

การสำรวจการติดเชื้อ

Helicobacter pylori

ในคนปกติของประเทศไทย

Prevalence study of *Helicobacter pylori* infection from normal persons in Thailand

- | | | |
|---|--|--|
| ■ ปิยะดา หวังรุ่งทรัพย์ ¹ ,
Piyada Wangroogsarb ¹ ,
วโรชา มหาชัย ² ,
Varocha Mahachai ² ,
รัตติกร ชนะตรีรัตนกันธ์ ⁵ ,
Rattigorn Chanatrirattanaphan ⁵ ,
ธนิชชัย คำแดง ¹ ,
Thanitchai Khamthalang ¹ ,
ปฐม สวรรค์ปัญญาเลิศ ¹ ,
Pathom Sawanpanyalert ¹ | กรัณย์ สุทธิวาราคม ¹ ,
Karun Suthivarakom ¹ ,
ปิยธิดา หาญสมบุญ ³ ,
Piyathida Hansomboon ³ ,
ธีรนนท์ สรรพจิต ⁶ ,
Theeranant Sappajit ⁶ ,
วัฒน์พงศ์ วุทธา ¹ ,
Wattanapong woota ¹ , | ชุตินา จิตตประสารทศีล ¹ ,
Chutima jitaprasartsin ¹ ,
เผด็จ หนูพันธ์ ⁴ ,
Padet Noophan ⁴ ,
คมสัน เลิศคุปนิจ ⁷ ,
Comsan Lertkupinij ⁷ ,
สมชาย เหลืองจากรู ⁸ ,
Somchai luengjaru ⁸ , |
|---|--|--|

¹ สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์

² คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

³ คณะแพทยศาสตร์ โรงพยาบาลราชวิถี

⁴ โรงพยาบาลสุรินทร์

⁵ โรงพยาบาลสวรรค์ประชารักษ์

⁶ คณะแพทยศาสตร์ โรงพยาบาลพระมงกุฎเกล้า

⁷ โรงพยาบาลสุรินทร์

⁸ โรงพยาบาลมหาวิทยาลัยนครราชสีมา

บทคัดย่อ

Helicobacter pylori เชื้อก่อโรคในผู้ป่วยโรคกระเพาะอาหารที่พบมากโรคหนึ่ง การใช้วิธีทางอณูชีวโมเลกุลและวิธีทางน้ำเหลืองวิทยา เพื่อตรวจหาเชื้อ *H. pylori* เป็นวิธีที่มีประโยชน์สำหรับการวินิจฉัยโรคและการควบคุมโรคกระเพาะอาหารที่เกิดจากเชื้อ *H. pylori* งานวิจัยนี้เป็นการศึกษาในตัวอย่างรวมทั้งสิ้น 350 ตัวอย่างจาก 7 โรงพยาบาลในพื้นที่ต่างๆ ของประเทศไทย ทำการตรวจวิเคราะห์ตัวอย่างโดยการตรวจหา *H. pylori* โดยวิธี realtime PCR และวิธี Catalase antigen test จากการทดสอบพบ *H. pylori* โดยวิธี realtime PCR ให้ผลบวกเท่ากับ 142 ตัวอย่าง (40.57%) ส่วนวิธี Catalase antigen test ให้ผลบวก 147 ตัวอย่าง (42.00%) กล่าวได้ว่าผู้ที่มีสุขภาพปกติ ยังคงต้องเฝ้าระวังและติดตาม เนื่องจากมีแนวโน้มว่าจะอาจทำให้เสี่ยงต่อโรคกระเพาะอาหารได้

คำรหัส : *Helicobacter pylori* Catalase antigen test immunoassay มะเร็งกระเพาะอาหาร



Abstract

Helicobacter pylori is the most prevalent pathogenic infectious disease found in gastric disorder patients. The new methods to identify *H. pylori* infection based on molecular technique and immunoassay are beneficial for diagnosis, prognosis and control of cancer incidence in infected patients. Three hundred and fifty specimens from 7 hospitals in different areas of Thailand were studied. Specimens were detected for *H. pylori* by realtime PCR and Catalase antigen test. The results showed that *H. pylori* was demonstrated in 142 specimens (40.57%) by realtime PCR and 147 specimens (42.00%) by and Catalase antigen test, respectively. It would be concluded that even the normal persons should be monitored for the *Helicobacter pylori* infection because of its potential risk in gastric cancer.

