

วิเคราะห์ผลการตรวจวินิจฉัยการติดเชื้อ เอช พัยโลรียา
ด้วยวิธีการพีซีอาร์จากน้ำย่อยในกระเพาะอาหาร

นายก่อเดช เฉลิมไทย



วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาอายุรศาสตร์ ภาควิชาอายุรศาสตร์
คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปีการศึกษา 2543
ISBN 974-130-961-9
ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

**AN ANALYSIS OF PCR ASSAY FOR H.PYLORI
FROM GASTRIC JUICE ASPIRATION**

Mr. Koadech Chalermthai

**A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Science in Medicine**

Department of Medicine

Faculty of Medicine

Chulalongkorn University

Academic Year 2000

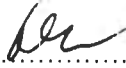
ISBN 974-130-961-9

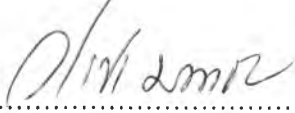
หัวข้อวิทยานิพนธ์ วิเคราะห์ผลการตรวจวินิจฉัยการติดเชื้อ เอช พัยโลรียา ด้วยวิธีการพีซีอาร์
จากน้ำย่อยในกระเพาะอาหาร
โดย นาย ก่อเดช เฉลิมไทย
สาขาวิชา อายุรศาสตร์
อาจารย์ที่ปรึกษา รองศาสตราจารย์ แพทย์หญิง วโรชา มหาชัย

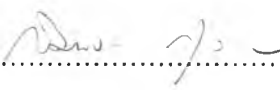
คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วน
หนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต

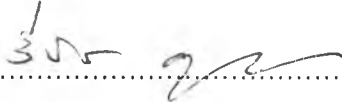

..... คณบดีคณะแพทยศาสตร์
(ศาสตราจารย์ นายแพทย์ ภิรมย์ กมลรัตน์กุล)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์


..... ประธานกรรมการ
(รองศาสตราจารย์ นายแพทย์ ธาณินทร์ อินทรกำแหงชัย)


..... อาจารย์ที่ปรึกษา
(รองศาสตราจารย์ แพทย์หญิง วโรชา มหาชัย)


..... กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ นายแพทย์ สมพงษ์ สุวรรณวลัยกร)


..... กรรมการ
(อาจารย์วินัส อุดมประเสริฐกุล)

ก่อดเทศ เจลิมไทย : วิเคราะห์ผลการตรวจวินิจฉัยการติดเชื้อ เอช พัยโลเรีย ด้วยวิธีการพีซีอาร์จาก
น้ำย่อยในกระเพาะอาหารโดยใช้นิวโทรเมอร์ (AN ANALYSIS OF PCR ASSAY FOR H.
PYLORI FROM GASTRIC JUICE ASPIRATION) อ. ที่ปรึกษา: รศ. พญ. วโรชา มหาชัย ;
69 หน้า. ISBN 974-130-961-9.

วัตถุประสงค์ เพื่อให้ทราบถึงผลการตรวจวินิจฉัย H.pylori ด้วยวิธี PCR จากน้ำย่อยกระเพาะ
อาหาร ว่ามีความไว ความจำเพาะ และความแม่นยำ เป็นร้อยละเท่าไร เพื่อใช้เป็นข้อมูลในการตัดสินใจ
เลือกใช้เป็นการตรวจขอเชื้อในทางทางคลินิก, การวิจัยต่างๆ ในอนาคต

วิธีการวิจัย ผู้ป่วย Dyspepsia จากแผนกผู้ป่วยนอก 135 คน ที่มีข้อบ่งชี้ในการตรวจสอบกล้อง
ทางเดินอาหาร ได้รับการตัดชิ้นเนื้อจากกระเพาะอาหาร เพื่อส่งตรวจ ทางพยาธิวิทยา, การเพาะเชื้อ, การ
ตรวจ CLO-test และเก็บน้ำย่อยกระเพาะอาหารส่งตรวจ PCR โดยใช้ PRIMER ที่พัฒนาขึ้นเอง และใช้
Inhousing technique

ผลการวิจัย ความไวของ PCR assay เท่ากับร้อยละ 77 ความจำเพาะและความแม่นยำเท่ากับ
ร้อยละ 71 และ 74 ตามลำดับ, ผู้ป่วยในกลุ่ม Non ulcer dyspepsia พบการติดเชื้อ H.yloril ร้อยละ 59 ใน
กลุ่ม Duodenal ulcer พบร้อยละ 77 และในกลุ่ม Gastric ulcer พบร้อยละ 50

