

ความน่าเชื่อถือของการใช้ biopsy urease test kit ซ้ำ ในการวินิจฉัยเชื้อ *Helicobacter pylori* จากชิ้นเนื้อ gastric biopsy

พัฒนพงศ์ นาวิเจริญ*

Navicharem P. The reliability of reusing the biopsy urease test kit for the diagnosis of *Helicobacter pylori* from gastric biopsy specimen. Chula Med J 1999 Oct; 43(10): 759-63

Objective : Biopsy urease test kit has been generally used as a diagnostic tool for *Helicobacter pylori* infection from gastric biopsy specimen. The organism itself plays an important role in the pathogenesis of peptic ulcer and various gastroduodenal diseases. The test kit is easy to use and yield high accuracy results. Its major disadvantage is the cost of the kit. We have reused the kit and evaluate its efficacy.

Methods : A prospective study at the endoscopic unit, surgical outpatient department, Chulalongkorn hospital. 20 patients with the diagnosis of peptic ulcer or gastritis were included. After endoscopic examination, two gastric biopsies from antrum were obtained from each individual. One specimen was embeded in new urease test kit and the other in the used one which demonstrated negative result from previous procedure.

Result : The accuracy was 100% when compare between the new and used test kit performed for 40 specimens from 20 subjects.

Conclusion : Biopsy urease test kit could be reused for diagnosis of *Helicobacter pylori* infection from gastric biopsy specimen with 100% accuracy when compare to the new test kit.

Key words : Biopsy urease test kit, Reusing, Reliability

Reprint request: Navicharem P, Department of Surgery, Faculty of Medicine, Chulalongkorn University, Bangkok 10330, Thailand.

Received for publication. June 5, 1999.

การวินิจฉัยการติดเชื้อ *Helicobacter pylori* ในผู้ป่วยโรคแผลกระเพาะอาหาร และ duodenum มีความสำคัญอย่างยิ่งในการวางแผนการรักษาผู้ป่วย วิธีที่นิยมใช้มากที่สุดในปัจจุบันคือการใช้ biopsy urease test kit ซึ่งสะดวกและให้ผลแม่นยำ แต่ก็ยังมีราคาค่อนข้างแพง ผู้ป่วยหลายรายที่มาส่งกล้องทางเดินอาหารในครั้งแรก มักจะไม่ได้รับการตรวจนี้ ต่อเมื่อรักษาโรคไม่หายจึงทำการส่องกล้องซ้ำ และตัดชิ้นเนื้อมาตรวจหา *Helicobacter pylori* อีกที ซึ่งขั้นตอนดังกล่าวยุ่งยาก เสียเวลา ผู้ป่วยต้องรับการส่องกล้องซ้ำ ซึ่งเพิ่มความทรมานและสิ้นเปลืองค่าใช้จ่าย ดังนั้นการตรวจหาเชื้อนี้ ตั้งแต่ครั้งแรกที่ทำการส่องกล้องทางเดินอาหารส่วนบน ในผู้ป่วยทุกราย จึงมีประโยชน์เป็นอย่างยิ่ง

หลักการและเหตุผล

เนื่องจากเชื้อ bacteria *Helicobacter pylori* มีบทบาทสำคัญในโรคหลายอย่างของกระเพาะอาหาร การมีข้อมูลเกี่ยวกับ *Helicobacter pylori* ในผู้ป่วยที่ได้รับการทำ gastroscopie โดยเฉพาะผู้ป่วย peptic ulcer จึงเป็นสิ่งสำคัญและน่าจะตรวจหาเชื้อในผู้ป่วยทุกราย การใช้ biopsy urease test kit เป็นวิธีตรวจที่สะดวกและเป็นที่ยอมรับมากที่สุด วิธีหนึ่ง การใช้ test kit เหล่านี้ซ้ำ โดยเลือก test kit ที่เคยใช้แล้วแต่ได้ผลลบ มาใช้อีก น่าจะเป็นวิธีที่ช่วยประหยัดค่าใช้จ่ายและทำให้ความเป็นไปได้ในการทำ test นี้ในผู้ป่วยทุกคนที่ทำ gastroscopie มีมากขึ้น