Keywords: *Helicobacter pylori* catalase antigen test immunoassay gastric cancer

บทนำ

Helicobacter pylori เป็นเชื้อแบคทีเรียที่พบได้ในกระเพาะอาหารของประชากรทั่วโลกมากถึง 50% และพบได้ในเกือบทุกประเทศทั่วโลก สายพันธุ์ของเชื้อมีความแตกต่างกันขึ้นอยู่กับภูมิภาคและการย้ายถิ่นฐานก็อาจให้เกิดการผสมระหว่างสายพันธุ์ขึ้นได้ เชื้อสามารถอยู่ในร่างกายมนุษย์ได้นานหลายสิบปี *H. pylori* เป็นแบคทีเรียติดสีแกรมลบ รูปร่างเป็นเกลียว มีขนาดกว้าง 0.5-0.9 um. ยาว 3 um. และสามารถเปลี่ยนรูปร่างเป็น coccoid form (ทรงกลม) หลังจากถูกอากาศภายในเวลา 2 ชั่วโมง พบ long motile sheathed flagella (ตัวช่วยในการเคลื่อนที่) ซึ่งพบเพียงข้างใดข้างหนึ่งของเซลล์มักพบได้ประมาณ 4-5 อัน เจริญได้เฉพาะในภาวะ *Microaerophilic* กลไกการก่อโรคของ *H. pylori* เริ่มจากการ ติดเชื้อที่บริเวณกระเพาะอาหารส่วนล่าง โดยในระยะแรกจะมีอาการคลื่นไส้ อาเจียน และมีอาการปวดท้องบ่อยๆ เนื่องมาจาก *H. pylori* เกิดการ infection ในบริเวณ mucous layer หรือ เยื่อบุกระเพาะอาหาร จึงทำให้เกิดกระบวนการทางภูมิคุ้มกัน คือ เม็ดเลือดขาวเกิดการรวมตัวในบริเวณ เยื่อบุกระเพาะอาหารทำให้เกิดการอักเสบของเยื่อบุกระเพาะอาหาร ซึ่งเมื่อผนวกเข้ากับกรดในกระเพาะอาหารที่หลังออกมา ทำให้เกิดแผลในกระเพาะอาหารหรือในลำไส้ส่วนต้นได้ การติดตัวของ *H. pylori* ยังไม่เป็นที่ทราบชัดเจน แต่มีรายงานเกี่ยวกับผู้ป่วยที่ติดเชื้อ *H. pylori* โดยการดื่มน้ำที่ปนเปื้อนด้วยแบคทีเรียนี้ และพบว่ากว่า 80-90% ของผู้ป่วยที่มีแผลในกระเพาะอาหารหรือลำไส้จะมีการติดเชื้อนี้ อุบัติการณ์ของการติดเชื้อขึ้นอยู่กับหลายปัจจัย เช่น พื้นที่ ภูมิลาเนา อายุ เชื้อชาติและสถานะทางสังคมและเศรษฐกิจ¹ ผู้ป่วยด้วยโรค Helicobacteriosis อาจเกิดโรคกระเพาะ peptic ulcer, chronic gastritis และที่สำคัญที่สุด *H. pylori* จัดเป็นเชื้อ ก่อโรคมะเร็ง

กระเพาะอาหารที่สำคัญอันดับหนึ่งในคน² การตรวจวินิจฉัยเชื้อ *H. pylori* ทำได้หลายวิธี เช่น การเพาะเลี้ยงเชื้อจากชิ้นเนื้อ ซึ่งเป็นวิธีมาตรฐานสำหรับการตรวจหาเชื้อแบคทีเรียหลายชนิด แต่ไม่นิยมใช้ทำในการตรวจหาเชื้อ *H. pylori* เพราะวิธีนี้มีความไวต่ำและต้องใช้เวลาขึ้นเชื้อจากผู้ป่วย ที่มีความยุ่งยากเพื่อทำการเพาะเลี้ยงเชื้อเกิดความเสี่ยงต่อผู้ป่วยและอาจเกิดปัญหาด้านจริยธรรมในการดำเนินการวิจัย³ การตรวจหาเอนไซม์ urease ที่ผลิตขึ้นโดย *H. pylori* ในชิ้นเนื้อที่ส่งตรวจการทดสอบนี้คือ Campylobacter-like organism (CLO test)⁴ การทดสอบ Breath testing เป็นวิธีที่หา¹³ C-urea หรือ¹⁴ C-urea จากการหายใจ ซึ่งพบว่า *H. pylori* จะสร้างเอนไซม์ gastric urease ทำให้มีการผลิต¹³ C-urea หรือ¹⁴ C-urea ขึ้น วิธีการทดสอบ Breath testing นี้ต้องใช้เครื่องมือค่อนข้างราคาแพงและใช้ตัวอย่างชิ้นเนื้อ การหาระดับแอนติบอดีต่อ *H. pylori*^{5,6} อย่างไรก็ตามไม่แนะนำให้ใช้ในประเทศไทยเนื่องจากการศึกษาที่มีในประเทศไทยพบว่า เป็นวิธีที่มีความไวและความจำเพาะต่ำ³ วิธี Catalase antigen test⁷ ใช้แอนติบอดีที่จำเพาะต่อแอนติเจนของ *H. pylori* สามารถตรวจ ในอุจจาระได้ผลภายใน 10 นาทีซึ่งเป็นวิธีที่สะดวกและอ่านผลได้รวดเร็ว มีความไว 96% และความจำเพาะ 100%⁸ วิธีต่างๆ นี้มีความแตกต่างกันในเรื่องความไว ความจำเพาะและค่าใช้จ่าย คณะผู้วิจัยจึงทำการศึกษาทางอิมมูโนโพลีเมอร์ โดยเทคนิค Polymerase chain reaction (PCR)⁹ ซึ่งเป็นการเพิ่มจำนวนดีเอ็นเอ ของในลำดับเบสที่สนใจให้มีจำนวนมากโดยใช้ primers คู่จำเพาะสำหรับเชื้อ *H. pylori* จนสามารถตรวจหาปริมาณได้ ในแผ่นวุ้นผ่านกระแสไฟฟ้า (agarose gel electrophoresis) วิธีดังกล่าวมีความจำเพาะและความไวสูง ดังนั้นคณะผู้วิจัยจึง ได้นำมาใช้ในการสำรวจการติดเชื้อ