สรุป ผลการวิเคราะห์พบว่า การตรวจเชื้อ H. pylori ด้วยวิธีการ PCR จากน้ำย่อยกระเพาะอาหาร
เป็น วิธีการตรวจสอบวิธีหนึ่งที่ Less invasive และสามารถประยุกต์ใช้ในการศึกษาวิจัยในด้านระบาด
วิทยา, เชื้อดื้อยา, อื่นๆ แต่ข้อจำกัดของความไว ความจำเพาะจากปัจจัยต่างๆ จำเป็นที่จะต้องพัฒนาและ
ปรับปรุงต่อไปในอนาคต

ภาควิชา.อายุรศาสตร์.....
สาขาวิชา.อายุรศาสตร์.....
ปีการศึกษา.2543.....

ลายมือชื่อนิสิต *K. Aralutgaw*
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา *Dr. Lom*
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม.....

4075283030 : MAJOR MEDICINE (GASTROENTEROLOGY)

KEY WORD: NEW PRIMER/HELICOBACTER PYLORI/ POLYMERASE CHAIN REACTION

KOADECH CHALERMTHAI : AN ANALYSIS OF PCR ASSAY FOR H.PYLORI FROM GASTRIC JUICE ASPIRATION. THESIS ADVISOR : ASSO. PROF. VAROCHA MAHACHAI, M.D. 69 pp. ISBN 974-130-961-9.

Objective: To develop and validate diagnostic method of H.pylori by PCR assay for gastric juice aspiration with new primer

Method: Gastric juice (1.5 ml) and gastric biopsy specimens were obtained from 135 consecutive Thai dyspeptic patients undergoing gastroscopy in the hospital. Gastric juice were sented to the lab for PCR assay and gastric tissues were separated to detect H. pylori by 3 tests (CLO-test, Histopathology, culture). We had used positive culture or positive clo-test combined with positive histopathology as the gold standard to diagnosis H. pylori and calculate sensitivity, specificity, accuracy of PCR assay. In housing primers that developed and used in this PCR assay are Urease gene (Ure C).

Results: The sensitivity of the PCR assay was 77% and specificity, accuracy were 71% and 74% respectively. Non ulcer dyspepsia patients had 59% H. pylori detections, gastric ulcer patients, duodenal ulcer patients had 50% and 77% H.pylori detections, respectively. Most of the dyspeptic patients were non ulcer group (87%)

Conclusion: These data suggest that PCR assay for gastric juice is one of the useful less invasive tests for diagnosis H.pylori infection and for detection H.pylori in may future researches(Epidemiology, resistant strains, etc.). Limitation in sensitivity and specificity of test (resulted from inhousing PCR technique, inhibitor, no organism in specimen) will need to develop the new better primers and more sensitive assay in the future.

Department.Medicine..... Student's signature *K. Chalermthai*
Field of study.Medicine..... Advisor's signature *Varocha Mahachai*
Academic year.2000..... Co-advisor's signature.....



กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยความช่วยเหลืออย่างดียิ่งของ รongศาสตราจารย์แพทย์หญิงวโรชา มหาชัย อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์, อาจารย์ ดร. ทวีศักดิ์ ตีระวัฒน์พงษ์ อาจารย์ที่ปรึกษาร่วมวิทยานิพนธ์ ซึ่งท่านได้ให้คำแนะนำและข้อคิดเห็น ต่างๆ อันเป็นประโยชน์ในการวิจัยชิ้นนี้ด้วยดีตลอด นอกจากนี้ยังได้รับความช่วยเหลืออย่างดี ยิ่ง และคำแนะนำรวมทั้งการแก้ปัญหาต่างๆ ที่เกิดขึ้นจากอาจารย์แพทย์หญิง ดวงพร ทองงาม และอาจารย์แพทย์หญิงนฤมล วิเศษโอภาส และขอขอบคุณเพื่อนแพทย์สาขาโรคทางเดินอาหาร ทุกท่าน รวมทั้งเจ้าหน้าที่ประจำห้องส่องกล้อง หน่วยโรคทางเดินอาหาร ดึกพร้อมพันธ์ุ โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ ที่ช่วยในการเก็บน้ำย่อยกระเพาะอาหารและชิ้นเนื้อจากกระเพาะ อาหาร จึงขอขอบคุณมา ณ ที่นี้

ท้ายนี้ผู้วิจัยใคร่ขอกราบขอบพระคุณบิดามารดา รวมทั้งครอบครัวที่ได้ให้กำลังใจ
แก่ ผู้วิจัยเสมอมา

