ตารางที่ 3.8 ก) (ต่อ) กลุ่มโรคกระเพาะอักเสบ (Gastritis)

Spec. No	Histology test	PCR test												
						vacA subtypes								
		860bp	cagA	iceA1	iceA2	vacAs1 (201bp)	vacAs1 (259bp)	vacA s1a	vacA s1b	vacA s1c	vacA s2	vacAm m1	vacAm m2	vacA m2
N61	++	+	-	+	-	+	+	-	-	+	-	+	-	-
N67	++	+	+	+	-	+	+	+	-	+	-	-	-	+
N69A	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+	-	+	-	-
N69B	++	+	+	+	-	+	+	+	-	+	-	+	-	-
N71	++	+	+	+	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-
N72	+++	+	+	+	-	+	+	+	-	-	-	-	+	+
N75	++	+	+	-	+	+	+	-	-	+	-	-	+	+
N77	++	+	+	-	+	+	+	+	-	-	-	+	-	-
N79	++	+	+	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-
N80	++	+	+	-	-	+	+	+	-	-	-	+	-	-
N81	+++	+	+	-	+	+	+	-	-	+	-	+	-	-
N83	+	+	+	-	-	+	+	+	-	+	-	+	-	-
N86	++	+	+	+	-	+	+	+	-	-	-	-	+	+
N87	+	+	+	+	-	+	+	+	-	-	-	-	+	+
N88	+++	+	+	-	+	+	+	-	-	+	-	+	-	-
N90	+++	+	+	-	-	+	+	+	-	+	-	+	-	-

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตารางที่ 3.8 ข) กลุ่มโรคแผลในกระเพาะอาหาร (Peptic ulcer)

Spec. No	Histology test	PCR test												
						vacA subtypes								
		860bp	cagA	iceA1	iceA2	vacAs1 (201bp)	vacAs1 (259bp)	vacA s1a	vacA s1b	vacA s1c	vacA s2	vacAm m1	vacAm m2	vacA m2
N15	+++	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
N22	+++	+	+	+	-	+	+	+	-	+	-	-	+	+
N45	++	+	+	+	-	+	+	+	-	+	-	+	-	-
N48	++	+	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+	-	-
N63	+++	+	+	-	+	+	+	-	-	+	-	+	-	+
N66	+++	+	+	+	-	+	+	+	-	+	-	-	+	+
N82	+++	+	+	+	-	+	+	+	-	-	-	-	+	+
N92	+++	+	+	-	-	+	+	+	-	+	-	-	-	-

ตารางที่ 3.8 ค) กลุ่มโรคแผลในลำไส้ส่วนต้น (Duodenal ulcer)

Spec. No	Histology test	PCR test												
						vacA subtypes								
		860bp	cagA	iceA1	iceA2	vacAs1 (201bp)	vacAs1 (259bp)	vacA s1a	vacA s1b	vacA s1c	vacA s2	vacAm m1	vacAm m2	vac m2
N11	+++	+	-	+	-	+	+	+	-	+	-	+	-	-
N13	+++	+	+	+	-	-	+	+	-	+	-	-	-	-
N21	++	+	+	+	-	+	+	+	-	+	-	-	+	+
N29	+++	+	+	+	-	+	+	+	-	+	-	+	-	-
N40	+++	+	+	-	-	+	+	+	-	+	-	+	-	-
N74	+++	+	+	-	+	+	+	-	-	+	-	-	+	+

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตารางที่ 3.8 ง) กลุ่มโรคมะเร็งกระเพาะอาหาร (Gastric cancer)

Spec. No	Histology test	PCR test												
						vacA subtypes								
		860bp	cagA	iceA1	iceA2	vacAs1 (201bp)	vacAs1 (259bp)	vacA s1a	vacA s1b	vacA s1c	vacA s2	vacAm m1	vacAm m2	vacA m2
N7	++	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-
N10	+++	+	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+	-	-
N28	++	+	+	+	-	+	+	-	-	+	-	+	-	-
N33	++	+	+	-	+	+	+	+	-	-	-	+	-	-

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตารางที่ 3.9 ผลการตรวจยีน cagA, vacA subtypes s และ m และ iceA ของเชื้อ *H. pylori* จาก DNA ที่สกัดจากเนื้อเยื่อกระเพาะผู้ป่วยที่ฝังในพาราฟิน โดยใช้ primer ที่ออกแบบจากลำดับเบสสายพันธุ์ที่พบในคนไทย

ตารางที่ 3.9 ก) กลุ่มโรคกระเพาะอักเสบ (Gatritis)