Helicobacter pylori ในคนปกติของประเทศไทย เพื่อช่วยในการตรวจวินิจฉัยโรคและการพยากรณ์โรคตลอดจนการเฝ้าระวังการเกิดมะเร็งกระเพาะอาหาร

วิธีการศึกษา

ตัวอย่างในการศึกษา

เก็บตัวอย่างจำนวนรวมทั้งสิ้น 350 ตัวอย่าง เป็นตัวอย่างอุจจาระจากโรงพยาบาล 7 แห่งในประเทศไทย ได้แก่ โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ (56 ตัวอย่าง) โรงพยาบาลราชวิถี (52 ตัวอย่าง) โรงพยาบาลพระมงกุฎเกล้า (24 ตัวอย่าง) โรงพยาบาลสุรินทร์ (49 ตัวอย่าง) โรงพยาบาล สวรรค์ประชารักษ์ (86 ตัวอย่าง) โรงพยาบาลชลบุรี (33 ตัวอย่าง) โรงพยาบาลมหาราชนครราชสีมา (50 ตัวอย่าง) ทุกตัวอย่างเก็บจากผู้ที่มีสุขภาพปกติไม่เป็นโรคมะเร็งกระเพาะอาหาร โดยยืนยันด้วยวิธีการส่องกล้อง (Endoscope) แล้วไม่พบสิ่งผิดปกติ ระยะเวลาการเก็บตัวอย่างตั้งแต่ มกราคม 2550 – สิงหาคม 2552 การเก็บตัวอย่างดังกล่าวได้รับ อนุญาตจาก คณะกรรมการการวิจัยในคนกระทรวงสาธารณสุข ตามใบอนุญาตเลขที่ 94/50

การเก็บและนำส่งตัวอย่าง

เก็บตัวอย่างอุจจาระใน Transport medium ของ *H. pylori* (TestMate Rapid Pylori Antigen; BD, Tokyo, Japan) และเก็บเนื้ออุจจาระในกล่องพลาสติกปราศจากเชื้อ บันทึกหมายเลขบันทึกประวัติและผลการตรวจวินิจฉัยโรคมะเร็งกระเพาะอาหารจากแพทย์ผู้รับผิดชอบ เก็บแยกกันในถุงพลาสติกบรรจุลงในกล่องเก็บความเย็น 4-10°C ส่งมา ยังสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุขเพื่อทดสอบ *H. pylori* เพื่อใช้ในการควบคุมคุณภาพการตรวจวิเคราะห์

การศึกษาวินิจฉัย *H. pylori* สายพันธุ์มาตรฐาน สำหรับเป็น Positive control สายพันธุ์ *cagA* gene Eastern-asian type ประกอบด้วยสายพันธุ์ TK1021, TK1023 TK1029 และ Hz15 เป็นต้นและสายพันธุ์ *cagA* gene Western ประกอบด้วยสายพันธุ์ ATCC 49503, ATCC49575, NCTC11638 และ OK111 *H. pylori* สายพันธุ์มาตรฐานจะถูกเก็บรักษาไว้ใน brain heart infusion broth +20% fetal calf serum +20% glycerol

วิธีการตรวจ

การตรวจหา *H.pylori* antigen โดยวิธี Catalase antigen test

การตรวจหา *H.pylori* antigen โดยวิธี Catalase antigen test (TestMate Rapid Pylori Antigen; BD, Tokyo, Japan) ทำโดยหยดตัวอย่างอุจจาระที่เก็บใน Transport medium ของ *H. pylori* ลงใน Docking port ของชุดทดสอบ 1 หยด และอ่าน

