

Helicobacter pylori : Basic and surgical practice

ประกิดพันธุ์ ทมทิศงค์*

Prakitpunthu Tomtitchong. Helicobacter pylori : Basic and surgical practice. Thai J Surgery 1997;18(2): 73-87.

Since the discovery of *H. pylori* in early 1980s, this organism became the most popular topic for gastroenterologist discussed until now. Advances in the understanding of *H. pylori* infection have revealed this organism can cause chronic gastritis, peptic ulcers and recurrence of peptic ulcers. Close correlation between *H. pylori* infection and gastric cancer incidence was also reported, and IARC/WHO defined *H. pylori* infection as a definite carcinogenesis in 1994. *H. pylori* infection in our country is common and still regards Thailand as the endermic area. There are several data from many part of Thailand confirmed this fact since eight years ago. However, a few surgeon have become interested in this organism in according to it's role in the induction of gastroduodenal pathology.

This article had been made for reviewing the basic knowledge and clinical application especially for the surgical practice that may be useful for starting the treatment and study in this field. These included how to cure the peptic ulcer and prevent the recurrence after it's complications such as bleeding and perforation. It also pointed out the role in the induction of gastritis in the residual stomach that might relate to the recurrence of gastric cancer after cure resection and the possible of transmission of this organism during gastroscope procedure. And it's time for the surgeon to prevent the gastroduodenal disease that we was usually consulted for operation, not only to treat the disease.

Index: H. pylori, surgical practice

Reprint request: Prakitpunthu Tomtitchong
Department of Surgery, Faculty of Medicine,
Thammasat University,
Pathumthani 12120, Thailand

* Department of Surgery, Faculty of Medicine, Thammasat University

History

Helicobacter pylori ถือได้ว่าเป็นเชื้อ bacteria ที่มีการค้นพบ และถูกศึกษาอย่างแพร่หลายรวดเร็วที่สุดในปัจจุบัน เนื่องจากพบว่าเป็น the most common chronic infection in human ความจริงแล้วควรจะต้องจัดเป็นการถูกค้นพบขึ้นใหม่ เพราะจากการศึกษาย้อนหลัง คาดว่าเชื้อที่น่าจะเป็น *H. pylori* ได้มีการรายงานมาเป็นเวลานานแล้ว เพียงแต่ไม่สามารถ identify ได้จากการทำ culture เท่านั้น เชื้อ spiral bacilli ในกระเพาะอาหาร มีรายงานการค้นพบครั้งแรกเมื่อ 100 ปีก่อน โดย Bizzozero(1893)¹ และ Salomon(1896)² โดยมีรายงานถึง spiral bacilli ที่ colonize ในกระเพาะอาหารของสุนัข, แมวและหนู ซึ่งมักจะพบสัมพันธ์กับบริเวณที่มี parietal cell (จึงทำให้คิดถึงเชื้อที่น่าจะเป็น *H. pylori* ในปัจจุบันน้อยลง) หลังจากนั้น ได้มีการรายงานออกมาเป็นระยะเกี่ยวกับ spirochete ที่พบใน stomach เช่น ในรายงานของ Doenges (1939)³ ที่พบเชื้อลักษณะเดียวกันนี้ถึง 43% จากการทำ necropsy ของ stomach แต่ไม่ได้ตั้งข้อสงสัยเลยว่าเชื้อจะเป็นสาเหตุของโรคในระบบทางเดินอาหาร รายงานที่พบว่าเชื้อที่คาดว่าจะเชื้อ *H. pylori* มีความสัมพันธ์กับการเกิดโรคน่าจะเป็นของ Freedburg & Barron (1940)⁴ ซึ่งพบเชื้อลักษณะเดียวกันนี้ถึง 37% ใน gastrectomy specimen แต่ไม่มีผู้ใดสามารถ identify เชื้อได้โดยการทำ culture หลังจากนั้น Steer & Colin-Jones (1975)⁵ น่าจะเป็นผู้ค้นพบเชื้อตัวนี้ เพราะพบความสัมพันธ์ระหว่างเชื้อลักษณะเดียวกันนี้กับการเกิด gastritis (โดยสามารถ identify ได้จากการทำ electron microscope) แต่เมื่อทำ culture กลับได้เป็นเชื้อ *Pseudomonas aeruginosa*

ความสำเร็จในการ identify เชื้อ จากการทำ culture ของ gastric biopsy พบโดยบังเอิญโดย Robin Warren ซึ่งเป็น pathologist ที่ Royal Perth Hospital ประเทศ Australia ในปี 1981 และหลังจากนั้นได้มีการทำงานร่วมกันกับ endoscopist ในโรงพยาบาลเดียวกันชื่อ Barry J. Marshall ซึ่งในเวลาต่อมาทั้งคู่ได้ร่วมกันรายงานเป็นครั้งแรกเกี่ยวกับการค้นพบ gram negative spiral bacteria ที่น่าจะเป็นสาเหตุของ chronic active gastritis ตีพิมพ์ในวารสาร Lancet (1983)⁶ หลังจากนั้นได้มีการศึกษากันอย่างจริงจังเกี่ยวกับเชื้อ bacteria ตัวนี้ถึงความสัมพันธ์ในการก่อให้เกิด acute และ chronic gastritis, peptic ulcer, reflux esophagitis, MALT lymphoma หรือแม้กระทั่ง gastric cancer

Morphology

H. pylori เป็น S-shape หรือ curved gram negative rods with smooth coats ขนาดความกว้าง 0.5 - 0.9 μm ยาว 3 μm , non-sporing, สามารถเปลี่ยนรูปร่างเป็น coccoid form หลังจากถูกอากาศภายในเวลา 2 ชั่วโมง นอกจากนี้พบว่าเชื้อที่ได้จากการทำ culture จะมีการคลายเกลียวออก มีลักษณะของความเป็น bacilli ธรรมดามากขึ้น และยังสามารถพบร่วมกับ coccoid form ด้วย สำหรับ long-motile sheathed flagella จะพบเพียงข้างใดข้างหนึ่งของ cell และมักจะพบประมาณ 4 อัน (พบได้สูงสุดถึง 5 อัน)

Bacteriology and biochemical activity

ในระยะแรกของการค้นพบมีการเรียกชื่อ bacteria ตัวนี้ว่า *Campylobacter pyloridis* และพัฒนาเป็น *Campylobacter pylori* เนื่องจากพบว่ามันมีลักษณะใกล้เคียงกับเชื้อกลุ่ม *Campylobacter* มากที่สุด แต่ต่อมาพบว่ามีความแตกต่างกันหลายอย่างทาง morphology และ molecular microbiology ระหว่างเชื้อ Genus *Campylobacter* กับเชื้อที่ค้นพบใหม่⁷ โดยพบว่า *Campylobacter* จะมี single unsheathed flagellum ที่ปลายด้านใดด้านหนึ่งหรือทั้งสองด้านของ cell ซึ่งเชื้อที่พบใหม่จะมี four sheathed flagella ที่ปลาย cell ข้างเดียว จึงมีการเรียกชื่อกันใหม่และพัฒนาเป็น Genus และ species ใหม่ ให้ชื่อว่า *Helicobacter pylori*⁸

เชื้อมีลักษณะเป็น microaerophilic and require CO_2 for growth, non-saccharolytic, oxidase positive, vigorous catalase and urease positive, produce DNAase, alkaline phosphatase, leucine aminopeptidase and G-glutamyl-aminopeptidase, G+C content of DNA 35.2=1.0 mol %, เชื้อยังสามารถสร้าง protein inhibitor of acid secretion, adhesins และ 120 kDa cytotoxic protein

Strain and Virulency

ในปัจจุบันพบว่าผู้ป่วยส่วนใหญ่ที่มี *H. pylori* infection มักไม่แสดงอาการ อธิบายว่าน่าจะเป็นเพราะ *H. pylori* มีหลาย strain ขึ้นอยู่กับ genotype ของเชื้อเป็นหลักและแต่ละ strain ก็มีความแตกต่างในแง่ของความรุนแรงของโรค gene ที่มีการศึกษากันมากตั้งแต่ระยะแรกได้แก่ *Cytotoxin-associated gene A (cagA)* ซึ่งส่วนใหญ่มักเป็น non-toxigenic แต่คาดว่าจะเป็ marker ที่สำคัญของพยาธิสภาพ เช่น atrophic gastritis and

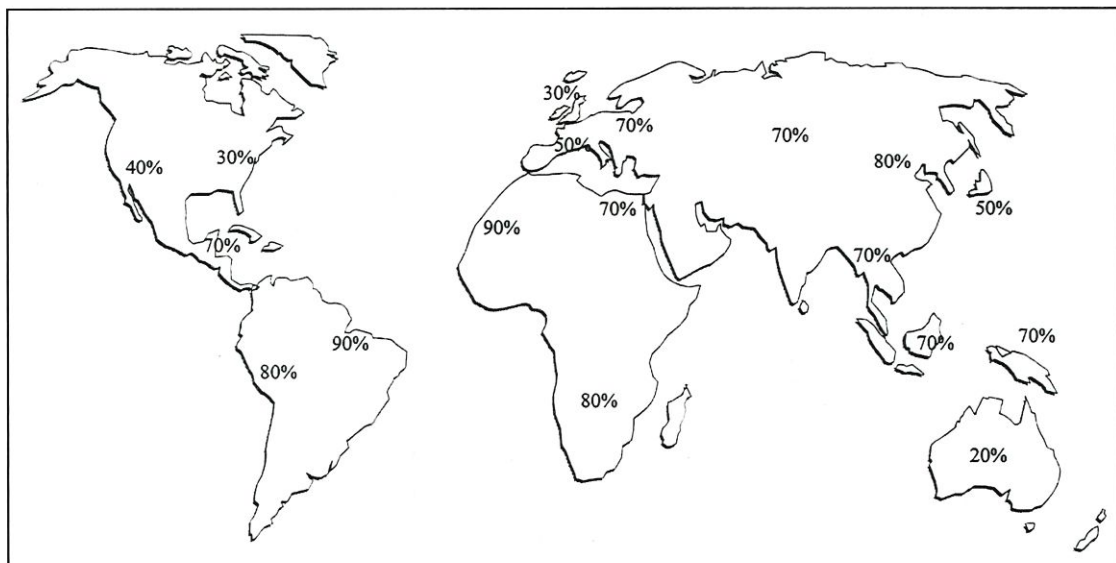
intestinal metaplasia⁹, P.U. (พบ *cagA* ร่วมด้วย 92%)¹⁰ และอาจจะเพิ่ม risk ต่อการเกิด gastric cancer¹¹ ต่อมาพบว่า มี gene ที่สำคัญตัวอื่นที่อาจเป็นสาเหตุในการเกิดโรค เช่น *Vacuolating cytotoxin gene (vacA)* ที่พบว่ามีความสัมพันธ์กับ virulence ของโรคโดยพอมจะมีข้อสรุปได้ว่า