Spec. No	Histology test	PCR test					
				vacA subtypes			
		cagA	iceA1	vacAs1 (201bp)	vacAs1 (259bp)	vacAs1a	vacAm2
N9	+++	+	+	+	+	+	-
N23	++	+	+	+	+	+	-
N24	++	+	-	+	+	+	-
N30	++	+	-	+	+	+	+
N31b	+++	+	-	+	+	+	-
N34	+++	+	+	+	+	+	-
N41	+++	+	-	+	+	+	-
N42	+++	+	+	+	+	+	+
N43	+++	+	-	+	+	+	-
N49	++	+	-	+	+	+	-
N50	+	-	-	-	+	+	+
N51	+	+	+	+	+	+	-
N55	++	+	-	+	+	+	-
N56	++	-	-	+	+	-	-
N57	++	-	-	+	+	+	-
N58	++	+	-	+	+	+	-

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตารางที่ 3.9 ก) (ต่อ) กลุ่มโรคกระเพาะอักเสบ (Gastritis)

Spec. No	Histology test	PCR test					
				vacA subtypes			
		cagA	iceA1	vacAs1 (201bp)	vacAs1 (259bp)	vacAs1a	vacAm2
N61	++	+	-	+	+	+	-
N67	++	+	+	+	+	+	+
N69A	+	+	+	+	+	+	-
N69B	++	+	+	+	+	+	-
N71	++	+	+	+	+	+	-
N72	+++	+	+	+	+	+	+
N75	++	+	-	-	+	+	+
N77	++	+	-	+	+	+	-
N79	++	+	+	-	+	+	-
N80	++	+	+	+	+	+	-
N81	+++	+	-	-	+	+	-
N83	+	+	-	+	+	+	+
N86	++	+	+	+	+	+	+
N87	+	+	-	+	+	+	+
N88	+++	+	-	-	+	+	-
N90	+++	+	+	+	+	+	-

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตารางที่ 3.9 ข) กลุ่มโรคแผลในกระเพาะอาหาร (Peptic ulcer)

Spec. No	Histology test	PCR test					
				vacA subtypes			
		cagA	iceA1	vacAs1 (201bp)	vacAs1 (259bp)	vacAs1a	vacAm2
N15	+++	-	-	+	-	-	-
N22	+++	+	-	+	+	+	+
N45	++	+	+	+	+	+	-
N48	++	+	+	+	+	+	+
N63	+++	+	-	+	+	+	+
N66	+++	+	+	+	+	+	+
N82	+++	+	+	+	+	+	+
N92	+++	+	-	+	+	+	-

ตารางที่ 3.9 ค) กลุ่มโรคแผลในลำไส้ส่วนต้น (Duodenal ulcer)

Spec. No	Histology test	PCR test					
				vacA subtypes			
		cagA	iceA1	vacAs1 (201bp)	vacAs1 (259bp)	vacAs1a	vacAm2
N11	+++	+	-	+	+	+	-
N13	+++	+	+	+	+	+	+
N21	++	+	+	+	+	+	+
N29	+++	+	+	+	+	+	-
N40	+++	+	-	+	+	+	-
N74	+++	+	-	+	+	+	-

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตารางที่ 3.9 ง) กลุ่มโรคมะเร็งกระเพาะอาหาร (Gastric cancer)

Spec. No	Histology test	PCR test					
				vacA subtypes			
		cagA	iceA1	vacAs1 (201bp)	vacAs1 (259bp)	vacAs1a	vacAm2
N7	++	+	-	+	+	-	-
N10	+++	+	+	+	+	+	-
N28	++	+	+	-	+	+	+
N33	++	+	-	+	+	+	-

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตารางที่ 3.10 ผลการตรวจยีน cagA, vacA subtypes s และ m และ iceA ของเชื้อ *H. pylori* จาก DNA ที่สกัดจากเนื้อเยื่อกระเพาะผู้ป่วยที่ได้จากการตรวจเชื้อโดยใช้ CLO test โดยใช้ primer ที่ออกแบบโดยคณะวิจัยอื่น

ตารางที่ 3.10 ก) กลุ่มโรคกระเพาะอักเสบ (Gastritis)