ผลหลังจากหยด 10 นาที หากเกิดแถบสีแดงขึ้นแสดงว่าให้ผลบวกต่อ *H. pylori* antigen หากไม่เกิดแถบสีแดงผลเป็นผลลบต่อ *H. pylori* antigen

การสกัด DNA จากตัวอย่างอุจจาระ

การสกัด DNA จากตัวอย่างอุจจาระด้วยชุดน้ำยา QIAamp DNA stool mini kit (Qiagen Inc. Avenue. Standford, CA). โดยละลายตัวอย่างอุจจาระประมาณ 1 กรัม ใน Stool lysis buffer (ASL) ปริมาตร 3 เท่าของตัวอย่างในหลอดทดลองขนาด 15 mL. ผสมให้เข้ากัน บ่มที่อุณหภูมิ 70 °C นาน 5 นาที ปั่นให้ตกตะกอนที่ 1500 rpm 10 นาที เก็บส่วนใสประมาณ 1.5 mL. ใส่ Inhibitor absorption matrix (EX) 1 เม็ด เขย่าด้วย Vortex จนผสม เป็นเนื้อเดียวกัน วางไว้ที่อุณหภูมิห้อง 1 นาที ปั่นอีกครั้งให้ตกตะกอนที่ความเร็ว 12,000 rpm 3 นาที เก็บส่วนใสทั้งหมดใส่ลงหลอดขนาด 1.5 mL. เติม Proteinase K15 μ L และ Lysis buffer (AL) ปริมาตร 200 μ L เขย่าด้วย Vortex และบ่มที่อุณหภูมิ 70 °C นาน 10 นาที จากนั้นเติม Absolute Ethanol ปริมาตร 200 μ L เขย่าให้ผสมกัน และ ใส่ลงใน QIA spin column ที่ใส่ไว้ใน Collection tube ขนาด 2 mL. นำไปปั่นแยกส่วนน้ำออกที่ความเร็ว 12,000 rpm 1 นาที ทิ้งน้ำที่กรองออกมาไปพร้อมกับ Collection tube แล้วนำ QIA spin column ใส่ใน Collection tube อันใหม่ล้างด้วย Wash Buffer 1 (AW1) ปริมาตร 500 μ L. นำไปปั่นที่ความเร็ว 12,000 rpm 1 นาที ทำการล้างด้วย AW1 ซ้ำอีกครั้งเติม Buffer AE ปริมาตร 200 μ L ลงใน QIA spin column ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิ ห้อง 1 นาที ก่อนปั่นแยกเพื่อเก็บส่วนใสที่ความเร็ว 12,000 rpm 1 นาที จะได้ DNA ปริมาตร 200 μ L เก็บ DNA ที่สกัดได้ไว้ที่ -20°C จนกว่าจะนำไปทดสอบ

การตรวจหา 16SrRNA gene ด้วยวิธี realtime PCR

นำ DNA ที่สกัดจากอุจจาระ มาเพิ่มจำนวน 16SrRNA gene ตามวิธีของ Yamazaki et al., 2005¹⁰ (ตารางที่ 1) และใช้เครื่อง Realtime PCR (ABI Prism 3100 Avert genetic Analyzer Applied Biosystems, Foster City Calif) โดยใช้ DNA ของ *H. pylori* สายพันธุ์มาตรฐานจากการเพาะเลี้ยง เป็น Positive control เจือจาง DNA ที่สกัดได้ลงเป็น 1 : 10 เพื่อลดสารยับยั้งที่ยังอยู่ในตัวอย่างอุจจาระ โดยมีส่วนผสมดังนี้ 25 μ L. Taqman Univerasl PCR Master Mix (Applied Biosystems) forward and reverse primers อย่างละ 800 nM และ probe 400-600 nM โดยใช้ Thermal cycle คือ pre-denaturation 95 °C 10 นาที จำนวน 50 รอบของ Denaturation 95 °C 15 วินาทีและ annealing 60 °C. 1 นาที

ตารางที่ 1 Oligonucleotide primers and probe used for PCR analysis of *H. pylori*

Gene	Sequence	Reference
16S rRNA gene	Forward 5'-TGC GAA GTG GAG CCA ATC TT-3' Reverse 5'-GGA ACG TAT TCA CCG CAA CA-3' Probe 5'-(FAM) CCT CTC AGT TCG GAT TGT AGG CTG CAA C (TAMRA)-3'	Yamazaki <i>et al.</i> , 2005b

ผลการศึกษา

การตรวจหา *H. pylori* Antigen โดยวิธี Catalase antigen test

จากการศึกษา ในตัวอย่างทั้งหมด 350 ราย พบ *H. pylori* antigen โดยวิธี Catalase antigen test จำนวน 147 ตัวอย่าง (42.00%) (ตามตารางที่ 2) และพบว่าในตัวอย่างจากพื้นที่ภาคกลางพบมี *H.pylori* antigen สูงที่สุด (52.00%) รองลงมาคือภาคตะวันออกเฉียงเหนือ (46.53%)