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	จ
กิตติกรรมประกาศ.....	ฉ
สารบัญ.....	ช
สารบัญตาราง.....	ฌ
สารบัญแผนภูมิ.....	ฉ
สารบัญรูป.....	ญ
คำอธิบายคำย่อ.....	ฎ
บทที่	
1. บทนำ.....	1
2. บริบทศน์วรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง.....	4
3. วิธีการวิจัย.....	38
4. ผลการวิจัย.....	44
5. อภิปรายผลการวิจัย.....	49
6. สรุปผลการวิจัยข้อเสนอแนะ.....	51
รายการอ้างอิง.....	52
ภาคผนวก.....	59
ประวัติผู้เขียน.....	69

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
2.1	วิธีการตรวจสอบ PCR product.....	14
2.2	ปัจจัยที่สำคัญในการเจริญเติบโตและการเกิดโรคของเชื้อ H.pylori.....	25
4.1	แสดงข้อมูลพื้นฐานทางคลินิกของผู้ป่วย Dyspepsia จากแผนกผู้ป่วย นอก ที่มารับการตรวจส่องกล้องทางเดินอาหารใน รพ.จุฬาลงกรณ์.....	45
4.2	แสดงผลการศึกษาและวิเคราะห์ผลของการทดสอบ H.pylori โดยวิธี PCR จาก gastric juice ในผู้ป่วย Dyspepsia ทั้งหมด.....	45
4.3	แสดงผลการศึกษาและวิเคราะห์ผลของการทดสอบ H.pylori โดยวิธี PCR จาก gastric juice ในผู้ป่วยกลุ่ม Peptic ulcer ทั้งหมด.....	46
4.4	แสดงผลการศึกษาและวิเคราะห์ผลของการทดสอบ H.pylori โดยวิธี PCR จาก gastric juice ในผู้ป่วยกลุ่ม Non ulcer dyspepsia.....	46

สารบัญแผนภูมิ

แผนภูมิที่		หน้า
1	แสดงกลุ่มโรคที่ตรวจพบในผู้ป่วย Dyspepsia ที่แผนกผู้ป่วยนอก รพ. จุฬาลงกรณ์.....	47
2	แสดงผลการตรวจพบเชื้อ H.pylori ในผู้ป่วยโดยแบ่งตามกลุ่มโรค ที่วินิจฉัยจากผลการส่องกล้องทางเดินอาหาร.....	47
3	เปรียบเทียบความไวของ PCR assay ในผู้ป่วย 3 กลุ่มโรค.....	48

สารบัญรูป

	หน้า
รูปที่ 1	แสดง PCR TEMPERATURE CYCLING PROFILE..... 5
รูปที่ 2	หลักการ Polymerase Chain Reaction..... 7
รูปที่ 3	AMPLIFICATION PLATAU 8
รูปที่ 4	แสดงการตรวจวิเคราะห์ยีนที่ผิดปกติโดยวิธี PCR-RFLP..... 19
รูปที่ 5	แสดงการตรวจวิเคราะห์ยีนที่ผิดปกติโดยวิธีดอท บลอท ไฮบริไดเซชัน 20
รูปที่ 6	แสดงรูปแบบของลำดับนิวคลีโอไทด์บนสายดีเอ็นเอโดยการติดฉลาก ด้วยสารรังสี..... 20
รูปที่ 7	แสดงลักษณะของ STR ซึ่งเป็นความหลากหลายทางพันธุกรรมที่พบได้ ในประชากรปกติ..... 21
รูปที่ 8	แสดงการตรวจวิเคราะห์ดีเอ็นเอลิงค์गेจโดยอาศัยความหลากหลายของ STR ในแต่ละครอบครัว..... 21

คำอธิบายคำย่อ

CLO	=	CAMPYLOBACTER LIKE ORGAINSM
PCR	=	POLYMERASE CHAIN REACTION
H. PYLORI	=	HELICOBACTER PYLORI
Ure	=	UREASE
Cag	=	CYTOTOXIN ASSOCIATED GENE
Vac	=	VACUOLATED ASSOCIATED CYTOTAXIN
NG	=	NASOGASTRIC
RNA	=	RIBONUCLEIC ACID
DU	=	DUODENAL ULCER
GU	=	GASTRIC ULCER
PU	=	PEPTIC ULCER
DNA	=	DEOXY RIBONUCLEIC ACID
dNTP	=	DEOXY NUCLEOTIDE TRIPHOSPHATE
GERD	=	GASTRO ESOPHAGEAL REFLAX DISEASE
CA	=	CARICNOMA
NUD	=	NON ULCER DYSPEPSIA
HP	=	HELICOBACTER PYLORI
C/S	=	CULTURE
BHI - YE	=	BRAIN HEART INFUSION - YEAST EXTRACT