Spec. No	PCR test												
					vacA subtypes								
	860bp	cagA	iceA1	iceA2	vacAs1 (201bp)	vacAs1 (259bp)	vacA s1a	vacA s1b	vacA s1c	vacA s2	vacAm m1	vacAm m2	vacA m2
K9	+	+	+	-	+	+	-	-	+	-	-	+	+
K13	+	+	-	+	+	-	+	-	-	-	+	-	-
K18	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-	+	-	-
K31	+	-	-	-	+	-	+	-	-	-	+	-	-
K37	+	+	+	-	+	+	+	-	+	-	+	-	-
K51	+	+	-	+	+	+	+	-	+	-	-	-	-
K52	+	+	+	-	+	+	+	-	+	-	-	+	+
K74	+	+	-	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+
K97	+	+	-	+	+	+	+	-	-	-	+	-	-
K131	+	+	+	-	+	+	+	-	+	-	+	-	-
K132	+	+	+	-	+	+	+	-	-	-	-	+	-
K133	+	+	+	-	+	+	+	-	+	-	-	+	+
K140	+	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+
K176	+	-	+	-	+	+	+	-	-	-	+	-	-
K177	+	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+	-	-
K194	+	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+	-	-
K199	+	+	-	+	+	+	-	-	+	-	-	+	+

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตารางที่ 3.10 ก) (ต่อ) กลุ่มโรคกระเพาะอักเสบ (Gastritis)

Spec. No	PCR test												
					vacA subtypes								
	860bp	cagA	iceA1	iceA2	vacAs1 (201bp)	vacAs1 (259bp)	vacA s1a	vacA s1b	vacA s1c	vacA s2	vacAm m1	vacAm m2	vacA m2
K202	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	+	+
K246	+	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+	-	-
K285	+	+	+	-	+	+	+	-	+	-	+	-	-
K288	+	+	+	-	+	+	+	-	+	-	-	+	+
K291	+	+	+	+	+	-	+	-	+	-	-	+	+
K318	+	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+	-	-
K333	+	+	+	-	+	+	+	-	-	-	-	+	+
K344	+	+	-	+	+	+	+	-	+	-	-	+	+
K345	+	-	+	-	+	+	+	-	-	-	+	-	-

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตารางที่ 3.10 ข) กลุ่มโรคแผลในกระเพาะอาหาร (Peptic ulcer)

Spec. No	PCR test												
					vacA subtypes								
	860bp	cagA	iceA1	iceA2	vacAs1 (201bp)	vacAs1 (259bp)	vacA s1a	vacA s1b	vacA s1c	vacA s2	vacAm m1	vacAm m2	vacA m2
K14	+	+	-	+	+	-	+	-	+	-	+	-	-
K24	+	+	-	-	+	+	+	-	+	-	+	-	+
K26	+	+	+	-	+	+	-	-	+	-	-	+	+
K39	+	+	+	-	+	+	+	-	+	-	+	-	-
K40	+	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+	-	-
K48	+	+	-	+	+	+	+	-	+	-	-	+	+
K145	+	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+	-	-
K166	+	+	-	+	+	+	+	-	+	-	-	+	+
K185	+	+	+	-	+	+	-	-	+	-	+	-	-
K187	+	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+	-	-
K192	+	-	+	-	+	+	+	-	+	-	+	-	-
K200	+	+	-	+	+	+	+	-	-	-	+	-	-
K210	+	+	+	-	+	+	+	-	+	-	+	-	-
K215	+	+	+	-	+	+	+	-	+	-	+	-	-
K216	+	+	+	-	+	+	-	-	-	-	-	+	+
K243	+	+	+	-	+	+	+	-	+	-	+	-	-
K257	+	+	+	-	+	+	+	-	-	-	-	+	+
K262	+	+	+	-	+	+	+	-	+	-	-	+	+
K294	+	+	-	+	+	+	+	-	+	-	+	+	+
K322	+	-	+	-	+	+	+	-	+	-	+	-	-

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตารางที่ 3.10 ค) กลุ่มโรคแผลในลำไส้ส่วนต้น (Duodenal ulcer)

Spec. No	PCR test												
					vacA subtypes								
	860bp	cagA	iceA1	iceA2	vacAs1 (201bp)	vacAs1 (259bp)	vacA s1a	vacA s1b	vacA s1c	vacA s2	vacAm m1	vacAm m2	vacA m2
K1	+	+	-	+	+	+	+	-	+	-	+	-	-
K2	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	-	-
K3	+	+	-	+	+	+	+	-	+	-	-	+	+
K6	+	+	+	-	+	+	+	-	+	-	+	-	-
K22	+	+	+	-	+	+	-	-	+	-	+	-	-
K23	+	+	+	-	+	-	-	-	+	-	-	+	+
K27	+	+	+	-	+	+	-	-	+	-	-	+	+
K35	+	+	+	-	+	+	+	-	+	-	+	-	-
K40	+	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+	-	-
K47	+	+	+	-	+	+	+	-	+	-	+	-	-
K49	+	+	+	-	-	-	+	-	+	-	+	-	-
K50	+	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+	-	-
K66	+	+	+	-	+	+	-	-	+	-	+	+	+
K69	+	+	-	+	+	+	+	-	+	-	+	-	-
K76	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+
K82	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	+	+
K83	+	+	-	+	+	+	+	-	+	-	+	-	-
K89	+	+	-	-	+	+	-	-	+	-	+	-	-
K93	+	+	+	-	+	+	+	-	+	-	-	+	+
K108	+	+	-	+	+	+	+	-	+	-	-	+	-
K110	+	+	-	+	+	+	+	-	+	-	+	-	-

