

บทที่ 1 บทนำ



ความสำคัญและที่มาของปัญหา

เชื้อ *Helicobacter pylori* เป็นเชื้อ bacteria ข้อมติคสี่แกรมลบ มีลักษณะลำตัวโค้งบิดเป็นเกลียว มี flagella พบอยู่บริเวณใต้ชั้นเยื่อเมือก(mucus)ของกระเพาะอาหารเหนือต่อเยื่อบุกระเพาะอาหาร (epithelium) หรือบริเวณรอยต่อของเซลล์โดยไม่เข้าไปในเซลล์ พบมากบริเวณกระเพาะอาหารส่วนปลาย (antrum) และบริเวณลำไส้เล็กส่วนต้น(duodenum)ที่มี gastric metaplasia ⁽¹⁾ พบครั้งแรกในปี 1982 ⁽²⁾ โดย Warren J R. และ Marshall B J. ⁽³⁾ แต่เดิมเชื่อนี้ เรียกว่า *Campylobacter pylori* แต่ในปี 1989 ได้เปลี่ยนชื่อ genus เป็น *Helicobacter pylori* เนื่องจากมีการเรียงตัวของ ribonucleic acid ต่างจาก genus *Campylobacter*

ในปัจจุบันเป็นที่ยอมรับกันแล้วว่าเชื้อ *Helicobacter pylori* มีความสัมพันธ์กับการเกิดแผลในกระเพาะอาหารและลำไส้เล็กส่วนต้น การกำจัดเชื้อ *Helicobacter pylori* ทำให้โอกาสแผลกลับเป็นซ้ำภายใน 1 ปี ลดลงจาก 60 - 85% เหลือเพียง 5 - 10% ⁽³⁾ นอกจากนั้นการติดเชื้อ *Helicobacter pylori* เรื้อรังยังทำให้โอกาสเกิดมะเร็งในกระเพาะอาหาร (gastric cancer) มากขึ้นทั้งชนิด adenocarcinoma และ lymphoma ⁽⁴⁾ ในประเทศไทย ผู้ป่วยที่เป็นแผลในกระเพาะอาหาร (gastric ulcer) พบเชื้อ *Helicobacter pylori* ประมาณร้อยละ 50 - 55 และแผลในลำไส้เล็กส่วนต้นพบร้อยละ 70 ⁽⁵⁾ ส่วนกรณีมีอาการของโรคกระเพาะอาหารแต่ไม่พบแผลและพยาธิสภาพอื่น (non ulcer dyspepsia) พบว่าติดเชื้อ *Helicobacter pylori* ประมาณ 55%

การวินิจฉัยการติดเชื้อ *Helicobacter pylori*

ในปัจจุบันการวินิจฉัยการติดเชื้อ *Helicobacter pylori* ทำได้หลายวิธี ได้แก่

1. การตรวจชิ้นเนื้อทางวิทยาฮิสโต (histologic examination) เพื่อหาเชื้อ *Helicobacter pylori*

ในปัจจุบันการตัดชิ้นเนื้อในกระเพาะมาตรวจทางวิทยาฮิสโตเพื่อตรวจหาเชื้อ *Helicobacter pylori* และภาวะ gastritis ถือเป็นการตรวจมาตรฐาน(gold standard) ของการวินิจฉัยการติดเชื้อ *Helicobacter pylori* ได้วิธีหนึ่ง ⁽⁷⁾ การตรวจทางวิทยาฮิสโตมีเทคนิคในการข้อมหาเชื้อ ได้หลายวิธีที่

นิยมใช้กันน้อยได้แก่ Hematoxylin-eosin stain, Giemsa stain หรือ Warthin-Starry stain มีความไว (sensitivity) ร้อยละ 90 และความจำเพาะร้อยละ 95-100 แต่เนื่องจากได้ผลช้าจึงทำให้ไม่เหมาะที่จะใช้เป็นการตรวจเบื้องต้นในการตรวจหาเชื้อ *Helicobacter pylori* และในกรณีที่เชื้อกระจายเป็นหย่อมๆ ในกระเพาะอาหารเช่น เพิ่งได้รับยาปฏิชีวนะ มาใหม่ๆ อาจเกิดผลลบปลอมได้