- ถ้าพบทั้งคู่วางกันผู้ป่วยรายเดียว พยาธิสภาพมักจะ เป็นรุนแรง
- ความรุนแรงของโรคอาจขึ้นอยู่กับ expression ของ gene ว่าจะแสดงพยาธิสภาพหรือไม่¹²
- นอกจากนี้ host factors เช่น neutrophils activation, induction of epithelial cytokines, DNA damage จาก ammonia และ free radical อาจเป็นตัวบ่งชี้ที่สำคัญมากกว่า strain ของเชื้อเอง¹²

ปัจจุบันมีรายงานเกี่ยวกับการค้นพบ gene ตัวใหม่ เช่น *cagB*, *cagC* (บางคนเรียกชื่อเป็น *picA*, *picB*) และล่าสุด มีการค้นพบ *iceA* (induced by contact with epithelium gene A) แต่การศึกษาทั้งหมดยังอยู่ในระยะเริ่มต้น

Epidemiology

H. pylori พบได้บ่อยในบุคคลทั่วไป โดยเฉพาะอย่างยิ่งในประเทศกำลังพัฒนา ประชาชนมีฐานะยากจนมีความเป็นอยู่ที่แออัดในครอบครัว คาดว่า route of transmission คือ inter-human transmission (oral-oral, gastric-oral, fecal-oral) ผู้ติดเชื้อมักไม่ค่อยแสดงอาการ แต่ถ้าทำ gastroscopy & biopsy จะพบว่ามี chronic gastritis ร่วมด้วยเสมอ การติดเชื้อจะพบสูงขึ้นเรื่อยๆตามอายุ แต่เราสามารถพิสูจน์ได้ว่ามักเป็นการติดเชื้อมาตั้งแต่วัยเด็ก¹³ ตัวอย่างเช่น ใน U.S.A ผู้ติดเชื้อที่มีอายุสูงกว่า 70 ปีจะพบในอัตราสูง คาดกันว่าเกิดจากในวัยเด็กของคนกลุ่มนี้ (ก่อน ค.ศ. 1930) มีโอกาสติดเชื้อได้มากจาก contamination เพราะ hygiene ไม่ดีพอ ต่างจากบุคคลที่เกิดหลัง ค.ศ. 1950 ที่เราพบอัตราการติดเชื้อต่ำมาก (น้อยกว่า 20%) ในประเทศญี่ปุ่น คุณภาพชีวิตของประชาชนดีขึ้นหลัง ค.ศ. 1960 ผู้ที่เกิดในช่วงนี้ซึ่งจะมีอายุตั้งแต่ 40 ปีขึ้นไป จะพบอัตราการติดเชื้อที่สูง ในขณะที่เยาวชนชาวญี่ปุ่นปัจจุบันที่มีอายุต่ำกว่า 10 ปี มีอัตราการติดเชื้อต่ำมาก เท่ากับอัตราการติดเชื้อใน U.S.A.¹³



รูปที่ 1: epidemiology ของ *H. pylori* จำแนกตามถิ่นที่อยู่ตามส่วนต่างๆของโลก¹³

Habitat and pathogenesis

เชื้อ *H. pylori* จะอาศัยอยู่ได้ในกระเพาะอาหาร เฉพาะบริเวณที่มี gastric mucosa เท่านั้น และชอบที่จะอาศัยอยู่บริเวณที่มี mucus secreting cell มากกว่าบริเวณอื่น bacteria จะอาศัยอยู่ที่บริเวณรอยต่อระหว่างชั้น mucus bicarbonate layer ซึ่งปกคลุมและป้องกัน gastric mucosa จาก gastric juice ซึ่งในบริเวณนี้จะพบว่าค่า pH จะเป็นกลางมากที่สุด (พบว่าบริเวณด้านบนของชั้น mucus layer ซึ่งสัมผัสกับ gastric juice โดยตรงจะมีค่า pH ประมาณ 2 ส่วนด้านล่างบริเวณที่เป็นรอยต่อกับ gastric epithelial จะมีค่า pH ประมาณ 6) คาดว่าหลังจากได้รับเชื้อเข้าสู่กระเพาะอาหารโดยการกลืน ขณะเชื้อสัมผัสกับสภาวะกรด เชื้อจะปกป้องตัวเองด้วยการหลั่ง enzyme urease เพื่อย่อย urea ในกระเพาะอาหารให้เกิดเป็น ammonia ซึ่งมีฤทธิ์เป็นด่าง จึงเกิดเป็นลักษณะคล้าย buffer เพื่อป้องกันการถูกย่อยจากน้ำย่อยในกระเพาะอาหาร (คุณสมบัติข้อนี้เองที่นำมาสู่การวินิจฉัยการติดเชื้อโดย test หา urease enzyme จากชิ้นเนื้อ) จากนั้นเชื้อจะอาศัยรูปร่างที่เป็น spiral เคลื่อนตัวผ่านเข้าสู่ชั้น mucus layer พบว่า bacteria จะ colonize ที่ gastric epithelium มีการยึดติดกับผิวด้านนอกของ cell โดยการหลั่ง adhesins นอกจากนี้จากการศึกษาด้วยกล้อง electron microscope บางครั้งพบว่า bacteria มีการ contact กับ gastric gland โดยการใช้ pedestral attachment อีกด้วย การศึกษาในระยะหลังพบว่า host factor เองก็มีความสำคัญต่อการเกิด infection เช่น พบว่า Lewisb antigen ของผู้ป่วยจะสัมพันธ์กับการเกิด adhesion ของเชื้อกับ gastric mucosa cell

เป็นที่ทราบกันว่า *H. pylori* จะเกาะติดอยู่ภายนอกของ gastric mucosa cell ในบางครั้งเราพบเชื้อใน canaliculi ของ parietal cell ซึ่งคาดว่าเชื้อจะไปดักย่อย urea ที่มีการส่งผ่านระหว่าง cell ทาง intercellular junction เพื่อนำมาใช้เป็นพลังงาน นอกจากนี้เรายังสามารถพบเชื้อตาม gastric pit หรืออาจพบอยู่ใน lysosomes ของ phagocyte หรือ ใน endocytic vacuoles แต่เราไม่พบหลักฐานที่แสดงว่าเชื้อเข้าสู่ cell โดยตรงและทำลาย cell โดยการติดเชื้อจากภายใน cell เราอาจกล่าวได้ว่า *H. pylori* จะ infect อยู่ภายนอกร่างกาย และเป็นคำอธิบายว่า ทำไมร่างกายจึงไม่สามารถกำจัดเชื้อได้โดยใช้ระบบ cell-mediated หรือ humoral immune responses

H. pylori and gastritis

H. pylori จะให้ enzyme ที่มีฤทธิ์ cytotoxic และ urease ซึ่งจะ breakdown ชั้น mucus layer ร่วมกับทำให้เกิด hydrogen ion back diffusion ภายใน parietal cell จึงมีการทำลาย cell อย่างรวดเร็ว (Blaser and parsonnet 1994¹⁴) โดยจะแสดงภาวะ transient hypochlorhydria ในระยะแรกที่มีการติดเชื้อ การหลั่ง bacterial product, การกระตุ้น T cell-B cell จะทำให้มีการสร้าง IgG, IgM, IgA ร่วมกับการกระตุ้นการหลั่ง cytokines และ interleukins (ที่สำคัญคือ IL-8) ทำให้มี neutrophil infiltration ในชั้น mucosa นอกจากนี้ inflammatory cell จะกระตุ้นการหลั่ง oxygen free radicals product มีผลในการทำลายชั้น gastric mucosa เกิดภาวะ acute gastritis และผลของ cytokines ยังไป inhibit ต่อ D cell (ซึ่งหลั่ง somatostatin) ทำให้เกิดการเพิ่มขึ้นอย่างมากของ gastrin ทำให้เกิด hyperchlorhydria ในเวลาหลายเดือนต่อมา ร่วมกับมี infiltration ของ lymphocyte และ plasma cell เกิดเป็นระยะ chronic gastritis ในที่สุด และถ้าการอักเสบยังคงมี neutrophil infiltration ร่วมด้วย เราเรียกภาวะนี้ว่า chronic active gastritis

มีงานวิจัย 2 ชิ้น^{15,16} ที่ผู้ทดลองได้ทานเชื้อ *H. pylori* เข้าไปแล้วเกิดอาการของ acute gastritis with transient hypochlorhydria ซึ่ง confirm โดยการทำ biopsy แล้วปรากฏว่าเป็น *H. pylori*-induced gastritis การทดลองนี้ยืนยันว่าเชื้อก่อให้เกิดพยาธิสภาพใน stomach จริง ไม่ใช่เป็น normal flora ธรรมดา

ภาวะ chronic gastritis พบได้บ่อยในบุคคลทั่วไป ในผู้ป่วยที่เราทำ gastroscopy แล้วไม่พบความผิดปกติ ถ้าเรา biopsy มาข้อมดู จะพบมี chronic nonspecific gastritis ร่วมด้วยอยู่เสมอ เราสามารถแบ่งภาวะ chronic gastritis ออกได้เป็น 2 ชนิด คือ chronic fundal gastritis (typeA) ซึ่งมักสัมพันธ์กับ pernicious anemia, achlorhydria และ parietal cell antibody การอักเสบชนิดนี้มักจะไม่พบ *H. pylori* infection แตกต่างจากอีกชนิดหนึ่งคือ chronic antral gastritis (typeB) ที่มีความสัมพันธ์ใกล้ชิดกับ *H. pylori* infection โดยพบว่าผู้ป่วยที่มีภาวะ chronic antral gastritis (type B) จะมีการติดเชื้อ *H. pylori* ร่วมด้วยสูง (ประมาณเกือบ 100%)¹⁷