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตารางที่ 3.10 ค) (ต่อ) กลุ่มโรคแผลในลำไส้ส่วนต้น (Duodenal ulcer)

Spec. No	PCR test												
					vacA subtypes								
	860bp	cagA	iceA1	iceA2	vacAs1 (201bp)	vacAs1 (259bp)	vacA s1a	vacA s1b	vacA s1c	vacA s2	vacAm m1	vacAm m2	vacA m2
K122	+	+	+	-	+	+	+	-	+	-	+	-	-
K125	+	+	+	-	+	+	-	-	+	-	+	-	-
K150	+	-	+	-	+	+	+	-	+	-	-	+	+
K215	+	+	+	-	+	+	+	-	+	-	+	-	-
K229	+	+	-	+	+	+	+	-	+	-	-	+	+
K243	+	+	+	-	+	+	+	-	+	-	+	-	-
K258	+	+	+	-	+	+	+	-	-	-	-	+	+
K259	+	+	+	-	+	+	+	-	+	-	-	+	+
K262	+	+	+	-	+	+	+	-	+	-	-	+	+
K267	+	+	-	-	+	+	+	-	+	-	+	-	-
K268	+	+	+	-	+	+	+	-	+	-	+	-	-
K282	+	+	+	-	+	-	+	-	-	-	+	-	-
K294	+	+	-	+	+	+	+	-	+	-	+	+	+
K297	+	+	+	-	+	+	+	-	+	-	-	+	+
K299	+	+	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	-
K307	+	+	+	-	+	+	+	-	+	-	+	-	-
K320	+	+	+	-	+	+	+	-	+	-	+	-	-
K335	+	+	+	-	+	+	+	-	+	-	+	-	-

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตารางที่ 3.11 ผลการตรวจยีน cagA, vacA subtypes s และ m และ iceA ของเชื้อ *H. pylori* จาก DNA ที่สกัดจากเนื้อเยื่อกระเพาะผู้ป่วยที่ได้จากการตรวจเชื้อโดยใช้ CLO test โดยใช้ primer ที่ออกแบบจากลำดับเบสสายพันธุ์ที่พบในคนไทย

ตารางที่ 3.11 ก) กลุ่มโรคกระเพาะอักเสบ (Gastritis)

Spec. No	PCR test					
			vacA subtypes			
	cagA	iceA1	vacAs1 (201bp)	vacAs1 (259bp)	vacAs1a	vacAm2
K9	+	+	+	+	+	+
K13	+	-	+	+	+	-
K18	+	-	+	+	+	-
K31	+	-	+	+	-	-
K37	+	+	+	+	+	-
K51	+	-	-	+	+	-
K52	+	+	+	+	+	+
K74	+	-	+	+	+	+
K97	+	-	+	+	+	-
K131	+	+	+	+	+	-
K132	+	+	+	+	+	+
K133	+	+	+	+	+	+
K140	-	-	+	+	+	+
K176	+	-	+	+	+	-
K177	+	+	+	+	+	-
K194	+	+	+	+	+	-
K199	+	-	-	+	+	+

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตารางที่ 3.11 ก) (ต่อ) กลุ่มโรคกระเพาะอักเสบ (Gastritis)

Spec. No	PCR test					
			vacA subtypes			
	cagA	iceA1	vacAs1 (201bp)	vacAs1 (259bp)	vacAs1a	vacAm2
K202	+	+	+	+	+	+
K246	+	+	+	+	+	-
K285	+	+	+	+	+	-
K288	+	+	+	+	+	+
K291	+	-	+	+	+	+
K318	+	-	+	+	+	-
K333	+	+	+	+	+	+
K344	+	-	+	+	+	+
K345	+	+	+	+	+	-

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตารางที่ 3.11 ข) กลุ่มโรคแผลในกระเพาะอาหาร (Peptic ulcer)

Spec. No	PCR test					
			vacA subtypes			
	cagA	iceA1	vacAs1 (201bp)	vacAs1 (259bp)	vacAs1a	vacAm2
K14	+	-	+	+	+	-
K24	+	-	+	+	+	+
K26	+	+	-	+	+	+
K39	+	+	-	+	+	-
K40	+	+	+	+	+	-
K48	+	-	+	+	+	+
K145	+	+	+	+	+	-
K166	+	-	+	+	+	+
K185	+	+	+	+	+	-
K187	+	+	+	+	+	-
K192	+	+	+	+	+	-
K200	+	-	+	+	+	-
K210	+	+	+	+	+	-
K215	+	+	+	+	+	-
K216	+	+	+	+	-	+
K243	+	+	+	+	+	-
K257	+	+	+	+	+	+
K262	+	+	-	+	+	+
K294	+	-	+	+	+	+
K322	-	+	-	+	+	+