Test kit เหล่านี้จะเปลี่ยนสีก็ต่อเมื่อสัมผัสกับ urease enzyme ดังนั้นชิ้นเนื้อที่ไม่มี urease enzyme จึงไม่น่ามีผลใด ๆ กับสารใน test kit และน่าจะนำ test kit เหล่านั้นมาใช้ซ้ำโดยได้ผลถูกต้องเหมือน test kit อันใหม่

วัสดุและวิธีการ

เป็นการวิจัยแบบไปข้างหน้าแบบ random ในผู้ป่วยที่มารับการส่องกล้องระบบทางเดินอาหารส่วนบนที่

หน่วยส่องกล้องทางเดินอาหารของผู้ป่วยนอก ตึก ภปร ชั้น 6 และได้มีการวินิจฉัยว่าเป็น peptic ulcer หรือ gastritis จำนวน 20 ราย ผู้ป่วยจะได้รับการทำ biopsy ชิ้นเนื้อจากกระเพาะอาหาร จำนวน 2 ชิ้น (ในบริเวณ antrum ทั้ง 2 ชิ้น จากจุดที่อยู่ติดกัน)

ฝังชิ้นเนื้อชิ้นหนึ่งลงใน biopsy urease test kit อันใหม่ (ในการทดลองนี้ใช้ CLO test^R ซึ่งนิยมใช้ค่อนข้างแพร่หลาย) และฝังชิ้นเนื้ออีก 1 ชิ้น ไว้ใน test kit อันเก่าที่เคยใช้มาก่อนแล้ว แต่ได้ผลเป็นลบ (Test kit ที่ใช้ซ้ำเป็น test kit ที่เคยทิ้งไว้ในอุณหภูมิห้องเป็นเวลา 24 ชั่วโมงเพื่ออ่านผลเมื่อตอนที่ใช้เป็นครั้งแรก จากนั้นเมื่อพบว่าผลเป็นลบ จึงนำเก็บไว้ในตู้เย็นอุณหภูมิ รวดเวลาที่จะนำกลับมาใช้ซ้ำ) วาง test kit ทั้งสองไว้ในอุณหภูมิห้อง 24 ชั่วโมง อ่านผลจาก test kit ทั้ง 2 อัน

หมายเหตุ

การอ่านผล CLOtest ที่ช่วงเวลาตั้งแต่ 2 ± 0.6 ชั่วโมงขึ้นไป มี sensitivity 93% กับมี specificity สูง 99 – 100%⁽¹⁾ พบว่าหาก incubate test kit ในอุณหภูมิ 37°C จะอ่านผลได้เร็วขึ้น แต่หากทิ้งไว้เกิน 2 ชั่วโมงแล้วค่อยอ่านผลก็ไม่แตกต่างจากชิ้นที่ทิ้งไว้ในอุณหภูมิห้อง⁽²⁾

ผลการวิจัย

ผู้ป่วยจำนวน 20 ราย เป็นผู้ชาย 12 ราย ผู้หญิง 8 ราย ช่วงอายุ 21-78 ปีเฉลี่ย 51.75 ปี ได้รับการวินิจฉัยจาก gastroscopie ว่าเป็น gastritis 5 ราย, gastric ulcer 7 ราย, duodenal ulcer 8 ราย โดยมีผลการตรวจ biopsy urease test ดังนี้ (ตารางที่ 1)

ระยะเวลาที่เก็บ test kit ไว้รอใช้ซ้ำนาน 1-105 วัน (เฉลี่ย 28.5 วัน) ไม่พบ test kit ที่เน่าเสียหรือเปลี่ยนสี เปลี่ยนสภาพไปจนใช้ไม่ได้ test kit ที่ใช้ซ้ำ ยังมีระยะเวลา ก่อนหมดอายุเหลือตามที่ระบุไว้ในฉลากไม่น้อยกว่า 5 เดือน (ตารางที่ 2)