H. pylori-associated gastritis มี character ที่สำคัญคือ

1. จะมี lymphocyte และ plasma cell เด่น แสดงลักษณะของ chronic gastritis ในชั้น lamina propria บางครั้งพบมี

- fibrotic process ร่วมด้วยเล็กน้อย
2. มักพบ lymphoid hyperplasia ในชั้น lamina propria
 3. neutrophil infiltration ในชั้น lamina propria โดยเฉพาะบริเวณส่วนลึกของ fovea จัดเป็นลักษณะพิเศษที่ใช้ในการวินิจฉัยภาวะ chronic active gastritis
 4. intestinal metaplasia ของ foveolar epithelium
 5. irregular surface epithelium
 6. loss of apical mucin
 7. formation ของ epithelial pit
 8. microerosion, conventional erosion และ ulcer
 9. colonization ของ *H. pylori* บริเวณ mucosal surface และ foveolar epithelium of gastric pit
 10. mucosal atrophy
- ถ้าพบข้อที่ 3-8 จะมีโอกาสพบ *H. pylori* infection ได้สูงมาก

***H. pylori* and gastric ulcer (G.U.)**

ดังที่ได้กล่าวมาแล้วว่า urease, ammonia และ protease สามารถย่อย glycoprotein ใน gastric mucus ทำให้กรดในกระเพาะสัมผัสกับ gastric mucosa โดยตรง นอกจากนี้ urease เองก็มีผลในการเกิด direct injury ต่อ gastric gland และยังทำให้เกิด back-diffusion ของ H^+ ion ซึ่งจะมีฤทธิ์ทำลาย cell ได้โดยตรง คาดว่าตามกลไกนี้จะเป็นสาเหตุของ G.U. ผู้ป่วย G.U. มีโอกาสพบ *H. pylori* infection ร่วมด้วยถึง 60-80%¹⁷

สันนิษฐานว่าในผู้ป่วย chronic active antral gastritis บางส่วนมีการดำเนินโรคเป็นชนิด pangastritis การอักเสบชนิดนี้เรามักจะพบร่วมกับ some degree of atrophy (multifocal atrophic gastritis) พยาธิสภาพดังกล่าวพบร่วมกับ G.U. ได้อย่างน้อย โดยมักจะมีการหลังกรดปรกติหรือน้อยลง

***H. pylori* and duodenal ulcer**

เราสามารถพบเชื้อ *H. pylori* ได้ในทุกส่วนของกระเพาะอาหารที่มี gastric gland แต่จะพบมากที่สุดบริเวณส่วน antrum โดยจะพบว่า *H. pylori* มีความสัมพันธ์กับ chronic active gastritis predominantly antrum (type B) อย่างชัดเจน และ gastritis ชนิดนี้ พบว่ามีการหลังกรดในอัตราปรกติจนถึงสูง มักไม่พบ atrophic gastritis ร่วม และมีความสัมพันธ์อย่างชัดเจนกับการเกิด D.U. อธิบายว่าการติดเชื้อ *H. pylori* ทำให้

เกิดการหลั่งของ gastrin สูงขึ้น ผลตามมาคือ hypersecretion ก่อให้เกิด duodenitis ตามมา นอกจากนี้ยังมีการอธิบายในแง่ของ colonization ของ bacteria ในบริเวณที่มี gastric metaplasia ใน duodenum (อันเป็นผลมาจาก hyperacidity และ duodenal bicarbonate) และก่อให้เกิดพยาธิสภาพแบบเดียวกับใน stomach ทำให้เกิด duodenitis และ D.U. ตามมา ในผู้ป่วย D.U. มีโอกาสพบ *H. pylori* infection ร่วมด้วยสูงถึง 95-100%¹⁷

***H. pylori* and gastric cancer**

ถ้าเราพบภาวะ chronic atrophic pangastritis จะพบว่าการหลังกรดจะลดลงอย่างมาก และเพิ่ม risk ในการเกิด gastric cancer

Correa (1992)¹⁸ ได้ตั้งทฤษฎีของ gastric carcinogenesis ที่เกิดจาก *H. pylori* infection ว่าอาจเกิดจาก process ดังนี้คือ เริ่มจากการก่อให้เกิด superficial gastritis ก่อนตามมด้วย chronic gastritis เมื่อเป็นนานขึ้นจะเกิดภาวะ atrophy ซึ่งจัดเป็น end stage of chronic gastritis และในขั้นนี้ เรามักจะตรวจไม่พบเชื้อ *H. pylori* เนื่องจาก gastric mucosa ได้ถูกทำลายไปหมดแล้ว (ตรวจพบแต่ทาง serology ที่แสดงว่ามีการติดเชื้อมาก่อน) เมื่อ gastric mucosa ถูกทำลายไป intestinal metaplasia คือผลตามมา (replacement of gastric mucus epithelium with intestinal brush-border and goblet cell-type epithelium) ซึ่งถือว่าเป็น precursor ของ dysplasia และ intestinal type adenocarcinoma ในที่สุด จนในบางครั้งสามารถเรียก chronic atrophic gastritis type B ว่าเป็น the most common precursor of intestinal type gastric adenocarcinoma การที่เราไม่สามารถตรวจพบเชื้อ *H. pylori* จาก lesion ที่กล่าวมาในระยะหลังๆ (แต่สามารถพบใน tissue โดยรอบที่ยังมี gastric mucosa หลงเหลืออยู่) จึงมักใช้คำว่า *H. pylori* เป็น “trigger” ของ gastric carcinogenesis มีทั้งผู้ที่เชื่อและไม่เชื่อในทฤษฎีนี้ แม้ในขณะนี้ก็ยังมีการโต้แย้งกันอยู่¹⁹ แต่จากข้อมูลปัจจุบัน WHO ได้ให้ความสำคัญกับ bacteria ตัวนี้ว่าเป็น carcinogenesis²⁰ และพบว่าในผู้ป่วย gastric cancer มีโอกาสพบ *H. pylori* infection ร่วมด้วย 72% จากการทำ gastric biopsy²¹ และ 90% จากการตรวจหาใน gastrectomy specimen²¹

มีการประมาณว่าผู้ติดเชื้อ *H. pylori* จะมีโอกาสเพิ่ม risk ในการเกิด gastric cancer มากกว่าปรกติประมาณ 9 เท่า²²

***H. pylori* and gastric lymphomas**

ปรกติเรามักไม่พบ lymphoid follicle ใน stomach แต่ถ้าพบมักบ่งบอกถึง chronic active antral gastritis²³ (ซึ่งมี *H. pylori* infection ร่วมด้วยถึง 90%) และจากการศึกษาพบว่า *H. pylori* อาจเป็นสาเหตุของ primary gastric MALT (mucosa-associated lymphoid tissue) lymphoma²⁴ พบว่าในผู้ป่วย MALT lymphoma จะมี *H. pylori* positive ถึงมากกว่า 90% ยิ่งไปกว่านั้น ในผู้ป่วย low-grade gastric lymphoma ที่ confine อยู่แต่ในบริเวณ mucosa พบว่ามี regression หลังทำ eradication of *H. pylori*²⁵

Diagnosis

I. Invasive tests

Histology

เราสามารถพบเชื้อได้จากการย้อม Hematoxylin & eosin แต่จะเห็นค่อนข้างยาก การย้อมที่สามารถพบเชื้อได้ชัดเจนคือ Warthin-Starry silver stain (Warren and Marshall, 1983)⁶ ซึ่งมีความแม่นยำสูงมากถึง 95% แต่วิธีการทำค่อนข้างยุ่งยาก นอกจากนี้ยังมีการใช้ Acridine orange (fluorescence), cresyl fast violet, Giemsa, Brown-Hopps, Toluidine blue และในปัจจุบันได้มีผู้พยายามศึกษาพัฒนาหาวิธีการย้อมที่สะดวกและได้ผลดี, ราคาถูกและมีความแม่นยำสูง ซึ่งมีรายงานออกมาเป็นระยะ นอกจากนี้ยังมีการทำ immune stain โดยการใช้ purified antigen ของเชื้อที่มีอยู่ก่อน มาสู่ขั้นตอนของการสร้าง antibody ซึ่งจะจับกับเชื้อในขณะย้อม เกิดเป็น immune complex ซึ่งจะมีสีแตกต่างจากบริเวณอื่นใน slide และสามารถ detect ได้โดยใช้กล้อง microscope ทั่วไป immune stain จึงมีความสำคัญในการยืนยันว่า เชื้อที่เราเห็นในการย้อมด้วย stain แบบต่างๆเป็นเชื้อ *H. pylori* จริง

Culture

การเพาะเชื้อ *H. pylori* จัดว่าเป็นวิธีการที่เป็น gold standard ในการวินิจฉัย แต่ invasive เพราะจะเป็นการเก็บชิ้นเนื้อจาก gastric biopsy และยังมี bias เนื่องจากจำเป็นต้องเก็บชิ้นเนื้อจากหลายบริเวณในกระเพาะอาหาร ในอดีตการทำ culture มักจะได้ผลไม่ดี แต่ในปัจจุบันได้มีการพัฒนาวิธีการเก็บชิ้นเนื้อ ทำการเพาะเชื้อในทันที (ภายใน 2 ชั่วโมงหลัง biopsy) และมีการเตรียม culture media ที่ดีขึ้นมาก พบว่าในมือของผู้เชี่ยวชาญ sensitivity สูงถึงประมาณ 95% และ

specificity สำหรับ culture lab ที่ดีควรเป็น 100% แต่อย่างไรก็ตาม กรรมวิธีที่ยุ่งยากยังเป็นปัญหาอยู่ อีกทั้งยัง invasive เพราะต้องทำ gastroscopy ในผู้ป่วยทุกราย จึงมีการทำ culture กันแต่ในงานวิจัยเป็นส่วนใหญ่ ปัจจุบันแนะนำให้ทำ culture ในกรณีที่ต้องการทราบ bacterial susceptibility ต่อ antibiotic ในกรณีที่การรักษาไม่ได้ผล หรืออยู่ในแหล่งที่เชื่อมีการดื้อยาสูง นอกจากนี้ culture ยังมีความจำเป็นในการศึกษาถึงคุณสมบัติต่างๆของเชื้อ เช่น strain, virulence factors (urease, catalase, cytotoxin production), antigen เพื่อประโยชน์ในการพัฒนา lab. investigation, antibiotic และ antiulcer therapy ที่เหมาะสม หรือแม้กระทั่ง vaccine เป็นต้น