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตารางที่ 3.11 ค) กลุ่มโรคแผลในลำไส้ส่วนต้น (Duodenal ulcer)

Spec. No	PCR test					
			vacA subtypes			
	cagA	iceA1	vacAs1 (201bp)	vacAs1 (259bp)	vacAs1a	vacAm2
K1	+	-	+	+	+	+
K2	+	+	+	+	+	-
K3	+	-	+	+	+	+
K6	+	+	+	+	+	-
K22	+	+	-	+	+	-
K23	+	-	-	+	+	+
K27	+	-	-	+	+	+
K35	+	+	+	+	+	-
K40	+	+	+	+	+	-
K47	+	+	+	+	+	-
K49	+	-	+	+	+	-
K50	+	+	+	+	+	-
K66	+	+	-	+	+	-
K69	+	-	+	+	+	-
K76	+	-	+	+	+	+
K82	+	-	-	+	+	+
K83	+	-	+	+	+	-
K89	+	-	-	+	+	-
K93	+	-	+	+	+	+
K108	+	-	+	+	+	-
K110	+	-	+	+	+	-

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตารางที่ 3.11 ค) (ต่อ) กลุ่มโรคแผลในลำไส้ส่วนต้น (Duodenal ulcer)

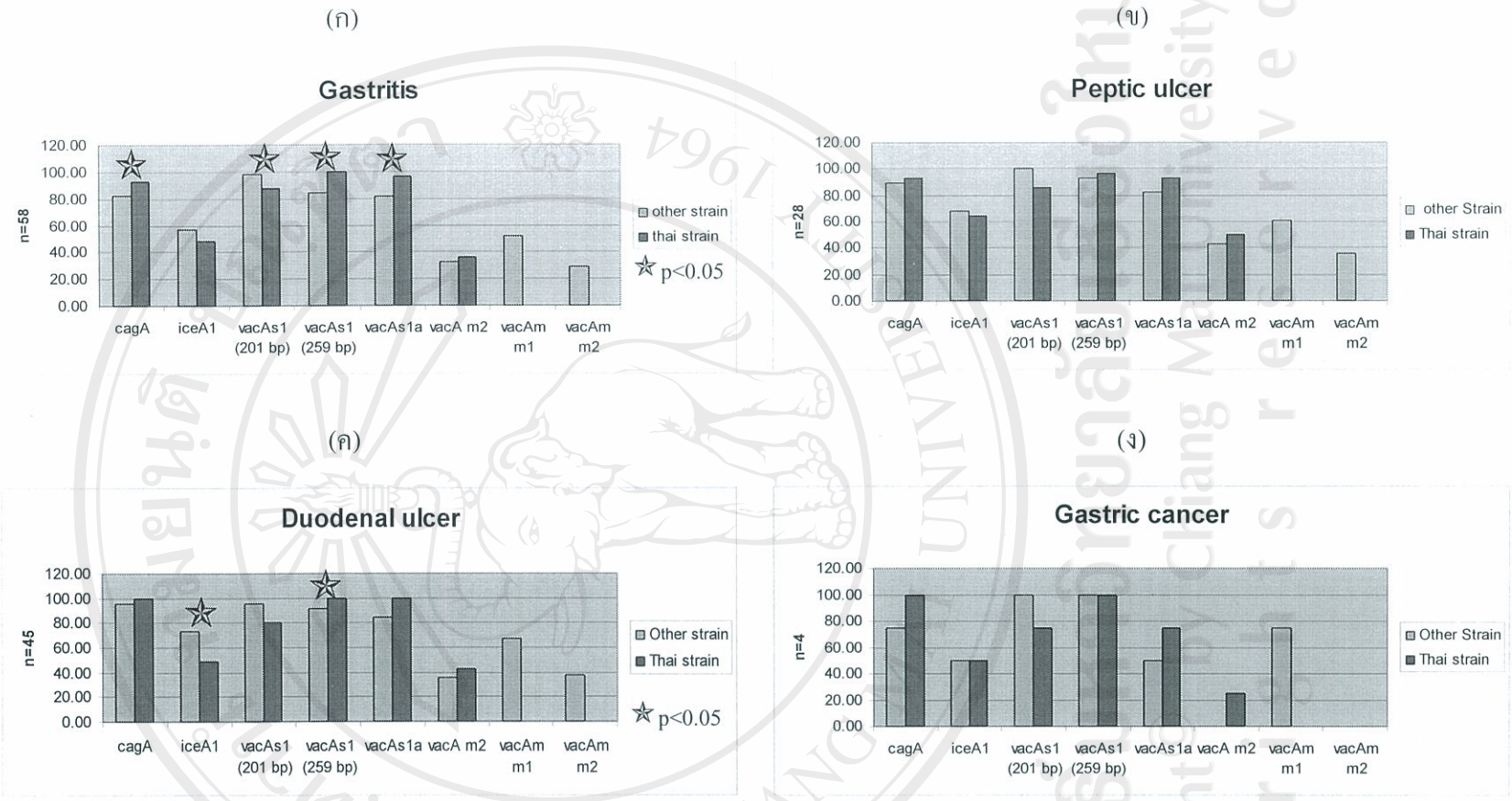
Spec. No	PCR test					
			vacA subtypes			
	cagA	iceA1	vacAs1 (201bp)	vacAs1 (259bp)	vacAs1a	vacAm2
K122	+	+	+	+	+	-
K125	+	-	-	+	+	-
K150	+	-	+	+	+	+
K215	+	+	+	+	+	-
K229	+	-	-	+	+	+
K243	+	+	+	+	+	-
K258	+	+	+	+	+	+
K259	+	+	+	+	+	+
K262	+	+	-	+	+	+
K267	+	-	+	+	+	-
K268	+	+	+	+	+	-
K282	+	+	+	+	+	-
K294	+	-	+	+	+	+
K297	+	-	+	+	+	+
K299	+	+	+	+	+	+
K307	+	+	+	+	+	+
K320	+	-	+	+	+	+
K335	+	+	+	+	+	-