การตรวจหา 16SrRNA gene ของ *H. pylori* ด้วยวิธี Realtime PCR

จากการศึกษาพบว่าสามารถตรวจพบ 16SrRNA gene ของ *H. pylori* ด้วยวิธี Realtime PCR จำนวน 142 ตัวอย่างจาก (40.57%) (ตารางที่ 2) และพบว่าตัวอย่าง พื้นที่ภาคกลางให้ผลบวกในการตรวจหา 16SrRNA ของ *H. pylori* สูงที่สุดจำนวน 44 ตัวอย่าง (44.00%) รองลงมาคือภาคตะวันออกเฉียงเหนือ จำนวน 44 ตัวอย่าง (43.56%)

ตารางที่ 2. การตรวจหา *H. pylori* จากตัวอย่างอุจจาระของผู้ที่มีสุขภาพปกติโดยจำแนกตามพื้นที่เก็บตัวอย่างในประเทศไทย

พื้นที่	เพศ	จำนวนตัวอย่าง	ผลบวกของ <i>H. pylori</i> โดยวิธี Catalase antigen test	ผลบวก 16SrRNA ของ <i>H. pylori</i> ด้วยวิธี Realtime PCR
กรุงเทพมหานคร	ชาย	60	24(40.00%)	29(48.33%)
	หญิง	32	7(21.88%)	9(28.13%)
	รวม	92	31(33.70%)	38(41.30%)
ปริมณฑลรอบ กรุงเทพมหานคร	ชาย	44	14(31.82%)	14((31.82%)
	หญิง	13	3(23.08%)	2(15.38%)
	รวม	57	17(29.82%)	16(28.07%)
ภาคกลางของ ประเทศไทย	ชาย	73	36(49.32%)	29(39.73%)
	หญิง	27	16(59.26%)	15(55.56%)
	รวม	100	52(52.00%)	44(44.00%)
ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ของประเทศไทย	ชาย	78	33(42.31%)	32(41.03%)
	หญิง	23	14(60.87%)	12(52.17%)
	รวม	101	47(46.53%)	44(43.56%)
ตัวอย่างทั้งหมด	ชาย	255	107(41.96%)	106(41.57%)
	หญิง	95	40(42.11%)	36(37.89%)
	รวม	350	147(42.00%)	142(40.57%)

กรุงเทพมหานคร

ปริมณฑลรอบกรุงเทพมหานคร (นครปฐม, นนทบุรี, ปทุมธานี , พระนครศรีอยุธยา, สมุทรปราการ, ชลบุรี ,ระยอง)

ภาคกลางของประเทศไทย(กำแพงเพชร, นครสวรรค์, สิงห์บุรี, ราชบุรี)

ภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย (บุรีรัมย์, ชัยภูมิ, นครพนม, นครราชสีมา, ศรีสะเกษ สุรินทร์)

ปัจจัยเสี่ยงที่มีผลกระทบต่อการติดเชื้อ *H. pylori*

การศึกษาวินิจฉัยในครั้งนี้ ได้วิเคราะห์ข้อมูลที่เกี่ยวข้องหรือมีผลกระทบต่อการติดเชื้อ *H. pylori* ได้แก่ข้อมูลกลุ่มอายุและการดื่มสุรา พบว่าตัวอย่างจากกลุ่มผู้สูงอายุ (51-86 ปี) เป็นกลุ่มที่พบผลบวกต่อการตรวจหา *H. pylori* ด้วยวิธี Catalase antigen test และ Realtime PCR มากที่สุดเท่ากับ (48.48%) รองลงมาคือกลุ่ม อายุ 36-50 ปี (41.49%) และกลุ่มอายุ 15-35 ปี (37.50%) ตามลำดับ (ตารางที่ 3) และพบว่า ตัวอย่าง จากกลุ่มผู้ที่ดื่มสุราไม่พบผลบวก ต่อ *H. pylori* สูงกว่าผู้ที่ไม่ดื่มสุราอย่างมีนัยสำคัญโดยค่า Odd ratio เท่ากับ 1.9071 (ตารางที่ 4)