Biopsy urease test

โดยอาศัยหลักการที่ว่า การตรวจพบ enzyme urease ในชิ้นเนื้อน่าจะเกิดจาก bacteria ในกระเพาะอาหารที่สามารถผลิต enzyme ได้ในปริมาณสูง ซึ่งก็ได้แก่เชื้อ *H. pylori* นั่นเอง ชิ้นเนื้อจะถูกบรรจุเข้าใน test container ที่มี urea บรรจุอยู่ เกิดผลดังนี้



ผลคือ ทำให้เกิด ammonium hydroxide ซึ่งจะทำให้ความเป็นกรดลดลง และสามารถเปลี่ยนสี indicator (ส่วนใหญ่มักใช้ phenol red โดยจะเปลี่ยนสีเหลืองให้เป็นสีแดง) จากหลักการเดียวกันนี้ ในปัจจุบันจึงมีวิธีการตรวจให้เลือกใช้ได้หลายแบบ เช่น CLO test[®], hpFast[™] (agar-based urease test), PyloriTek[™] (strip-based urease tests) ซึ่งมีขายสำเร็จรูป, Hazell microtitre biopsy urease test ที่มีการแนะนำให้ผสมน้ำยาตรวจเอง เป็นต้น

Phase contrast microscopy

เป็นวิธีการตรวจที่มีความรวดเร็ว โดยการใช้ fresh preparation จาก gastric biopsy แล้วตรวจด้วย phase contrast microscope โดยใช้กำลังขยาย x 100 with oil immersion มองหา typical spiral bacteria มักได้ผลดีถ้ามีการติดเชื้อในปริมาณมาก มีรายงานถึงความสะดวก รวดเร็ว และความแม่นยำสูงในมือของผู้ชำนาญ²⁶

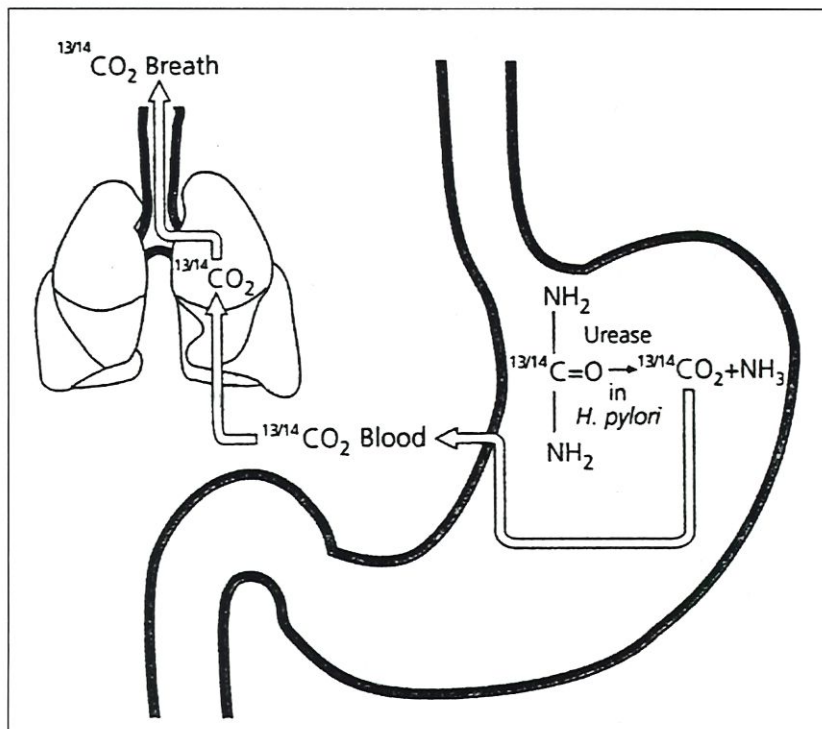
PCR method for detection of *H. pylori* DNA

ใช้หลักการในการหา DNA ของ *H. pylori* จาก tissue เช่น gastric biopsy มีรายงานจากการวิจัยครั้งแรกเมื่อปี 1991²⁷ หลังจากนั้นก็มีผู้สนใจทำการวิจัยกันอย่างต่อเนื่อง แต่ไม่ค่อยแพร่หลายตามโรงพยาบาลทั่วไป เนื่องจากมีกรรมวิธีที่ยุ่งยากและต้องใช้เครื่องมือที่มีราคาแพง จึงมีการทำกันเฉพาะตามงานวิจัย ข้อดีคือ ทำให้ได้ข้อมูลเกี่ยวกับ gene และ strain ของเชื้อซึ่งจะบอกถึงข้อมูลที่สำคัญในอนาคตเกี่ยวกับความรุนแรงของโรค แต่ข้อด้อยคือเราสามารถ detect ว่ามี DNA ของ *H. pylori* อยู่จริง แต่ไม่สามารถยืนยันได้ว่าเชื้อยังมีชีวิตอยู่หรือตายไปแล้ว ซึ่งต่างจากวิธี culture หรือ Urease test (biopsy or breath test) ที่สามารถยืนยันได้ว่า bacteria ยังมีชีวิตอยู่ (live bacteria) ปัจจุบันมีการศึกษาหา DNA ของ *H. pylori* จากแหล่งอื่น โดยไม่ต้องทำ biopsy เช่น การหา DNA จาก gastric juice ซึ่งก็จัดว่าเป็น the whole stomach study อีกชนิดหนึ่ง แต่ยังคงอยู่ในระยะทดลองและยังจัดว่าเป็นวิธีที่ invasive²⁸

II. Non-invasive tests

Serological test for *H. pylori*

ดังที่ได้กล่าวมาแล้วว่า bacteria ตัวนี้สามารถก่อให้เกิด antibody response ในรูปของ IgG, IgM หรือ IgA พบว่า IgG และ IgA จะมีความแม่นยำในการตรวจหามากกว่า IgM โดยเราสามารถตรวจได้ทั้งจาก serum, blood หรือแม้กระทั่ง gastric biopsy ส่วนวิธีการตรวจในปัจจุบันมีด้วยกันหลายวิธี เช่น วิธี Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA), Immuno Blot ชนิดต่างๆ , Latex agglutination test ปัจจุบันมี IgG test สำเร็จรูปผลิตออกมาขายอย่างหลากหลาย เช่น Pyloriset®, HM-CAP™, FlexPack™HP มีข้อดีในแง่ราคาไม่แพงมาก เหมาะที่จะใช้สำหรับการ screening แต่พบว่าอาจมี cross-reactivity ระหว่าง similar bacteria ได้ นอกจากนี้ใน endemic area อย่างประเทศไทย sensitivity อาจสูงถึงเกือบ 100% แต่ specificity จะต่ำมาก (ประมาณไม่เกิน 20%) ซึ่งหมายความว่าเคยมีการติดเชื้อมาก่อน แต่ไม่ได้บอกเราว่า



รูปที่ 2: Urea Breath Tests (UBTs)

ปัจจุบันมีการติดเชื้อหรือไม่ นอกจากนี้ในผู้ป่วยที่ได้รับการรักษาโดยการทำ *H. pylori* eradication จะยังมี IgG titer ขึ้นสูงอยู่เป็นเวลานานแม้ว่าจะไม่มีเชื้อในกระเพาะอาหารแล้ว (อย่างน้อย 6 เดือน)²⁹ จึงมีการผลิต IgG test ที่แปลผลเป็น quantity (positive มากหรือน้อย) เพื่อใช้วัดผลหลังจากการรักษา บาง investigator ก็เลยไปใช้การตรวจหา IgA จาก serum หรือ gastric biopsy ซึ่งมี specificity สูงกว่า^{29,30}

Urea Breath Test

นอกจาก enzyme Urease จะย่อยสลาย Urea จนเกิดเป็น ammonia แล้ว Bicarbonate (HCO_3^-) ก็เป็นผลผลิตที่สำคัญตามมาอีกตัวหนึ่ง โดย bicarbonate ที่เกิดขึ้นจากการย่อยจะเปลี่ยนสภาพเป็น CO_2 และถูกดูดซึม กลับเข้าสู่กระแสเลือดอย่างรวดเร็วทาง gastric mucosa และขับออกทางลมหายใจ เราจึงสามารถตรวจได้โดยให้ผู้ป่วยทาน urea (oral solution) ที่มีการ label ด้วย ^{13}C หรือ ^{14}C หลังจาก นั้นจึงตรวจหา $^{13}\text{CO}_2$ หรือ $^{14}\text{CO}_2$ จากเครื่องมือที่เรียกว่า Urea Breath tests (UBTs) ตามรูปที่ 2 (หน้า 77)

UBTs จัดว่าเป็นวิธีการที่ทันสมัย มีความสะดวกในการตรวจ สามารถเก็บ sample ได้ง่ายและ non-invasive นอกจากนี้ยังมีความแม่นยำในการตรวจสูงมาก (sensitivity, specificity = 92%, 98%)³¹ ข้อเสียเพียงอย่างเดียวคือมีราคาแพงมาก ยังไม่มีการนำเข้ามาใช้ในเมืองไทย แต่คาดว่าในอนาคตอันใกล้คงจะมีการนำมาใช้ เนื่องจากมีการตื่นตัวกันมากในการศึกษาถึงวิธีการเก็บ specimen ใส่ container โดยผู้ป่วยเองจากที่บ้าน หรือโดยเจ้าหน้าที่ที่ทำงานอยู่ตามคลินิกทั่วไป จากนั้นจึงส่ง specimen ต่อไปยังห้อง lab ที่มีเครื่องมือราคาแพงนี้ติดตั้งอยู่ มีรายงานว่าได้ผลดีมาก (sensitivity, specificity = 95%, 95%)³² ทำให้สามารถตรวจได้โดยไม่จำเป็นต้องซื้อเครื่องมือไว้ในทุกสถาบัน เป็นการประหยัดค่าใช้จ่ายในการรักษาลงไปได้มาก คาดว่าจะได้รับความนิยมเป็นอย่างสูงในอนาคต เพราะเป็นการศึกษาแบบ whole stomach study ไม่มี bias ในการเก็บ specimen (เหมือนอย่างการทำ biopsy ซึ่งต้องทำหลายตำแหน่ง) ราคาโดยรวมไม่แพงเพราะไม่ต้องซื้อเครื่องมือเอง และที่สำคัญที่สุด คือ non-invasive