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตารางที่ 3.12 ตัวอย่างที่ตรวจพบยีน cagA, vacA subtypes ชนิด s และ m และยีน iceA ของเชื้อ *H. pylori* โดยใช้ primer ที่ออกแบบโดยคณะวิจัยอื่นและ primer ที่จำเพาะต่อเชื้อสายพันธุ์คนไทย

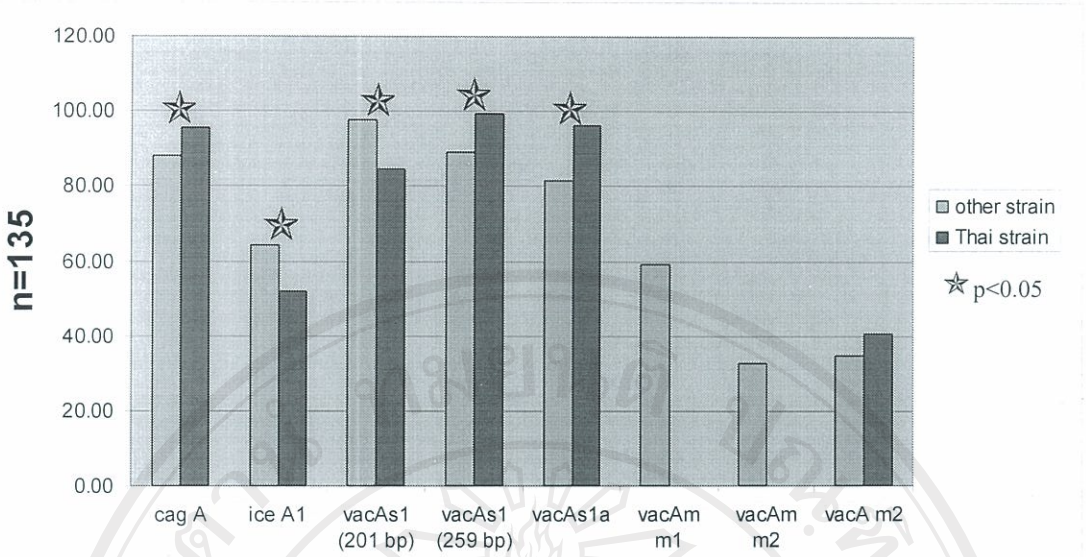
	ยีนเป้าหมาย	Gastritis		Peptic ulcer		Duodenal ulcer		Gastric cancer		รวม	
		n(58)	ร้อยละ	n(28)	ร้อยละ	n(45)	ร้อยละ	n(4)	ร้อยละ	n(135)	ร้อยละ
Primer จากนักวิจัยอื่น	cag A	48	82.76	25	89.29	43	95.56	3	75.00	119	88.15
	ice A1	33	56.90	19	67.86	33	73.33	2	50.00	87	64.44
	iceA2	20	34.48	6	21.43	12	26.67	1	26.67	39	28.89
	vacAs1 (201bp)	57	98.28	28	100.00	43	95.56	4	100.00	132	97.78
	vacAs1 (259 bp)	49	84.48	26	92.86	41	91.11	4	100.00	120	88.89
	vacAs1a	47	81.03	23	82.14	38	84.44	2	50.00	110	81.48
	vacAs1b	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	vacAs1c	30	51.72	19	67.86	40	88.89	1	25.00	90	66.67
	vacA s2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	vacAm m1	30	51.72	17	60.71	30	66.67	3	75.00	80	59.30
	vacAm m2	17	29.31	10	35.71	17	37.78	0	0.00	44	32.59
	vacAm2	19	32.76	12	42.86	16	35.56	0	0.00	47	34.81
Primer ที่จำเพาะต่อคนไทย	cag A	54	93.10	26	92.86	45	100.00	4	100.00	129	95.56
	iceA1	28	48.28	18	64.29	22	48.89	2	50.00	70	51.85
	vacAs1 (201bp)	51	87.93	24	85.71	36	80.00	3	75.00	114	84.44
	vacAs1 (259 bp)	58	100.00	27	96.43	45	100.00	4	100.00	134	99.26
	vacAs1a	56	96.55	26	92.86	45	100.00	3	75.00	130	96.30
	vacAm2	21	36.21	14	50.00	19	42.22	1	25.00	55	40.7