วิจารณ์และสรุป

การตรวจวินิจฉัย *H. pylori* สามารถทำได้หลายวิธีเช่น CLO test วิธีทางน้ำเหลืองวิทยา และวิธีการเพาะเลี้ยงเชื้อ (จากชิ้นเนื้อหรืออุจจาระ) ซึ่งมีความแตกต่างกันในเรื่องของความไว (Sensitivity) และความจำเพาะ (Specificity) ในปัจจุบันเป็นที่ทราบกันดีว่า วิธีการทางอนุชีวโมเลกุลและทาง immunoassay มีประโยชน์ต่อการศึกษาทางระบาดวิทยาในการศึกษาวินิจฉัยครั้งนี้ใช้ตัวอย่างอุจจาระ ซึ่งง่ายต่อการเก็บ ตัวอย่างเมื่อเทียบกับ การเก็บเลือด หรือชิ้นเนื้อ รวมถึงการ เก็บรักษาตัวอย่างและ นำส่งตัวอย่าง มายังห้องปฏิบัติการและเหมาะสมเป็นอย่างยิ่งในการศึกษาในปริมาณมาก ซึ่งสามารถรวบรวมตัวอย่างจากหลายๆ พื้นที่อย่างกว้างขวาง แต่การศึกษานี้ไม่มุ่งเน้นการเพาะเลี้ยงเชื้อจากตัวอย่างอุจจาระ เนื่องจากอัตราความสำเร็จในการเพาะเลี้ยงเชื้อจากอุจจาระค่อนข้างต่ำมาก¹¹

ในการทดสอบหา *H. pylori* ด้วยวิธี Realtime PCR กับ วิธี Catalase antigen test นั้นพบว่า การให้ผลบวกต่อการทดสอบ โดยวิธี Realtime PCR และวิธี Catalase antigen test คือ 40.57% กับ 42.00% ตามลำดับ แม้ว่า 8.84% ของตัวอย่างที่ตรวจพบผลบวกโดยวิธี Catalase antigen test จะตรวจไม่พบโดยวิธี Realtime PCR ในทางกลับกันพบว่า 5.63% ของตัวอย่างที่ตรวจพบผลบวกโดยวิธี Realtime PCR ตรวจไม่พบโดยวิธี Catalase antigen test ดังแสดงในตารางที่ 5 ซึ่งอาจเป็นผลจากข้อจำกัด ของเทคนิคกล่าวคือวิธี Catalase antigen test มีความไวที่ตรวจได้เท่ากับ 35 ng/ml และไม่เกิดปฏิกิริยาข้ามเกี่ยวกับเชื้อแบคทีเรียอื่นๆ¹² หากปริมาณแอนติเจนน้อยกว่านี้ จะไม่สามารถตรวจพบส่วนวิธี Realtime PCR มีข้อจำกัดเรื่องการมี inhibitor ใน extracted DNA เช่น bile salt¹³, bilirubin, complex polysaccharides¹⁴ ทำให้ความไวในการตรวจโดยวิธี Realtime PCR ลดลง¹⁵

การตรวจหา *H. pylori* จากตัวอย่างอุจจาระของผู้ที่มีสุขภาพปกติจำแนกตามพื้นที่เก็บตัวอย่างในประเทศไทยตาม ตารางที่ 2 พบว่า อัตราความชุกที่ตรวจพบโดยวิธี Realtime PCR และวิธี Catalase antigen test สูงที่สุดในตัวอย่างจากพื้นที่ภาคกลางและภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทยตาม ลำดับความชุกของทุกพื้นที่ไม่แตกต่างกันมาก ทั้งนี้ยังไม่เคยมีรายงานเปรียบเทียบเกี่ยวกับอัตราความชุกในพื้นที่ต่างๆ ของประเทศไทย ซึ่งควรมีการศึกษาวินิจฉัยต่อเนื่องเพื่อให้ได้ข้อมูลมากขึ้นดังแสดงใน ตารางที่ 3 สามารถชี้ให้เห็นได้ว่ากลุ่มอายุที่มากขึ้นอาจเป็น ปัจจัยเสี่ยงอย่างหนึ่งต่อการติดเชื้อ *H. pylori*

ตารางที่ 3. ปัจจัยด้านอายุต่อการตรวจพบ *H. pylori* ด้วยวิธี Catalase antigen test และ Realtime PCR

ช่วงอายุ (ปี)	จำนวนตัวอย่าง	ผลบวก <i>H. pylori</i> ด้วยวิธี Catalase antigen test และ Realtime PCR (%)	ค่า Odd Ratio	95% CI
15-35	94	36(37.50)	1	
36-50	150	57 (41.49)	1.1822	0.7003-1.9766
51-86	106	44 (48.48)	1.5686	0.8965-2.7445

ตารางที่ 4. ปัจจัยการดื่มสุราต่อการตรวจพบ *H. pylori* ด้วยวิธี Catalase antigen test และ Realtime PCR

การดื่มสุรา	จำนวนตัวอย่าง*	ผลบวก <i>H. pylori</i> ด้วยวิธี Catalase antigen test และ Realtime PCR (%)	ค่า Odd Ratio	95% CI
ไม่ดื่มสุรา	277	108 (38.99)	1	
ดื่มสุรา	71	39 (54.93)	1.9071	1.1268 - 3.2275

*2 ตัวอย่างไม่มีข้อมูลการดื่มสุรา

ตารางที่ 5. การตรวจหา *H. pylori* จากตัวอย่างอุจจาระของผู้ที่มีสุขภาพปกติโดยจำแนกตามโรงพยาบาล