^{13}C และ ^{14}C มีรายงานในการใช้ทางคลินิกมานานแล้ว ความแตกต่างคือ ในแง่ของราคาและวิธีการตรวจหา C isotope (^{14}C จะมีราคาถูกกว่า ความแม่นยำดีกว่าเล็กน้อย แต่ข้อจำกัดที่สำคัญ คือ เป็นสาร radioactive ต่างจาก ^{13}C ที่ nonactive

และมีอันตรายน้อยกว่า)

Detection of *H. pylori* infection in Thailand

lab investigation ที่ดีควรจะเป็น non-invasive แต่ใน endemic area อย่างประเทศไทย การใช้ serum IgG ไม่มีความแม่นยำพอ เนื่องจาก sensitivity สูง แต่มี specificity ต่ำ อาจช่วยในแง่การทำ screening test แต่ไม่สามารถยืนยันการติดเชื้อปัจจุบันได้อย่างชัดเจน แนะนำว่า การทำ gastric biopsy เพื่อ confirm diagnosis ควรเป็นวิธีที่ดีที่สุด โดยนำชิ้นเนื้อที่ได้มาตรวจด้วยวิธี rapid urease test หรือ ย้อมด้วย stain แบบต่างๆซึ่งทำได้ในประเทศไทย การรักษาส่วนใหญ่ยังต้องอาศัย specialist อยู่ แต่คาดว่าอีกไม่นานจะมีการนำเข้ามาของ non-invasive test ที่มีความแม่นยำสูง เช่น UBTs การตรวจรักษาอาจแพร่หลายลงไปสู่แพทย์ทั่วไปมากยิ่งขึ้น แต่ปัญหาที่จะตามมาได้แก่เรื่อง ค่ารักษา เพราะ investigation และการทำ eradication ยังมีราคาสูง การตัดสินใจให้การรักษาจะต้องพิจารณาจุดนี้ประกอบไปด้วย ผู้ป่วยกลุ่มที่จะมีปัญหามากที่สุดคือผู้ป่วยประกันสังคม ซึ่งแม้ขณะนี้ก็ยังมีความปัญหาอย่างมากในกลุ่มประเทศที่พัฒนาแล้ว

Treatment

นับตั้งแต่มีการ identify เชื้อได้ มีผู้พยายามหา regimen ในการทำ eradication of *H. pylori* ออกมามากมายนับร้อยรายการ การที่จะเลือกใช้ regimen ใดควรที่จะพิจารณาให้ดี รายงานที่วิเคราะห์ผลการรักษาจากหลายแห่ง (multicenter analysis) น่าจะเป็นทางเลือกที่ดีกว่าการยึดถือเพียงงานวิจัยรายใดรายหนึ่งที่พอจะสรุปได้ในปัจจุบัน คือ

Monotherapy

คือการใช้ยาเพียงตัวเดียวในการฆ่าเชื้อ เผลี่ยแล้ว eradication rate = 11.7%³³ ตัวอย่างเช่น

- antibiotic alone เช่น การให้ amoxicillin อย่างเดียว ได้ผล 30%³⁴
- bismuth compound alone เช่น bismuth subcitrate หรือ subsalicylate ได้ผล 70%³⁵ แต่จะมี recolonization ใหม่ภายใน 1 เดือนหลังให้การรักษาแทบทั้งหมด^{36,37}
- proton-pump inhibitor (PPI) alone เช่น omeprazole ได้ผล 4%³⁸

Dual therapy without acid suppression ได้ผล 50.7%³³

Dual therapy with acid suppression ได้ผล 59.8%³³

ตัวอย่างเช่น

- proton-pump inhibitor/amoxicillin ได้ผล 65.9%³³
- proton-pump inhibitor/clarithromycin ได้ผล 67.6%³³

Triple therapy without acid suppression ได้ผล 78.1%³³

Triple therapy with acid suppression ได้ผล 77.5%³³

ตัวอย่างเช่น

- bismuth/imidazoles/tetracycline ได้ผล 83.4%³³
- omeprazole/imidazoles/amoxicillin ได้ผล 83.5%³³
- omeprazole/imidazoles/clarithromycin ได้ผล 93%³³

Multiple combination therapy เช่น

- omeprazole/bismuth/imidazoles/tetracycline ได้ผล 93.5%³³
- PPI/amoxicillin/metronidazole/ecabot sodium ได้ผล 100%³⁹

ผลการรักษาจะดีขึ้นถ้าเพิ่มขนาดของยาให้สูงขึ้น และใช้เป็นระยะเวลานาน แต่ผู้ป่วยจะไม่สะดวกในการทานยา และยังคงเสียค่าใช้จ่ายสูงตามปริมาณยาที่ใช้ กล่าวโดยสรุปแล้ว regimen ที่ให้ cost-benefit สูงที่สุด³³จะประกอบด้วย

- PPI (omeprazole 20mg/day or lansoprazole 30mg/day)
- imidazoles (เช่น metronidazole 2 x 400 mg/day)
- clarithromycin (2 x 250 mg/day)
- ให้การรักษาเป็นเวลา 1 สัปดาห์ (simple week's PPI-based triple therapy)

ในบริเวณที่มี high resistance strain ต่อ metronidazole แนะนำให้ใช้ amoxicillin ร่วมกับ clarithromycin

สำหรับในประเทศไทยแนะนำให้ใช้ amoxicillin ร่วมกับ metronidazole ก่อน เพราะราคาถูก แต่ถ้ามีผลข้างเคียงจากการใช้ยา metronidazoles หรือมี resistant strain แล้วการรักษาไม่ได้ผล ให้เปลี่ยนมาใช้ clarithromycin ซึ่งมีราคาสูงกว่าแทน ส่วน antisecretory drug ที่ใช้ร่วมกัน ที่ได้ผลดีที่สุดคือ proton-pump inhibitor (PPI) แต่ถ้าจำเป็นอาจใช้ bismuth compound หรือ H₂ blocker แทน

สำหรับ bismuth compound นิยมใช้กันมากในระยะแรกๆ ต่อมาพบว่ากลุ่ม subnitrate และ subgallate มีผลข้างเคียงที่อันตราย คือ neurotoxicity จึงมีความพยายามที่จะเปลี่ยนมาใช้กลุ่ม subsalicylate หรือ subcitrate ซึ่งพบผลข้างเคียงน้อยมาก⁴⁰ แต่การรักษาโดยใช้ bismuth-based triple therapy ร่วมกับ antibiotic อีก 2 ชนิด ยังมีปัญหาในแง่

compliance จากการใช้ยา และผลจาก clinical practice ไม่ดีเท่ากับที่มีรายงานใน control trial ซึ่งรายงานว่ามี eradication rate ตั้งแต่ 73-85%⁴¹ และในบางรายงานก็ยัง แนะนำให้ใช้เป็น first line drug อยู่⁴² ปัจจุบันมีการ ผิดยาในกลุ่มนี้ combine เข้ากับ Ranitidine เรียกว่า Ranitidine Bismuth Citrate (RBC) ซึ่งคาดว่าจะมีความสะดวกในการรับประทานมากกว่าเดิม side effect น้อยกว่า โดยในขณะนี้ กำลังอยู่ในขั้นทดลองใช้ และศึกษาถึงประสิทธิภาพ

นอกจากที่กล่าวมานี้ยังมีรายงานจากประเทศญี่ปุ่น (Jichi method) ที่ใช้ topical agent⁴³ ในการทำลายเชื้อ โดยใช้วิธีการใส่ topical agent อย่างเช่น 7% Sodium bicarbonate ผสมกับ high dose antibiotics เข้าไปในกระเพาะอาหารทางสาย long intestinal tube (under endoscopic guidance or under fluoroscope with contrast solution) ซึ่งสามารถ blow balloon ปิดทางด้าน distal บริเวณ first part of duodenum ได้ แล้วพลิกตัวผู้ป่วยทุก 15 นาทีเป็นเวลา ประมาณ 2 ชั่วโมงจึง suction เอา content และดึงสายยางออก ได้ผลดีมาก (eradication rate = 92-96%) แต่ยังถือว่าเป็นวิธีการ invasive มากเกินไป และเมื่อมีผู้ทดลองทำตามปรากฏว่า ได้ผลไม่ดีเท่าและผู้ป่วยยัง tolerate ไม่ค่อยได้⁴⁴ จึงควร รอผลการวิจัยในระยะยาวต่อไป

Indication for *H. pylori* eradication

จากรายงานการประชุมของ NIH Consensus development panel 1994⁴⁵ สรุปว่า indication ในการทำ eradication therapy of *H. pylori* คือ

1. ulcer patients with *Helicobacter pylori* infection ไม่ว่า จะเป็น first presentation หรือ recurrence
2. infected patients ที่จำเป็นต้องได้รับ maintenance treatment ด้วย antisecretory agent

เป็นที่น่าสังเกตว่ายังไม่มีการแนะนำให้ทำ eradication ในกรณีอื่นที่มีการติดเชื้อ เช่น gastritis, NUD เป็นต้น

European *Helicobacter pylori* Study Group (EHPSG, Copenhagen, Denmark, October, 1996)⁴⁶ ได้ให้ guideline ในการทำ eradication therapy เพิ่มเติมจาก NIH Consensus 1994 คือ

strongly recommended in:

1. infected patients with bleeding peptic ulcer
2. low-grade MALT lymphoma

3. gastritis with severe macro- or microscopic abnormalities
4. patients after resection of early gastric cancer

advisable in:

1. patients with functional dyspepsia after a full investigation
2. those with a family history of gastric cancer
3. patients, where NSAID-therapy is planned or ongoing
4. patients following gastric surgery for peptic ulcer disease or cancer
5. response to the patients' wishes
6. patients when long-term proton pump inhibitor therapy is necessary for reflux oesophagitis

EHPSG แนะนำให้ใช้ simple week's PPI-based triple therapy regimen ที่สรุปมาจากการประชุมก่อนหน้าของ Maastricht Consensus Meeting, Netherland, September, 1996 ซึ่งมีการแนะนำว่าแพทย์ผู้ให้การรักษาคควรจะเป็น primary care physician และแนะนำให้ควรใช้ serology test หรือ ^{13/14}C-urea breath test ในการตรวจวินิจฉัย ถ้าต้องการ ติดตามผลของ eradication therapy ควร follow up ด้วย investigation หลังรักษาไปแล้วอย่างน้อย 4 สัปดาห์