ตารางที่ 1. ผลการตรวจ biopsy urease test

Urease biopsy test kit อันใหม่			
การวินิจฉัย	ผลการ test เป็นบวก	ผลการ test เป็นลบ	ความแม่นยำจาก test ที่ใช้ซ้ำ
Gastritis	1	4	ตรงกันทุกราย
Gastric ulcer	5	2	ตรงกันทุกราย
Duodenal ulcer	5	3	ตรงกันทุกราย

ตารางที่ 2. ระยะห่างระหว่างการใช้ Test kit ที่ใช้ซ้ำ และระยะเวลาก่อนหมดอายุ

ผู้ป่วยรายที่	Test Kit ที่ใช้ซ้ำห่างจากครั้งแรก	Test Kit ที่ใช้ซ้ำยังมีระยะเวลาก่อนหมดอายุ
	(วัน)	(เดือน)
1	48	10
2	28	5
3	13	5
4	105	8
5	89	8
6	29	7
7	22	7
8	7	13
9	8	13
10	25	6
11	1	17
12	47	12
13	43	7
14	13	6
15	17	6
16	20	12
17	5	12
18	21	7
19	14	6
20	14	6

สรุป และวิจารณ์

Helicobacter pylori เป็นเชื้อ bacteria ที่มีการค้นพบ และถูกศึกษาอย่างแพร่หลายรวดเร็วที่สุดในปัจจุบันหลังจากมีการรายงานเป็นครั้งแรก ว่าเชื่อนี้ อาจเป็นสาเหตุของ active chronic gastritis ลงในวารสาร Lancet (1983)⁽³⁾ ก็ได้มีการศึกษาอย่างจริงจังถึงความสัมพันธ์ของเชื้อกับการก่อให้เกิดโรคหลายอย่างของ stomach และ duodenum ได้แก่ gastritis, gastric ulcer,⁽⁴⁾ duodenal ulcer,⁽⁴⁾ lymphoma และ gastric cancer⁽⁵⁾

เชื้อ *Helicobacter pylori* จะอยู่ในกระเพาะอาหารของบริเวณที่มี mucous secreting cell โดยจะอยู่ใต้ชั้น mucous layer ซึ่งมี pH สูงกว่าบริเวณผิว เชื้อสามารถปกป้องตัวเองจากกรดด้วยการหลั่ง enzyme urease เพื่อย่อย urea ในกระเพาะอาหารให้เกิดเป็น ammonia ซึ่งมีฤทธิ์เป็นด่างคุณสมบัติข้อนี้เองที่นำมาใช้ในการวินิจฉัยการติดเชื้อ ซึ่งอาจประยุกต์ใช้ได้หลายวิธีรวมทั้งการใช้ test kit เพื่อ detect urease enzyme ด้วย เราสามารถพบเชื้อ *Helicobacter pylori* ได้ในทุกส่วนของกระเพาะอาหารที่มี gastric gland แต่จะพบมากที่สุดบริเวณ antrum

ในการรักษา peptic ulcer ที่มีเชื้อ *Helicobacter pylori* ถ้ากำจัดเชื้อได้จะทำให้โอกาสที่จะเกิดแผลอีกมีน้อยมากเนื่องจากการเปลี่ยนแปลง Natural history ของโรค การวินิจฉัยว่ามีการติดเชื้อ *Helicobacter pylori* ร่วมด้วยหรือไม่ในผู้ป่วยก่อนเริ่มรักษา และการตรวจซ้ำหลังการรักษา 4 สัปดาห์ เพื่อยืนยัน eradication ของเชื้อ จึงมีความสำคัญอย่างยิ่ง

การวินิจฉัยที่มีใช้อยู่ในปัจจุบันแบ่งได้เป็น^(6,7,8)

1. Non invasive test

1.1 Serological test for *Helicobacter pylori* เนื่องจากเชื้อสามารถกระตุ้นให้เกิด antibody response ได้ โดยสามารถตรวจได้จาก serum, blood, น้ำลาย หรือ gastric biopsy โดยวิธี ELISA หรือ Western blot ปัจจุบันมี IgG test ผลิตออกมาหลากหลายเหมาะที่จะใช้สำหรับการ screening มี sensitivity สูงแต่อย่างไรก็ตาม มี screening

specificity ต่ำมาก เพราะเมื่อผู้ป่วยติดเชื้อจะมี antibody สูง เมื่อได้รับการรักษาระดับก็อาจลดลงบ้าง แต่ผลการตรวจก็ยัง positive อยู่จึงบอกได้เพียงว่าผู้ป่วยเคยติดเชื้อมาก่อน แต่ไม่ได้บอกว่าปัจจุบันติดเชื้อหรือไม่