โรงพยาบาล	จำนวนตัวอย่าง	ผลบวก 16 SrRNA ของ <i>H. pylori</i> ด้วยวิธี Realtime PCR	ผลบวก <i>H. pylori</i> ด้วยวิธี Catalase antigen test	ผลบวกของวิธี Realtime PCR ส่วน Catalase antigen test ให้ผลลบ	ผลลบของวิธี Realtime PCR ส่วน Catalase antigen test ให้ผลบวก	ผลบวกของทั้ง 2 วิธี	ผลลบของทั้ง 2 วิธี
จุฬาลงกรณ์	56	19 (33.93%)	19 (33.93%)	0	0	19	37
ราชวิถี	52	21 (40.38%)	22 (42.31%)	0	1	21	30
พระมงกุฎเกล้า	24	14 (58.33%)	7 (29.17%)	8	1	6	9
สุรินทร์	49	21 (42.86%)	23 (46.94%)	0	2	21	26
สวรรค์ประชารักษ์	86	39 (45.35%)	47 (54.65%)	0	8	39	39
ชลบุรี	33	6 (18.18%)	6 (18.18%)	0	0	6	27
มหาสารชนครราชสีมา	50	22 (44.00%)	23 (46.00%)	0	1	22	27
รวม	350	142 (40.57%)	147 (42.00%)	8 (5.63% ของผลบวกต่อวิธี Realtime PCR)	13 (8.84% ของผลบวกต่อวิธี Catalase antigen test)	134	195

ในประเทศไทย โดยค่า Odd ratio ของตัวอย่างที่ให้ผลบวกต่อ *H. pylori* ด้วยวิธี Catalase antigen test และ Realtime PCR จากกลุ่มประชากร อายุ 36-50 ปี และกลุ่มอายุ 51-86 ปี คือ 1.1822 และ 1.5686 ตามลำดับ ซึ่งตรงกับข้อมูลการศึกษาวิจัยของ Torres et al., 1998¹⁶ ที่พบว่าคนที่สูงอายุจะมีอัตราการติดเชื้อ *H. pylori* สูงขึ้นปัจจัยเสี่ยงที่สำคัญต่อการติดเชื้อ *H. pylori* อีกประการหนึ่งคือ การดื่มเครื่องดื่มแอลกอฮอล์¹⁷ ตามตารางที่ 4 พบว่าอัตราการพบ *H. pylori* ในตัวอย่างจากผู้ดื่มเครื่องดื่มแอลกอฮอล์สูงกว่า ผู้ที่ไม่ดื่มอย่างมีนัยสำคัญ โดยมีค่า Odd ratio 1.9071 และยังมีสิ่งที่น่าสนใจที่ศึกษาวิจัยเพิ่มต่อไปคือปัจจัยเหนี่ยวนำที่กระตุ้นให้เกิดมะเร็งกระเพาะอาหาร เช่น การศึกษาเรื่อง cagA gene¹⁸ การศึกษาของ Enroth, และคณะ¹⁹ พบว่า VacA และ CagA ยีนส์ เป็นปัจจัยหนึ่งที่สามารถกระตุ้นให้เป็นมะเร็งกระเพาะอาหารนอกจากนี้ยังมีปัจจัยต่างๆ ที่มีผลกระทบ เช่นวิถีชีวิต ความเครียด หรือเกี่ยวข้องกับการติดเชื้อชนิดอื่นๆ ร่วมกัน^{20, 21} เป็นต้น

สรุปผลการศึกษา พบว่าสามารถตรวจพบผลบวกของ *H. pylori* ในตัวอย่างอุจจาระของผู้ที่มีสุขภาพปกติ ซึ่งได้รับการตรวจยืนยันโดยแพทย์ผู้เชี่ยวชาญโรคกระเพาะอาหารด้วยการส่องกล้อง (Endoscope) โดยวิธี Realtime PCR และวิธี Catalase antigen test ซึ่งทั้งสองวิธีนี้เหมาะสมที่จะใช้ในการตรวจวินิจฉัยโรคและการพยากรณ์โรคได้ดี ดังนั้นถึงแม้เป็นผู้ที่มีสุขภาพปกติก็ควรต้องเฝ้าระวังและติดตามเนื่องจากมีแนวโน้มว่าอาจทำให้เสี่ยงต่อโรค มะเร็งกระเพาะอาหารได้ การตรวจหา *H. pylori* ด้วยวิธี Realtime PCR และวิธี Catalase antigen test เป็นวิธีที่สามารถตรวจได้รวดเร็วให้ผลวิเคราะห์แม่นยำเหมาะสมสำหรับงานสำรวจและงานระบาดวิทยา