ข้อที่น่าสังเกตคือ มีข้อบ่งชี้ให้ทำ eradication therapy มากขึ้นในผู้ป่วย peptic ulcer โดยเฉพาะอย่างยิ่งในผู้ที่เป็ bleeding D.U. นอกจากนี้ ยังแนะนำให้ใช้ในผู้ป่วย chronic active gastritis อีกด้วย ที่น่าสนใจมากคือความพยายามที่จะ ป้องกันการเกิดขึ้นใหม่ (newly occur) ในผู้ป่วยหลังทำ curative gastrectomy หรือในผู้ป่วย MALT lymphoma เป็นการยืนยัน ความเชื่อที่ว่า *H. pylori* เป็นสาเหตุสำคัญอย่างหนึ่งของ carcinogenesis นอกจากนี้ ยังมีการแนะนำให้ใช้ในผู้ป่วย infected NUD ที่ตรวจหาสาเหตุไม่พบทั้งทางด้าน functional และ psychogenic

อย่างไรก็ตาม การที่จะให้ eradication therapy ควร ที่จะศึกษาถึงข้อบ่งชี้ให้เข้าใจอย่างชัดเจน และมีการ ติดตามผลการรักษาอย่างใกล้ชิด เพราะเสียค่าใช้จ่ายสูงและอาจมีปัญหา เรื่องเชื้อมีอยู่

ในอนาคตเราคาดหวังว่าจะสามารถหา drug regimen ที่สะดวกในการใช้มากขึ้น โดยอาจจะเป็น antibiotic เพียง ตัวเดียวร่วมกับ antisecretory drug และพัฒนาไปเป็น single new agent เพียงตัวเดียวในการรักษา และสำหรับการป้องกัน

ได้มีความพยายามในการพัฒนา *H. pylori*-vaccine ขึ้นแต่ กำลังอยู่ในขั้นทดลอง

Reinfection of *H. pylori*

หลังการรักษาโดยการทำ *H. pylori* eradication มี รายงานจากการติดตามผลการรักษาในผู้ป่วยที่ทำ eradication สำเร็จ มีการติดเชื้อใหม่ภายใน 7 ปีประมาณ 8 % ส่วนในผู้ป่วย ที่ทำ eradication ไม่สำเร็จพบว่าทุกคนยังมีการติดเชื้ออยู่⁴⁷ โอกาส กลับมาติดเชื้อใหม่ในรายงานที่รวบรวมจากหลายประเทศ ทั่วโลกพบว่ามี reinfection rate ตั้งแต่ 0-35%⁴⁸ โดยพบว่า ผู้ป่วย ส่วนใหญ่จะมีโอกาสติดเชื้อใหม่ได้สูงในช่วง 12 เดือนแรก อันที่จริงแล้วตัวเลขที่ได้ อาจไม่ใช่ incidence ของ reinfection ที่แท้จริง เพราะคาดกันว่าเชื้ออาจจะมีอยู่ในกระเพาะอาหาร แต่มี temporary suppression ซึ่งเราเรียกได้ว่าเป็น recrudescence ของเชื้อมากกว่า reinfection เมื่อพิจารณาในแง่นี้จะพบว่า อัตราการติดเชื้อใหม่จริงๆในประเทศที่พัฒนาแล้วจะอยู่ประมาณ 0.2-1% ต่อปี⁴⁸ ซึ่งเป็น incidence ที่ต่ำมาก

H. pylori and surgical practice

H. pylori and recurrent ulcer

ในอดีตการผ่าตัดในผู้ป่วย PU ที่อาการไม่ทุเลาถือเป็น indication ที่สำคัญข้อหนึ่ง แต่ปัจจุบันมียาที่ให้ผลในการ รักษาดีมาก เช่น PPI ทำให้โอกาสในการผ่าตัดแบบ elective ลดน้อยลงไปมาก⁴⁹ อย่างไรก็ตามพบว่าหลังได้รับการรักษา ด้วยวิธีการต่างๆ เช่น การให้ยา antiulcer (หรือแม้แต่การ ผ่าตัด) พบว่า recurrent rate ยังมีอัตราสูงมาก เนื่องจากการ รักษาโดยการลดกรดหรือใช้ mucosal protectant เท่านั้น แต่ เรา ยังไม่ได้กำจัด *H. pylori* ที่เป็นสาเหตุ (environmental factors) ที่สำคัญอีกอย่างหนึ่งของ ulcerogenesis จากการศึกษาพบว่า การทำ eradication therapy ช่วยลดอัตราการเกิด recurrent ของ PU ได้เป็นอย่างมาก พบว่า 1-year recurrence of D.U. ลดลงจาก 67.9 % เหลือเพียง 1.1 % และ 2-year recurrence of D.U. ลดลงจาก 91.1 % เหลือเพียง 3 % หลังทำ eradication therapy⁵⁰ ส่วนในกรณีของ G.U. พบว่า 1-year recurrence ลดลงจาก 47 % เหลือ 7 %⁵¹ ดังนั้นในปัจจุบันการทำ *H. pylori* eradication จึงถือเป็น standard treatment ในผู้ป่วย infected D.U. เพื่อป้องกัน recurrence⁴⁵

เช่นเดียวกับ uncomplicated D.U. จะพบว่าในผู้ป่วยที่ทำการ eradication สำเร็จจะมี recurrent bleeding ลดลงอย่างมาก จาก 29-40% เหลือเพียง 0-3%^{52,53}

H. pylori and peptic ulcer perforation

ดังที่ได้กล่าวมาแล้วว่า การผ่าตัดผู้ป่วย peptic ulcer แบบ elective case เนื่องจาก intractable pain ได้ลดจำนวนลงอย่างมาก เพราะมีการค้นพบ H₂ blocker และ proton pump inhibitor แต่อย่างไรก็ตาม จำนวนผู้ป่วยที่ต้องเข้ารับการผ่าตัดฉุกเฉินกลับไม่ได้ลดจำนวนลงเลย ผู้ป่วยส่วนใหญ่ในกลุ่มนี้ได้แก่ perforated peptic ulcer จึงมีการศึกษาว่า H. pylori จะเพิ่มโอกาสในการเกิด perforation ในผู้ป่วย peptic ulcer ได้หรือไม่ ผลการศึกษาปรากฏว่าการติดเชื้อ H. pylori ไม่ได้ทำให้เพิ่มโอกาสที่จะมี perforation ของ peptic ulcer ทั้ง acute^{54,55} และ chronic⁵⁵ คาดว่า host factors จะเป็นสาเหตุสำคัญที่ทำให้เกิด perforation มากกว่า นอกจากนี้ strain diversity (cagA,vagA) ยังไม่ส่งผลต่อการเกิด perforation ด้วย⁵⁵

อย่างไรก็ตาม สำหรับผู้ป่วยที่เป็น chronic D.U. perforation มักจะมีคำถามอยู่เสมอว่าเมื่อใดควรจะทำ definit surgery ให้ผู้ป่วย (เช่น truncal vagotomy & pyloroplasty หรือ antrectomy & vagotomy) เนื่องจากกลัวว่าถ้าทำเพียง simple closure ไปแล้วจะมี recurrence เพราะเป็น chronic ulcer แต่การทำ definit surgery ก็เพิ่มความเสี่ยงให้กับผู้ป่วยเนื่องจากการผ่าตัดฉุกเฉิน, เสียเวลามากขึ้น และยังมี contamination ร่วม มีข้อเสนอแนะว่าควรทำแค่ simple closure & omental patch (ไม่ต้องทำ definit surgery) หลังผ่าตัดค่อยมาทำ H. pylori eradication อีกทีหนึ่งเพื่อป้องกัน recurrent of ulcer ปัจจุบัน simple closure จึงเป็น standard procedure ในประเทศญี่ปุ่นสำหรับผู้ป่วย peptic ulcer perforation ทั้ง acute และ chronic case⁵⁵

H. pylori and the gastric remnant (after distal gastrectomy)

gastric remnant โดยตัวของมันเอง ถือว่าเป็น precursor ในการเกิด gastric cancer แม้จะเป็นการผ่าตัดใน benign disease ก็ตาม⁵⁶ สาเหตุของ carcinogenesis อธิบายว่าเกิดจาก exposure ต่อ aggressive factors หลังการ ผ่าตัด เช่น N-nitroso compounds จาก bacterial overgrowth ใน gastric remnant, bile reflux, pancreatic juice ซึ่งจะมีผล

โดยตรงต่อ gastric mucosa ก่อให้เกิด atrophic gastritis, intestinal metaplasia และ dysplasia ตามลำดับ ด้วยเหตุผลนี้เอง การผ่าตัด gastrectomy แบบ Roux-en-Y จึงเป็นที่นิยมในทางยุโรป เนื่องจากเป็น biliary diversion procedure สามารถป้องกัน bile & pancreatic juice reflux ได้อย่างชัดเจน แต่อย่างไรก็ตาม พบว่า gastric remnant ยังคงมีการอักเสบเนื่องจากภาวะ hypochlorhydria ร่วมกับ bacterial overgrowth

ในแง่ของ H. pylori มีรายงานว่า infection rate เพิ่มขึ้นอย่างมากจาก 54% เป็น 92% หลังการผ่าตัดแบบ Roux-en Y⁵⁷ ในทางตรงกันข้ามในการผ่าตัดแบบ Billroth procedure จะมี H. pylori infection ลดต่ำลงอย่างชัดเจน แต่เมื่อแยกพิจารณาแล้วจะพบว่า Billroth II procedure จะมี infection rate ต่ำกว่าใน Billroth I procedure⁵⁸ (B II = 45.9%, B I = 70.8 %, p = 0.01) เนื่องจากเป็นที่ทราบกันว่า Billroth II มีโอกาสเกิด alkaline reflux สูงกว่า⁵⁹ ซึ่งน่าจะมีผลในการทำลาย H. pylori