2. การเพาะเชื้อ

โดยการเพาะเชื้อที่ได้จากชิ้นเนื้อซึ่งได้จากการทำ endoscopic biopsy ถือว่าเป็นการตรวจที่มีความจำเพาะ (specificity) ดีที่สุดถึง 100% แต่มีความไว (sensitivity) ต่ำ ขึ้นอยู่กับความชำนาญของห้องปฏิบัติการในการเพาะเชื้อ⁽⁶⁾ ดังนั้นจึงไม่ใช่เป็นการตรวจเบื้องต้นเพื่อหาเชื้อ *Helicobacter pylori*

3. Rapid urease tests

เป็นการตรวจหาการติดเชื้อโดยอาศัยคุณสมบัติการสร้าง urease enzyme ของเชื้อ *Helicobacter pylori* วิธีการนี้ได้รับการเสนอครั้งแรกโดย Marshall B J และคณะ⁽⁸⁾ โดยทำ endoscopic biopsy และนำชิ้นเนื้อใส่ไว้ในสารละลายที่มี urea (urea solution) ถ้ามีเชื้อ *Helicobacter pylori* ในชิ้นเนื้อ ก็จะมี urease enzyme ซึ่งจะสลาย urea ได้เป็น ammonia จะทำให้ pH สูงขึ้นในสารละลาย สามารถทราบได้โดยสังเกตจากการเปลี่ยนสีของสารละลายซึ่งมี pH indicator คือ phenol red วิธีนี้สามารถวินิจฉัยการติดเชื้อ *Helicobacter pylori* ได้ในเวลาอันรวดเร็ว และมีความไว สูงถึงร้อยละ 91 - 98 และความจำเพาะร้อยละ 100 จึงเป็นวิธีที่นิยมใช้ตรวจหาการติดเชื้อ *Helicobacter pylori* มากที่สุด จะให้ผลลบปลอม (false negative) ในรายที่เพิ่งได้ยาปฏิชีวนะหรือยากลุ่ม proton pump inhibitor มาไม่เกิน 4 สัปดาห์⁽⁸⁾ เนื่องจากยาจะทำให้เชื้อกระจายไม่สม่ำเสมอเป็นหย่อมๆ ในกระเพาะอาหาร ส่วนผลบวกปลอมพบได้น้อยมากมีรายงานว่าพบในการใช้ CLO (Campylobacter Like Organism) test⁽⁹⁾ ที่หมดอายุแล้ว ส่วนตามทฤษฎีอาจเกิดจากเชื้อแบคทีเรียชนิดอื่นที่สามารถสร้าง urease enzyme ได้ โดยมักสร้างได้ปริมาณน้อยกว่าเชื้อ *Helicobacter pylori* เช่น *Proteus spp.* ซึ่งตามปกติจะไม่พบในกระเพาะอาหาร แต่ในบางภาวะ เช่น กระเพาะอาหารมีความเป็นกรดน้อยลง อาจพบเชื้อชนิดนี้ได้ แต่ในทางปฏิบัติพบว่า ยังไม่พบผลบวกปลอมจากสาเหตุนี้เลย

4. Carbon-13 และ Carbon-14 breath tests

เป็นการตรวจที่ไม่ก่อให้เกิดอันตราย (non invasive test) ทำโดยไม่ต้องอาศัยการทำ endoscopic biopsy เป็นวิธีที่ปลอดภัย หลักการคือใช้สาร isotope ^{13}C และ ^{14}C ทำเป็น carbon-labeled urea ให้รับประทานเมื่อรับประทานสาร isotope นี้ลงไป ในกระเพาะอาหารของผู้ที่ติดเชื้อ *Helicobacter pylori* enzyme urease ก็จะสลาย urea ได้เป็น ammonia และ carbon-labeled CO_2 ซึ่ง

จะเข้าสู่กระแสเลือดในรูปของ HCO_3^- และขับออกจากร่างกายทางลมหายใจออกในรูปของ CO_2 ภายหลังจากรับประทาน isotope ไปประมาณ 20-60 นาที (เฉลี่ย 40 นาที) พบว่ามีความไวประมาณร้อยละ 90 และ ความจำเพาะประมาณร้อยละ 96

