิดการดื้อยายังไม่เป็นที่ทราบแน่ชัด แต่พบว่าไม่น่าเกี่ยวกับการ uptake หรือ metabolism ในตัวเชื้อ[69] และยังไม่มีสูตรยามาตราฐานใดแนะนำเมื่อพบปัญหานี้ ในไทยทราบอัตราการดื้อต่อเมโทรนิดาโซล แต่ยังไม่ทราบถึงผลการรักษา ต้องรอการศึกษาต่อไปซึ่งจะบอกได้ถึงความจำเป็นในการเพาะเชื้อและดูความไวก่อนการเลือกใช้ยา

วัคซีน[70]

Helicobacter ใน genus นี้ทุกตัวสามารถสร้าง urease ได้ โดยพบว่ามีหลาย subunit ที่สร้างจาก gene ต่างๆ คือ ureA, ureB และอีก 5 accessory genes ที่สร้าง ureE, ureF, ureG, ureH, ureI และพบว่า urease มีส่วนสำคัญในการ colonize ใน gastric mucosa นอกจากนี้ยังพบ HspA (H. pylori heat shock protein เป็น homologue ของ *E. coli* GroES protein) ซึ่งมี C-terminal ที่ประกอบด้วย 27 amino acid sequences ที่มี histidine และ cysteine series โดยไม่พบใน bacteria GroES protein อื่นๆ และมีส่วนสำคัญใน urease activity ทั้ง ureA, ureB, HspA, HspB ต่างก็สำคัญในการ colonize ของ *H. pylori* จึงเป็นเป้าหมายที่สำคัญในการผลิตวัคซีน

ในปี 2536 มีการทดลองในหนู พบว่า crude bacterial extract (sonicated *H. felis* preparation + cholera toxin ซึ่งทำหน้าที่เป็น mucosal adjuvant) พบว่าสามารถป้องกันการ colonize ของ *H. felis* ได้ ต่อมาใน mouse model เช่นกัน พบว่า vacA + urease + *E. coli* heat labile toxin ป้องกันการติดเชื้อได้ ส่วน HspA และ HspB ก็พบว่าป้องกันการติดเชื้อ *H. felis* ใน mouse model ได้เช่นกัน และมีการพัฒนาต่อมาเป็น recombinant sub-unit vaccine ซึ่งพบว่าได้ผลทั้งการป้องกันและรักษา ในหนู, ferret และ แมว ยังต้องรอผลการศึกษาใน primate และมนุษย์ต่อไป