นอกจากนี้ ยังมีคำอธิบายเพิ่มเติมเกี่ยวกับชนิดของ bile acid และ H. pylori ด้วย จากการทดลอง (in vitro) พบว่า H. pylori จะถูก inhibit โดย glycine และ glycine-taurine conjugates มากกว่า taurine conjugate⁶⁰ จากพื้นฐานความรู้ที่ว่า ทั้ง glycine และ taurine conjugate สามารถออกฤทธิ์ได้ดีในสภาวะเป็นกลาง มีเพียง taurine conjugate เท่านั้นที่สามารถละลายและออกฤทธิ์ได้ในสภาวะเป็นกรด แต่ inhibit H. pylori ได้ไม่ดี จึงเป็นคำอธิบายว่า ในกระเพาะที่ยังไม่ได้รับการผ่าตัด ภาวะ bile reflux เกิดน้อย และ glycine conjugate ก็สามารถทำลายเชื้อได้ เนื่องจากสภาวะเป็นกรดในกระเพาะ แต่ใน gastric remnant กระเพาะอาหารมีความเป็นกรดน้อยลง ซึ่งเมื่อเกิดภาวะ alkaline reflux ขึ้น คาดว่า glycine conjugate สามารถออกฤทธิ์ได้เต็มที่ และสามารถยับยั้งหรือทำลาย H. pylori ได้ดีขึ้น⁶⁰ bile reflux จึงน่าจะมีผลต่อเชื้อโดยเฉพาะอย่างยิ่งในช่วงหลังการผ่าตัด

เมื่อพิจารณาในแง่ของ H. pylori กับการเกิดใหม่ (newly occur) ของ gastric cancer ใน gastric remnant โดยเฉพาะในผู้ป่วยที่ได้รับการผ่าตัด curative gastrectomy ในระยะ early stage โดยมี disease free interval อยู่เป็นเวลานาน (clinical cure) เป็นที่ยอมรับกันว่าในผู้ป่วยที่ได้รับการผ่าตัดแบบ Billroth II, alkaline reflux gastritis เป็นสาเหตุสำคัญในการเกิดใหม่ของ gastric cancer ส่วนในผู้ป่วยที่รับการผ่าตัดแบบ Billroth I การ

ในผู้ป่วยที่ได้รับการผ่าตัด curative gastrectomy ในระยะ early stage โดยมี disease free interval อยู่เป็นเวลานาน (clinical cure) เป็นที่ยอมรับกันว่าในผู้ป่วยที่ได้รับการผ่าตัดแบบ Billroth II, alkaline reflux gastritis เป็นสาเหตุสำคัญในการเกิดใหม่ของ gastric cancer ส่วนในผู้ป่วยที่รับการผ่าตัดแบบ Billroth I การกลับเป็นใหม่ของ cancer อาจเกิดจาก *H. pylori* infection⁵⁸ เนื่องจากมี bile reflux ต่ำกว่าและมี *H. pylori* infection สูงกว่าอย่างชัดเจน ถ้าทฤษฎีนี้เป็นจริงการทำ eradication therapy อาจมีประโยชน์ในแง่การป้องกันการเกิดใหม่ของ cancer ในผู้ป่วยที่ได้รับการผ่าตัด distal gastrectomy (นอกเหนือไปจากการป้องกัน stomal ulcer) โดยเฉพาะอย่างยิ่งในผู้ป่วยหลังทำ Billroth I procedure

***H. pylori* and NSAIDs users**

NSAIDs มักจะมีความสัมพันธ์กับการเกิด gastritis และ G.U. มากกว่า D.U. เพราะมีพยาธิสภาพหลักได้แก่ การยับยั้งการหลั่ง endogenous prostaglandin และ impairment of mucus bicarbonate barrier มีรายงานออกมามากมายที่พยายามศึกษาถึงความสัมพันธ์ระหว่าง NSAIDs กับ *H. pylori* infection บาง study พบว่า NSAIDs users เพิ่ม risk ของ gastropathy⁶¹ ในขณะที่บาง investigator พบว่าได้ผลตรงข้ามและสรุปว่า NSAIDs อาจมีฤทธิ์ในการยับยั้ง *H. pylori*⁶² ส่วนอีกรายงานหนึ่งพบว่าทั้งสอง factors ไม่มีความสัมพันธ์กัน⁶³ ทั้งในแง่ prevalence (เท่ากันในผู้ป่วย G.U.) และไม่พบว่าการใช้ NSAIDs จะ predispose ต่อ *H. pylori* infection ถือว่าทั้งคู่เป็น the most important independent risk factors ต่อการเกิด G.U. และอาจเป็นการอธิบายว่าทำไมเราจึงพบ prevalence ของ *H. pylori* ในผู้ป่วย G.U. ต่ำกว่าในผู้ป่วย D.U.⁶³ ข้อมูลในขณะนี้

จึงยังสรุปไม่ได้อย่างชัดเจน

***H. pylori* and NUD (Non Ulcer Dyspepsia)**

โดยทั่วไปเราพบผู้ป่วยที่มีอาการของ upper G.I. symptom แต่ไม่ทราบสาเหตุอยู่เป็นจำนวนมาก ผู้ป่วยกลุ่มนี้ส่วนใหญ่เราคาดว่าจะมีสาเหตุมาจาก motility disorder แต่ในปัจจุบัน มีความพยายามที่จะอธิบายสาเหตุของความเจ็บป่วยว่าเกิดจาก *H. pylori* ได้หรือไม่ เนื่องจากพบอัตราการติดเชื้อในปริมาณสูงในผู้ป่วยกลุ่ม NUD และเมื่อทำ gastric biopsy จะพบว่า มี chronic gastritis ร่วมด้วยเสมอ ยิ่งไปกว่านั้นหลังทำ eradication of *H. pylori* ก็มีการ improve ของพยาธิสภาพด้วย จึงมีการเสนอว่า ควรแบ่งผู้ป่วยออกเป็น 2 กลุ่มคือ *Helicobacter*-infected NUD (HINUD) กับ non-infected NUD (NINUD) เนื่องจากพบว่า ในกลุ่มแรกน่าจะได้ประโยชน์จากการทำ eradication⁶⁴ แต่การทำ routine eradication therapy ในผู้ป่วยกลุ่ม NUD ยังไม่เป็นที่ยอมรับเนื่องจากพบว่าภายหลังจากการรักษาแล้วผู้ป่วยบางส่วนยังมีอาการทาง G.I. symptom อยู่ และยังมีการถกเถียงกันอยู่ในเรื่องนี้ถึง line of management ที่เหมาะสม การรักษาในผู้ป่วยกลุ่มนี้จึงยัง controversy อยู่มาก และต้องการ clinical trial ที่เชื่อถือได้ในการสรุป

***H. pylori* and endoscopic transmission**

ในอดีตเชื่อกันว่า gastric juice มีภาวะเป็นกรดสูงและ sterile แพทย์จึงให้ความสำคัญในการป้องกัน infection น้อย ต่อมาพบว่า *H. pylori* สามารถติดต่อกันได้จากการทำ gastroscopy⁶⁵ นอกจากนี้ยังพบด้วยว่า gastroenterologist มีโอกาสติดเชื้อสูงกว่าบุคคลทั่วไป⁶⁶ การให้ precaution และ sterilization ของเครื่องมือที่ถูกต้อง จึงมีความสำคัญมาก

References:

1. Bizzozero G. Ueber die schlauchformigen Drusen des Magen-Darmkanals und die Beziehungen ihres Epithels zu dem Oberflächenepithel der Schleimhaut. *Arch f mikr Anat* 1893;42:82 (cited in (Marshall: *Campylobacter pylori* and gastritis. *J Inf Dis* 1986;153:650-70)).
2. Salomon H. Ueber das Spirillum des Saugetiermagens und sein Verhalten zu den Belegzellen. *Zentralbl Bakteri* 1896;19:433-42 (cited in').
3. Doenges JL. Spirochetes in the gastric glands of macacus rhesus and of man without related disease. *Arch Pathol* 1939;27:469-77 (cited in).
4. Freedburg AS, Barron LE. The presence of spirochetes in human gastric mucosa. *Am J Dig Dis* 1940;7:44-5 (cited in [6]).
5. Steer HW, Colin-Jones DG. Mucosal changes in gastric ulceration and their response to carbenoxolone sodium. *Gut* 1975;16:590.
6. Warren JR, Marshall B. Unidentified curved bacilli on gastric epithelium in active chronic gastritis. *Lancet* 1983;1:1273-5 [letter].
7. Romaniuk PJ, Zoltowska B, Trust D, et al. *Campylobacter pylori*, the spiral bacterium associated with human gastritis, is not a true *Campylobacter* sp. *J Bacteriol* 1987;169:2137.
8. Goodwin CS, Armstrong JA, Chilvers T, et al. Transfer of *Campylobacter pylori* and *Campylobacter mustelae* to *Helicobacter* gen. nov. as *Helicobacter pylori* comb. nov. and *Helicobacter mustelae* comb. nov., respectively. *Int J Syst Bacteriol* 1989;39:397-405.
9. Kuipers EJ, Perez-Perez GI, Meuwissh SGM, Blaser MJ. *Helicobacter pylori* and atrophic gastritis: Importance of the *cagA* status. *J Natl Cancer Inst* 1995;87:1777-80.
10. Atherton JC, Cao P, Peek RM Jr, et al. Mosaicism in vacuolation cytotoxin alleles of *Helicobacter pylori*. Association of specific *vacA* types with cytotoxin production and peptic ulceration. *J Biol Chem* 1995;270(30):17771-7.
11. Blaser MJ, Perez-Perez GI, Kleanthous H, et al. Infection with *Helicobacter pylori* strains possessing *cagA* is associated with an increased risk of developing adenocarcinoma of the stomach. *Cancer Res* 1995;55:2111-5.
12. Matsukura N, Onda M, Kato S, et al. Cytotoxin genes of *Helicobacter pylori* in chronic gastritis, gastroduodenal ulcer and gastric cancer: An age and gender matched case-control study. *Jpn J Cancer Res* 1997;88:532-6.
13. The EUROGAST Study Group. Epidemiology and risk factors for *Helicobacter pylori* infection among 3194 asymptomatic subjects in 17 populations. *Gut* 1993;34:1681-2.
14. Blaser MJ, Parsonnet J. Parasitism by the "slow" bacterium *Helicobacter pylori* leads to altered gastric homeostasis and neoplasia. *J Clin Investigation* 1994;94(1):4-8 [Review].
15. Marshall BJ, Armstrong JA, McGeachie DB, Glancy RJ. Attempt to fulfill Koch's postulates for pyloric *Campylobacter*. *Med J Aust* 1985;142:436-9.
16. Morris A, Nicholson G. Ingestion of *Campylobacter pyloridis* causes gastritis and raised fasting gastric pH. *Am J Gastroenterol* 1987;82:192-9.
17. Graham DY. *Helicobacter pylori*: Its epidemiology and its role in duodenal ulcer disease. *J Gastroenterol Hepatol* 1991;6:105-13.
18. Correa P. *Helicobacter pylori* and gastric carcinogenesis. *Am J Surg Pathol* 1995;19(suppl 1):S37-S43.
19. Caselli M. *Helicobacter pylori*, intestinal metaplasia, and gastric cancer: Histopathological point of view. *Am J Gastroenterol* 1996;91(7):1473-5 [letter].
20. International Agency for Research on Cancer. World Health Organization: Schistosomes, liver flukes and *Helicobacter pylori*. IARC Monogr Eval Carcinog Risks Hum 1994;61:218-20.
21. Shibata T, Imoto I, Ohuchi Y, et al. *Helicobacter pylori* infection in patients with gastric carcinoma in biopsy and surgical resection specimens. *Cancer* 1996;77:1044-9.
22. Forman D, Webb P, Parsonnet J. H. *pylori* and gastric cancer. *Lancet* 1994;343:243-4 [letter].
23. Blaser MJ. *Helicobacter pylori* and the pathogenesis of gastro-duodenal inflammation. *J Infect Dis* 1990;161:626-33.
24. Genta RM, Hammer SW, Graham DY. Gastric lymphoid follicles in *Helicobacter pylori* infection: Frequency, distribution and response to triple therapy. *Hum Pathol* 1993;24:577-83.
25. Carlson SJ, Yakoo H, Vanagunas A. Progression of