5. การตรวจหาภูมิคุ้มกัน(antibody)ต่อเชื้อ *Helicobacter pylori*

การติดเชื้อ *Helicobacter pylori* จะทำให้มีการตอบสนองของร่างกายโดยการสร้างภูมิคุ้มกัน ในรูปของ IgG และ IgA. ซึ่งสามารถตรวจหาได้หลายวิธีได้แก่ complement fixation test, hemagglutination, immunofluorescence และ ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay) ปัจจุบันวิธีที่นิยมใช้กันคือ ELISA เนื่องจากได้ผลเร็ว ทำให้สะดวกและราคาถูก มีความไวร้อยละ 80-100 และ ความจำเพาะร้อยละ 75-100 แต่เนื่องจากอาจให้ผลบวกปลอมในรายที่เชื้อ *Helicobacter pylori* เพิ่งได้รับการกำจัดไปไม่นานเนื่องจากระดับภูมิคุ้มกันจะลดลงช้าหลังการกำจัดเชื้อเป็นเวลาหลายเดือน จึงมีที่ใช้บ่อยในการติดตามการรักษา

เนื่องจากเชื้อ *Helicobacter pylori* เป็นสาเหตุของโรคแผลในกระเพาะอาหารและลำไส้เล็กส่วนต้น (peptic ulcer), ภาวะอาหารอักเสบ (gastritis) และเป็นปัจจัยเสี่ยง (risk factor) ต่อการเกิดมะเร็งในกระเพาะอาหารทั้งชนิด gastric adenocarcinoma และ gastric lymphoma การกำจัดเชื้อ *Helicobacter pylori* ทำให้การเกิดเป็นซ้ำของแผลในกระเพาะอาหารและลำไส้เล็กส่วนต้นลดลง ดังนั้น ในผู้ป่วยที่เป็นแผลในกระเพาะอาหารหรือลำไส้เล็กส่วนต้น การตรวจเพื่อหาเชื้อ *Helicobacter pylori* และให้การรักษาก็เป็นสิ่งสำคัญมาก การตรวจเพื่อหาเชื้อ *Helicobacter pylori* มีหลายวิธี แต่ที่นิยมใช้อยู่ในโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ คือการตรวจหาด้วยวิธี rapid urease test โดยการใช้ CLO test[®] เนื่องจากได้ผลเร็ว, ทำให้สะดวกและมีราคาไม่แพงเมื่อเทียบกับการตรวจวิธีอื่นที่สามารถตรวจได้ในประเทศไทยคือการตรวจโดยวิทยาฮิสโต(ราคา 300 บาท) แต่อย่างไรก็ตามก็ยังเป็นการตรวจที่มีราคาค่อนข้างสูง คือราคา test ละ 206 บาท

ตั้งแต่ปี พศ. 2534 สาขาวิชาโรคทางเดินอาหารได้เริ่มทำการตรวจหาเชื้อ *Helicobacter pylori* จากการตัดชิ้นเนื้อในกระเพาะอาหารตรวจด้วยวิธี CLO test[®] ซึ่งพบว่ามี การตรวจเพิ่มมากขึ้นตามลำดับในแต่ละปี ดังนี้

	ปี 2534	2535	2536	2537	2538	2539	2540
จำนวนผู้ป่วย							
Gastroscope	1147	683	741	1153	1683	1906	2229
จำนวนการตรวจ							
CLO test [®]	58	61	14	50	280	565	945

จากสถิติที่ผ่านมาจะพบว่าการตรวจหาเชื้อ *Helicobacter pylori* ของสาขาวิชาโรคทางเดินอาหารมีมากขึ้นเรื่อย ๆ สาเหตุเกิดจากมีการเพิ่มปริมาณของผู้มารับบริการมากขึ้น และความรู้เกี่ยวกับเชื้อ *Helicobacter pylori* ที่พบว่าสัมพันธ์กับโรคแผลในกระเพาะอาหารและแผลในลำไส้เล็กส่วนต้น ทำให้แพทย์สนใจที่จะตรวจหาเชื่อดังกล่าวเพิ่มขึ้น

ในปี 2540 มีการใช้ CLO test[®] เพื่อตรวจหาเชื้อ *Helicobacter pylori* ที่สาขาโรคทางเดินอาหารถึง 945 ครั้งในการตรวจแต่ละครั้งต้องใช้ CLO test[®] 1 อัน ซึ่งราคาขายจากบริษัทในปัจจุบันราคาอันละ 206 บาท คิดเป็นจำนวนเงินทั้งสิ้น 194,670 บาท