1.2 Urea breath test อาศัยหลักการว่าเชื้อสามารถ

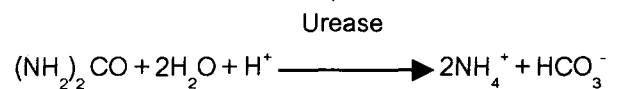
ย่อยสลาย urea จนเกิดเป็น ammonia และ bicarbonate ซึ่งเปลี่ยนสภาพต่อเป็น CO₂ ถูกดูดซึมเข้ากระแสเลือด แล้วขับออกทางลมหายใจ ดังนั้นถ้าให้ผู้ป่วยทาน urea ในรูปของ oral solution ที่ label ด้วย C13 หรือ C14 จากนั้นจึงใช้เครื่องมือตรวจวัด ¹³CO₂ หรือ ¹⁴CO₂ ที่ออกมากับลมหายใจก็จะได้ผลแม่นยำสูงมาก ข้อเสียที่สำคัญของ test นี้คือเครื่องมือมีราคาแพงมาก

2. Invasive test

2.1 Histology โดยการย้อม gastric biopsy โดย hematoxylin & eosin แต่ถ้าจะให้เห็นเชื้อชัดเจนควรย้อม Warthin-starry silver stain⁽³⁾ ซึ่งวิธีการค่อนข้างยุ่งยาก การดูตัวเชื้อโดยตรงจาก fresh preparation โดยใช้ phase contrast microscope ซึ่งมองหา typical spiral bacteria มีข้อเสียตรงที่ต้องมีการติดเชื้อในปริมาณมาก และผู้ดูต้องมีความชำนาญ⁽⁹⁾

2.2 Culture เป็น test ที่เป็น Gold standard ในการวินิจฉัย มี sensitivity สูงถึง 95% แต่ invasive ต้องการชิ้นเนื้อจากหลายบริเวณ ควรรีบเพาะเชื้อภายใน 2 ชั่วโมง การเพาะใช้เวลาจะใช้นางานวิจัย หรือในรายที่ให้การรักษาแล้วไม่ได้ผลต้องการหา susceptibility ต่อ antibiotic

2.3 Biopsy urease test โดยอาศัยหลักที่ว่า การตรวจพบ enzyme urease ในชิ้นเนื้อ biopsy จากกระเพาะอาหารน่าจะเกิดจากเชื้อ bacteria ที่ผลิต enzyme ได้ในปริมาณสูงซึ่งก็ได้แก่เชื้อ *Helicobacter pylori* นั้นเอง ชิ้นเนื้อจะถูกฝังลงใน container ที่มี urea บรรจุอยู่เกิดปฏิกิริยาดังนี้



ผลคือทำให้เกิด ammonium hydroxide ซึ่งจะ
ทำให้ความเป็นกรดลดลง เปลี่ยนสี indicator ซึ่งมักใช้
phenol red จากสีเหลืองเป็นแดง test นี้มีความสะดวก
รวดเร็วและแม่นยำสูง (ที่ 1 ชั่วโมงอ่านผลได้ถูกต้อง 85%
และ 24 ชั่วโมงถูกต้อง 95%) แนะนำให้ทำ biopsy จาก
antrum หรือ body ของ stomach จะช่วยเพิ่มความไวใน
การ detect เชื้อได้มากขึ้น⁽¹⁰⁾ มีชุดการตรวจสำเร็จรูปหลาย
ชนิด แต่ข้อเสียคือยังมีราคาค่อนข้างแพง