- gastritis to monoclonal B-cell lymphoma with resolution and recurrence following eradication of *Helicobacter pylori*. *JAMA* 1996;275:937-9.
26. 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;89:1350 [Abstract].
 27. Valentine JW, Arthur RR, Mobley HLT, et al. Detection of *Helicobacter pylori* by using the polymerase chain reaction. *J Clin Microbiol* 1991;29:689-95.
 28. Matsukura N, Onda M, Tokunaga A, et al. Detection of *Helicobacter pylori* DNA in gastric juice by the polymerase chain reaction: Comparison with findings in bacterial culture and the detection of tissue IgA and serum IgG antibodies against *Helicobacter pylori*. *J Gastroenterol* 1995; 30: 689-95.
 29. Matsukura N, Onda M, Tokunaga A, et al. Tissue IgA antibody against *Helicobacter pylori* in patients with gastroduodenal Diseases: Comparison with bacterial culture, serum IgG antibody, and [13C]Urea breath test. *J Clin Gastroenterol* 1995;21(Suppl 1):S146-S150.
 30. Matsukura N, Onda M, Tokunaga A, et al. Mucosal IgA antibody against *Helicobacter pylori* in the chronic gastritis and intestinal metaplasia detected by Tes-Tape method in the resected stomach for gastric cancer. *Cancer* 1995;75:1472-7.
 31. Logan RPH. Breath tests to detect *Helicobacter pylori*. In *Helicobacter pylori: biology and clinical practice*. Edited by Goodwin CS, Worsley BW. Boca Raton: CRC Press; 1993:307-27.
 32. Thijs WJ, Thijs JC, Kleibeuker JH, et al. Evaluation of clinical and home performance of the 13C-urea breath test for the detection of *Helicobacter pylori*. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 1995;7:603-7.
 33. Treiber G. The influence of drug dosage on *Helicobacter pylori* eradication: a cost-effective analysis. *Am J Gastroenterol* 1996;91(2):246-57.
 34. Weil J, Bell GD, Jones PH, et al. 'Eradication' of *Campylobacter pylori*: are we being misled? *Lancet* 1988;2(8622):1245 [letter].
 35. Marshall BJ, Armstrong JA, Francis GJ, et al. Antibacterial action of bismuth in relation to *Campylobacter pyloridis* colonization and gastritis. *Digestion* 1987;37:16-30.
 36. Rauws EAJ, Langenberg W, Houthoff HJ, et al. *Campylobacter pyloridis*-associated chronic active antral gastritis. *Gastroenterol* 1988;94:33-40.
 37. Marshall BJ, Valenzuela JE, McCallum RW, et al. A placebo controlled trial of bismuth subsalicylate for the treatment of *Helicobacter pylori*-associated gastritis. *Gastroenterol* 1990;98:A83 [Abstract].
 38. Unge P, et al. Omeprazole and amoxicillin in patients with duodenal ulcer; *Helicobacter pylori* eradication and remission of ulcers and symptoms during a six month follow-up. Double blind comparative study: *Gastroenterol* 1992;102:A183 [Abstract].
 39. Matsukura N, Onda M, Shirakawa T, et al. *H. pylori* eradication with lansoprazole, amoxicillin, and polaprezinc: novel mucosal protective agent. *Helicobacter* 1996;1(4):A08 [Abstract].
 40. Gorbach SL. Bismuth therapy in gastrointestinal diseases. *Gastroenterol* 1990;99:863-75.
 41. Unge P. Review of *Helicobacter pylori* regimens. *Scand J gastroenterol* 1996;31(Suppl 215):74-81.
 42. Walsh JH, Peterson WL. The treatment of *Helicobacter pylori* infection in the management of peptic ulcer disease. *N Eng J Med* 1995;333:984-91.
 43. Kimura K, Ido K, Saifuku K, et al. A 1-h topical therapy for the treatment of *Helicobacter pylori* infection. *Am J gastroenterol* 1995;90:60-3.
 44. Przytulski K, Regula J, Marex A, et al. Omeprazole plus amoxicillin V/S one-hour topical Jichi method for eradication of *Helicobacter pylori* in duodenal ulcer patients. *Helicobacter* 1996;1(4):A09[Abstract].
 45. NIH Consensus development panel on *Helicobacter pylori* in peptic ulcer disease. *JAMA* 1994;272:1:65-71.
 46. European *Helicobacter pylori* Study Group (EHPSG). Copenhagen, Denmark, October, 1996.
 47. Forbes GM, Glaser ME, Cullen DJE, et al. Duodenal ulcer treated with *Helicobacter pylori* eradication: seven year follow-up. *Lancet* 1994;343:258-60.
 48. Burette A. Re-infection or Recrudescence of *Helicobacter pylori*. form *H. pylori* Scientific Advances and Clinical Implications: Program guide in A Satellite Symposium of the IX International Workshop on Gastroduodenal Pathology and *Helicobacter pylori*. Copenhagen, Denmark, October, 1996.
 49. Penn I. The declining role of the surgeon in the treatment of acid-peptic ulcer diseases. *Arch Surg*

- 1980;115:134-5.
50. Labenz J, Borsch G. Highly significant change of the clinical course of relapsing and complicated peptic ulcer disease after cure of *Helicobacter pylori* infection. *Am J Gastroenterol* 1994;89:1785-88.
 51. Seppala K, Pikkarainen P, Sipponen P, et al. Cure of peptic gastric ulcer associated with eradication of *Helicobacter pylori*. *Gut* 1995;36:834-7.
 52. Labenz J, Gyenes E, Ruhl GH, Borsch G. Role of *Helicobacter pylori* eradication in patients with peptic ulcer bleeding. *Gastroenterol* 1993;104:A126 [Abstract].
 53. Graham DY, Hepp KS, Ramirez FC, et al. Treatment of *Helicobacter pylori* reduces the rate of rebleeding in peptic ulcer disease. *Scand J Gastroenterol* 1993;28:939-42.
 54. Reinbach DH, Cruickshank G, McColl KEL. Acute perforated duodenal ulcer is not associated with *Helicobacter pylori* infection. *Gut* 1993;34:1344-7.
 55. Matsukura N, Onda M, Tokunaga A, et al. Role of *Helicobacter pylori* infection in perforation of peptic ulcer: An age and gender matched case-control study. *J Clin Gastroenterol* 1997 (in press).
 56. Fisher SG, Davis F, Nelson R, et al. A cohort study of stomach cancer risk in men after gastric surgery for benign disease. *J Natl Cancer Inst* 1993;85:1303-10.
 57. O'Conner HJ, Newbold KM, Alexander-Williams J, et al. Effect of Roux-en-Y biliary diversion on *Campylobacter pylori*. *Gastroenterol* 1989;97:958-64.
 58. Tomtitchong P, Onda M, Matsukura N, et al. *Helicobacter pylori* infection in the remnant stomach after gastrectomy: with special reference to the difference between Billroth I and II anastomoses. *J Clin Gastroenterol* 1998 (in press).
 59. Burden WR, Hodges RP, Hsu M, O'Leary JP. Alkaline reflux gastritis. *Surg Clin North Am* 1991;71:33-44.
 60. Han SW, Evans DG, El-zaatari FAK, et al. The interaction of pH, bile, and *Helicobacter pylori* may explain duodenal ulcer. *Am J Gastroenterol* 1996;91:1135-37.
 61. Heresbach D, Raoul JL, Bretagns JF, et al. *Helicobacter pylori* : A risk and severity factor of non-steroidal anti-inflammatory drug induced gastropathy. *Gut* 1992;33:1608-11.
 62. Taha AS, Nakshabendi I, Lee FD, et al. Chemical gastritis and *Helicobacter pylori* related gastritis in patients receiving non-steroidal anti-inflammatory drugs: Comparison and correlation with peptic ulceration. *J clin Pathol* 1992;45:135-9.
 63. Laine L. *Helicobacter pylori*, gastric ulcer and agents noxious to the gastric mucosa. *Gastroenterol Clin North Am* 1993;22:117-26.
 64. Thurmer HL, Flaaten B, Erichsen KE, et al. *Helicobacter pylori* infection in non-ulcer dyspeptic and ulcer patients: determinants and consequences in real life. *Scand J Gastroenterol* 1996;31:744-8.
 65. Graham DY, Alpert LC, Smith JL, Yoshimura HH. Iatrogenic *Campylobacter pylori* infection is a cause of epidemic achlorhydria. *Am J Gastroenterol* 1988;83:974-80.
 66. Mitchell HM, Lee A, Carrick J. Increased incidence of *Campylobacter pylori* infection in gastroenterologists: further evidence to support person-to-person transmission of *C. pylori*. *Scand J Gastroenterol* 1989;24:396-400.