การตรวจโดยการใช้น้ำ urease test ที่ผลิตขึ้นเอง (In-house) เพื่อตรวจหาเชื้อ แบคทีเรียบางชนิดที่สามารถสร้าง urease enzyme ได้ เช่น *Proteus* ได้มีการใช้กันมานานแล้วในห้องปฏิบัติการของภาควิชาจุลชีววิทยา ซึ่งใช้หลักการเดียวกันกับ CLO test[®] แต่มีราคาถูกกว่ามาก โดยมีราคาค่าตรวจครั้งละไม่ถึง 10 บาท ซึ่งสามารถที่จะนำมาใช้ตรวจหาเชื้อ *Helicobacter pylori* ได้ แต่เนื่องจากผลที่ได้จากการตรวจหาเชื้อ *Helicobacter pylori* โดยใช้น้ำ urease test ที่ผลิตขึ้นเอง อาจมีมาตรฐานต่างกันในแต่ละสถาบัน ซึ่งขึ้นอยู่กับ urea agar base ที่ใช้, การปรับระดับความเป็นกรด-ด่าง (pH) และลักษณะของ urease test ที่ผลิตขึ้นเอง ว่าเป็นของเหลว (broth) หรือ วุ้น (agar) ซึ่ง urease test ที่ผลิตขึ้นเองของภาควิชาจุลชีววิทยาจะใช้ urea agar base (BBL[®]) ที่ผลิตโดยบริษัท Becton Dickinson (Microbiology Systems Cookey ville M D. 21030, USA.) โดยทำเป็นวุ้น (agar) และปรับ pH ให้เท่ากับ 6.0

ซึ่งถ้าผลการตรวจโดยการใช้น้ำ urease test ที่ผลิตขึ้นเองซึ่งจัดเตรียมโดยภาควิชาจุลชีววิทยาได้ผลแม่นยำและน่าเชื่อถือได้ดีเมื่อเทียบกับการตรวจทางวิทยาฮิสโตก็จะสามารถนำมาใช้ตรวจหาเชื้อ *Helicobacter pylori* ซึ่งจะช่วยให้ประหยัดค่าใช้จ่ายที่ต้องใช้ในการจัดซื้อ CLO test[®] ของโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ซึ่งต้องนำเข้าจากต่างประเทศได้เป็นเงินจำนวนมาก

มีการศึกษาการใช้ urease test ที่ผลิตขึ้นเองในประเทศไทยพบว่าการอ่านผลหลัง 24 ชั่วโมง อาจให้ความไวในการวินิจฉัยการติดเชื้อ *Helicobacter pylori* มากขึ้น⁽¹⁰⁾ และมีรายงานว่าการทำ urease test ที่ผลิตขึ้นเองเป็นชนิด agar อาจจะทำให้ความไวดีกว่าเป็นชนิด broth ส่วนการศึกษาเปรียบเทียบ urease test ที่ผลิตขึ้นเองเทียบกับการตรวจทางวิทยาฮิสโต ยังไม่มีผู้รายงานในประเทศไทย

การทราบความไวของการตรวจมีความสำคัญในการดูแลรักษา ผู้ป่วยทางคลินิก ถ้า ความไวของการตรวจด้วย urease test ที่ผลิตขึ้นเองต่ำ แพทย์อาจจะต้องตัดชิ้นเนื้อ แช่ formalin เพื่อไว้ทุกครั้ง ที่ตัดชิ้นเนื้อจากกระเพาะมาตรวจ โดย 2 ชิ้น ตรวจด้วย urease test ที่ผลิตขึ้นเอง อีก 2 ชิ้น แช่ formalin ไว้ สำหรับตรวจหาเชื้อ *Helicobacter pylori* ทางวิทยาฮิสโต ในกรณี urease test ที่ผลิตขึ้นเอง ให้ผลลบเพื่อป้องกันผลลบปลอม