CLOtest จัดเป็น biopsy urease test kit ตัวหนึ่ง
ที่ได้รับความนิยมมาก และปัจจุบัน สมาคมแพทย์ระบบทาง
เดินอาหารแห่งประเทศไทย ได้ออก guideline และแนะนำ
ให้ใช้ CLO test เป็น standard investigation จากงานวิจัย
นี้พบว่า การนำ CLOtest ที่ได้ผลลบในการตรวจครั้งแรก
มาใช้ซ้ำกับผู้ป่วยรายที่สอง ให้ผลถูกต้องแม่นยำ 100%
จึงน่าจะเป็นวิธีหนึ่งที่ลดค่าใช้จ่ายของผู้ป่วยลง และเพิ่ม
ความเป็นไปได้ในการตรวจหาเชื้อในผู้ป่วยทุกราย เพื่อเป็น
ข้อมูลพื้นฐานประกอบการรักษาต่อไป

ถึงแม้ว่าระยะเวลาห่างระหว่างการใช้ test kit
ครั้งแรก กับครั้งที่สองอาจห่างกันได้เป็นเวลานาน (มากที่สุด
สุด 3.5 เดือนในรายงานนี้) ก็ตาม แต่ก็แนะนำว่าควรจะใช้
ซ้ำในระยะเวลาสั้นที่สุดเท่าที่จะเป็นไปได้

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบคุณ บริษัท TAKEDA (Thailand),
LTD. ที่ให้การสนับสนุนงานวิจัยนี้ ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่
ห้องส่งกล้องระบบทางเดินอาหารส่วนบน ตึก ภปร ชั้น 6
รพ.จุฬาลงกรณ์ ที่ให้ความช่วยเหลือในการเก็บรักษา test
kit และบันทึกข้อมูล ขอขอบพระคุณหัวหน้าภาควิชา
ศัลยศาสตร์ที่อนุญาตให้ส่งรายงานนี้ลงตีพิมพ์ เผยแพร่ใน
จุฬาลงกรณ์เวชสาร

อ้างอิง

1. Laine L, Lewin D, Naritoku W, Estrada R, Cohen H.
Prospective comparison of commercially
available rapid urease tests for the diagnosis

of *Helicobacter pylori*. *Gastrointest Endosc*
1996 Nov; 44(5): 523-6

2. Laine L, Estrada R, Lewin DN, Cohen H. The influence
of warming on rapid urease test results: a
prospective evaluation. *Gastrointest Endosc*
1996 Oct; 44(4): 429-32

3. Warren JR, Marshall B. Unidentified curved bacilli
on gastric epithelium in active chronic
gastritis. *Lancet* 1983 Jun 4; 1 (8336): 1273-5

4. Graham DY. *Helicobacter pylori*: its epidemiology
and its role in duodenal ulcer disease. *J*
Gastroenterol Hepatol 1991 Mar-Apr; 6(2): 105-13

5. Shibata T, Imoto I, Ohuchi Y, Tagushi Y, Takaji S,
Ikemura N, Nakao K, Stima T. *Helicobacter*
pylori infection in patients with gastric
carcinoma in biopsy and surgical resection
specimens. *Cancer* 1996 Mar 15; 77(6): 1044-9

6. Azuma T, Kato T, Hirai M, Kohli Y. Review Diagnosis
of *Helicobacter pylori* infection. *J Gastroenterol*
Hepatol 1996 Jul; 11(7): 662 - 9

7. Megraud F. Diagnosis of *Helicobacter pylori*
infection. *Scand J Gastroenterol* 1996; Suppl
214: 44-6

8. ประกิตพันธ์ ทมทิตชงค์. *Helicobacter pylori*: Basic
and surgical practice. *Thai J Surg* 1997; 18(2):
73-87

9. Daskopoulos G, Carrick J, Warburton V, O'Rourke
J, Lee A. On-the spot detection of *H.pylori*
infection: phase contrast microscopy versus
rapid urease testing. *Am J Gastroenterol*
1994 Aug; 89 (8): 1350

10. Weston AP, Campbell DR, Hassanein RS, Cherian
R, Dixon A, McGregor DH. Prospective,
multivariate evaluation of CLOtest performance.
Am J Gastroenterol 1997 Aug; 92(8): 1310-5