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



รูปที่ 3.7 เปรียบเทียบวิธี PCR ที่ตำแหน่งยีน cagA, iceA และ vacA subtypes ชนิดต่างๆของเชื้อ *H. pylori* โดยใช้ primer ที่ออกแบบจากคณะวิจัยอื่น (other strain) และ primer ที่จำเพาะต่อลำดับเบสของเชื้อที่พบในคนไทย (Thai strain); (ก) กลุ่มโรค gastritis; (ข) กลุ่มโรค peptic ulcer; (ค) กลุ่มโรค duodenal ulcer และ (ง) กลุ่มโรค gastric cancer

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



รูปที่ 3.8 เปรียบเทียบวิธี PCR ที่ใช้ primer จำเพาะต่อสายพันธุ์คนไทยและ primer จากคณะวิจัยอื่น ในการตรวจหายีน cagA, vacA subtypes ชนิดต่างๆและ iceA

3.7 ความสัมพันธ์ของยีน cagA, vacA subtypes ชนิด s และ m และ iceA ที่มีต่ออาการทางคลินิกของโรคกระเพาะ

ตารางที่ 3.13 แสดงถึงจำนวนตัวอย่างที่ให้ผลบวกของยีน cagA, vacA subtypes และ iceA ของเชื้อ *H. pylori* มากที่สุดจาก primer ที่ใช้ต่างกันในกลุ่มโรคต่างๆ และรูปที่ 3.9 เปรียบเทียบความชุกของยีน cagA, iceA และ vacA subtypes ชนิด s และ m ของเชื้อ *H. pylori* ในกลุ่มโรคกระเพาะอาหารอักเสบ โรคแผลในกระเพาะและโรคแผลในลำไส้ส่วนต้นและโรคมะเร็งกระเพาะอาหาร ตัวอย่างที่ตรวจพบยีน cagA ในกลุ่มโรคต่างๆอยู่ในช่วง 92.86-100% โดยความชุกของยีน cagA เมื่อเปรียบเทียบในกลุ่มโรคต่างๆจะไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) ส่วนยีนในส่วนของ vacA s region ที่พบมากคือ s1 ซึ่งคณะวิจัยนี้ได้ใช้ primer ที่ต่างกัน 2 คู่ ที่ให้ผลิตภัณฑ์ PCR ที่มีขนาด 201 bp และ 259 bp พบในช่วง 95.56-100% และเมื่อศึกษาถึง subtypesของ vacAs1 พบว่า subtypes s1a อยู่ในช่วง 75-100% หากไม่นำเอากลุ่มโรค gastric cancer มารวมเนื่องจากจำนวนตัวอย่างน้อย (n=4) จะพบความชุกของ s1a อยู่ในช่วง 92.86-100% ยีนที่พบรองลงมาคือ s1c ซึ่งพบ 51.72% ในกลุ่ม gastritis, 67.86% ในกลุ่ม peptic ulcer และ 88.89% ในกลุ่ม duodenal ulcer ส่วนยีน vacAs1b และ vacAs2 ตรวจไม่พบเลยในทุกกลุ่มโรค เมื่อนำมาหาความสัมพันธ์ระหว่างยีน subtype vacA และกลุ่มโรคต่างๆแล้วจะพบว่า vacAs1 และ vacAs1a ไม่พบความสัมพันธ์อย่างมี