ดังนั้น จึงมีความจำเป็นที่ควรจะศึกษาเพื่อทราบความไวของ urease test ที่ผลิตขึ้นเอง ของ รพ.จุฬาฯ เพื่อประโยชน์ในการตัดสินใจว่าควรทำ biopsy เพื่อไว้สำหรับส่ง ตรวจทางวิทยาฮิสโต หรือไม่ นอกจากนั้นยังเพื่อหาคำตอบว่า ควรจะอ่านผลภายหลัง 24 ชั่วโมงหรือไม่ ถ้าใช้ urease test ที่ผลิตขึ้นเอง แทน CLO test[®] เนื่องจาก เท่าที่มีข้อมูลการศึกษาในประเทศไทย อาจมีความจำเป็นที่จะต้องอ่านผลหลัง 24 ชั่วโมงเพื่อจะให้ได้ความไวเพิ่มขึ้น⁽¹⁰⁾

แนวทางการวิจัย

จะทำการตรวจหาเชื้อ *Helicobacter pylori* จากชิ้นเนื้อในกระเพาะอาหารด้วยวิธี rapid urease test โดยใช้ urease test ที่ผลิตขึ้นเองและ CLO test[®] เทียบกับการตรวจทางวิทยาฮิสโตเพื่อศึกษาถึงความแม่นยำ(accuracy)ของการตรวจด้วย urease test ที่ผลิตขึ้นเองและการตรวจด้วย CLO test[®] ว่าเป็นเท่าไรเมื่อเทียบกับการตรวจทางวิทยาฮิสโต

สมมติฐาน

การตรวจหาเชื้อ *Helicobacter pylori* จากชิ้นเนื้อที่ตัดจากกระเพาะอาหารด้วยวิธี rapid urease test โดยการใช้ CLO test[®] และ urease test ที่ผลิตขึ้นเองจะได้ผลการตรวจที่มีความแม่นยำดี ใกล้เคียงกันเมื่อเทียบกับการตรวจทาง วิทยาฮิสโต

วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย

วัตถุประสงค์หลัก

เพื่อศึกษาความแม่นยำ (accuracy) ของการตรวจหาเชื้อ *Helicobacter pylori* ด้วยวิธี rapid urease test โดยใช้ urease test ที่ผลิตขึ้นเองและ CLO test[®] ว่ามีความแม่นยำเท่าไรเมื่อเทียบกับการตรวจทาง วิทยาฮิสโต

วัตถุประสงค์รอง

1. เพื่อศึกษาความไว และความจำเพาะ ของ rapid urease test ทั้งชนิด urease test ที่ผลิตขึ้นเองและ CLO test[®] โดยใช้การตรวจทาง วิทยาฮิสโตเป็นการตรวจมาตรฐาน
2. เพื่อศึกษาว่าการอ่านผลของ in-house rapid urease test หลัง 24 ชั่วโมงสามารถทำให้ความไวในการตรวจหาเชื้อ *Helicobacter pylori* เพิ่มขึ้นหรือไม่

ผลหรือประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากการวิจัย

ถ้าผลการศึกษาพบว่า การตรวจโดย CLO test[®] และ urease test ที่ผลิตขึ้นเองที่โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ ได้ผลความน่าเชื่อถือเท่าเทียมกัน ทางหน่วยทางเดินอาหารสามารถนำ urease test ที่ผลิตขึ้นเอง มาใช้แทน CLO test[®] ซึ่งจะช่วยให้ประหยัดค่าใช้จ่ายประมาณ ปีละ 100,000-200,000 บาท นอกจากนั้น ยังสามารถนำไปใช้ในโรงพยาบาลอื่น ๆ ได้เนื่องจากการทำ urease test ที่ผลิตขึ้นเอง สามารถทำได้ง่าย ซึ่งจะช่วยให้ประหยัดเงินตราต่างประเทศ ที่ต้องเสียไปในการซื้อ CLO test[®] ได้เป็นจำนวนมากในแต่ละปี รวมทั้งจะทำให้ทราบว่าถ้า นำ urease test ที่ผลิตขึ้นเองมาใช้ควรอ่านผลหลัง 24 ชั่วโมงหรือไม่ และความไว ความจำเพาะ ความแม่นยำของผลการตรวจมีมากน้อยเท่าไร ซึ่งจะมีผลต่อการกำหนดแนวทางในการปฏิบัติว่าควรมีการตรวจด้วยวิธีอื่นเพิ่มเติม เช่น การตรวจทาง วิทยาฮิสโตในกรณีที่ urease test ที่ผลิตขึ้นเองได้ผลลบหรือไม่