เอกสารอ้างอิง

1. Brown LM. Helicobacter pylori: Epidemiology and routes of transmission. *Epidemiol Rev* 2000; 22: 283-97.
2. Vogiatzi P, Cassone M, Luzzi I, Lucchetti C, Otvos L Jr, Giordano A. Helicobacter pylori as a class I carcinogen: physiopathology and management strategies. *J Cell Biochem* 2007 Oct 1; 102(2): 264-73.
3. กลุ่มวิจัยโรคกระเพาะอาหาร สมาคมแพทย์ระบบทางเดินอาหารแห่งประเทศไทย. แนวทางการวินิจฉัยและรักษาผู้ป่วย dyspepsia และผู้ป่วยที่มีการติดเชื้อ Helicobacter pylori ในประเทศไทย กรุงเทพฯ: บริษัท จีรังค์ จำกัด, 2542
4. Wilson R, Lam V, Trinh L. CLO test in helicobacter gastritis. *ANZ J Surg* 2008; 78: 722.
5. Tatemichi M, Sasazuki S, Inoue M, Tsugane S. Clinical significance of IgG antibody titer against Helicobacter pylori. *Helicobacter* 2009 Jun; 14(3):231-6.
6. Jafarzadeh A, Ahmedi-Kahanali J, Bahrami M, Taghipour Z. Seroprevalence of anti-Helicobacter pylori and anti-CagA antibodies among healthy children according to age, sex, ABO blood groups and Rh status in south-east of Iran. *Turk J Gastroenterol* 2007; 18:165-71.
7. Hirai I, Sasaki T, Fujimoto S, Moriyama T, Azuma T, Yamamoto Y. A method for assessment of Helicobacter pylori genotype using stool specimens. *FEMS Immunol Med Microbiol* 2009; 56: 63 – 6.
8. Cardenas V, Dominguez D, Puentes F, et al. Evaluation of a novel stool native catalase antigen test for Helicobacter pylori infection in asymptomatic North American children. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2008; 46:399-402.
9. Fukuda Y, Tamura K, Tomita T, Hori K, Tanida N, Shimoyama T. Validation of the accuracy of the H pylori stool antigen test (HpSA) in the Japanese population. *Dig Liver Dis* 2003 Jan;35(1):62-3.
10. Yamazaki S, Shunji K, Norio M, et al. Identification of Helicobacter pylori and the cagA genotype in gastric biopsies using highly sensitive real-time PCR as a new diagnostic tool. *FEMS Immunol Med Microbiol* 2005; 44: 261 – 8.
11. Falsafi T, Valizadeh N, Najafi M, et al. Culture of Helicobacter pylori from stool samples in children. *Can J Microbiol* 2007 Mar; 53(3):411-6.
12. Suzuki N, Wakasugi M, Nakaya S, et al. Production and application of new monoclonal antibodies specific for a fecal Helicobacter pylori antigen. *Clin Diagn Lab Immunol* 2002 Jan; 9(1): 75-8.
13. Lantz PG, Matsson M, Wadström T, Rådström P Removal of PCR inhibitors from human faecal samples through the use of an aqueous two-phase system for sample preparation prior to PCR. *J Microbiol Meth* 1997; 28: 159-67.
14. Monteiro L, Bonnemaison D, Vekris A et al. Complex polysaccharides as PCR inhibitors in feces: Helicobacter pylori model. *J Clin Microbiol* 1997; 35: 995-8.
15. Kabir S. Detection of Helicobacter pylori DNA in feces and saliva by polymerase chain reaction: a review. *Helicobacter* 2004 Apr; 9(2): 115-23. H. pylori (6 –9).
16. Torres J, Leal-Herrera Y, Perez-Perez G, et al. A community-based seroepidemiologic study of Helicobacter pylori infection in Mexico. *JID* 1998; 178: 1089-94.
17. Namiot DB, Leszczynska K, Namiot Z, Kurylonek AJ, Kemon A. Smoking and drinking habits are important predictors of Helicobacter pylori eradication. *Adv Med Sci* 2008; 53: 310-5.
18. Satomi S, Yamakawa A, Matsunaga S, et al. Relationship between the diversity of the cagA gene of Helicobacter pylori and gastric cancer in Okinawa, Japan. *J Gastroenterol* 2006 Jul; 41(7):668-73.
19. Enroth H, Kraaz W, Engstrand L, Nyrén O, Rohan T. Helicobacter pylori Strain Types and Risk of gastric cancer a case-control study cancer. *Epidemiol Biomarkers Prev* 2000 Sep; 9(9): 981-5.
20. Namiot A, Kemon A, Namiot Z. Smoking habit and gastritis histology. *Adv Med Sci* 2007; 52: 191-5.
21. Suwanrungruang K, Sriamporn S, Wiangnon S, et al. Lifestyle-related risk factors for stomach cancer in Northeast Thailand. *Asian Pacific J Cancer Prev* 2008 ; 9: 71-5.