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

นัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) แต่ยีน s1c จะพบว่ากลุ่มโรค duodenal ulcer มียีน vacAs1c มากกว่ากลุ่ม gastritis ($p<0.001$) และกลุ่ม peptic ulcer ($p<0.05$) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ส่วนยีน vacAs1b และ vacAs2 ตรวจไม่พบในกลุ่มศึกษา ในส่วนของยีน vacA m region พบยีน vacAm1 มากกว่า vacAm2 ในทุกกลุ่มโรค แต่ไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ความชุกของยีน vacAm1 จะสูงในกลุ่มที่เป็นแผลทั้งแผลในกระเพาะและลำไส้ส่วนต้นมากกว่าในกลุ่ม gastritis ในส่วนของยีน iceA พบยีน iceA1 มากกว่ายีน iceA2 และจะพบมากอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในกลุ่ม peptic ulcer ($p<0.015$) และกลุ่ม duodenal ulcer ($p< 0.001$) และพบยีน iceA1 ในกลุ่มที่เป็นแผลมากกว่ากลุ่มที่ไม่เป็นแผล แต่อย่างไรก็ตามไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตารางที่ 3.13 จำนวนตัวอย่างที่ให้ผลบวกของยีน cagA, vacA subtypes และ iceA ของเชื้อ *H. pylori* มากที่สุดจาก primer ที่ใช้ต่างกันในกลุ่มโรคต่างๆ

	Gastritis		Peptic ulcer		Duodenal ulcer		Gastric cancer		Total	
ยีนเป้าหมาย	n(58)	ร้อยละ	n(28)	ร้อยละ	n(45)	ร้อยละ	n(4)	ร้อยละ	n(135)	ร้อยละ
cagA*	54	93.10	26	92.86	45	100.00	4	100.00	129	95.56
iceA1**[a]	33	56.90	19	67.86	33	73.33	2	50.00	87	64.44
iceA2**	20	34.48	6	21.43	12	26.67	1	25.00	39	28.89
vacA										
s1 (201 bp)**	57	98.28	28	100.00	43	95.56	4	100.00	132	97.78
s1 (259 bp)*	58	100	27	96.43	45	100.00	4	100.00	134	99.26
s1a*	56	96.55	26	92.86	45	100.00	3	75.00	130	96.30
s1b**	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
s1c**[b]	30	51.72	19	67.86	40	88.89	1	25.00	90	66.67
s2**	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
m1**	30	51.72	17	60.71	30	66.67	3	75.00	80	59.30
m2*	21	36.21	14	50.00	19	42.22	1	25.00	55	40.70

* primer ที่ออกแบบจำเพาะต่อเชื้อ *H. pylori* สายพันธุ์คนไทย

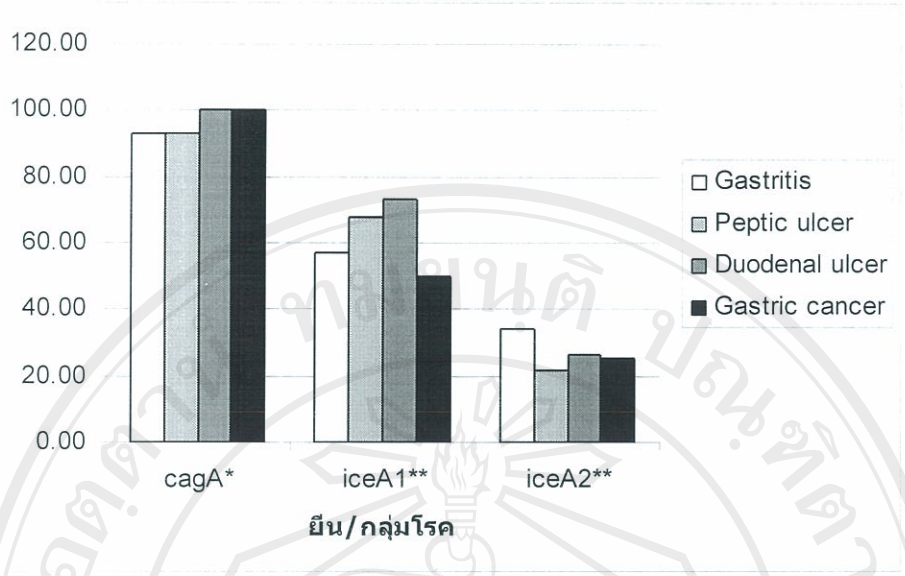
** primer ที่ออกแบบจากคณะวิจัยอื่น

[a] เปรียบเทียบความชุกของยีน iceA1 กับ iceA2 ($p<0.015$)

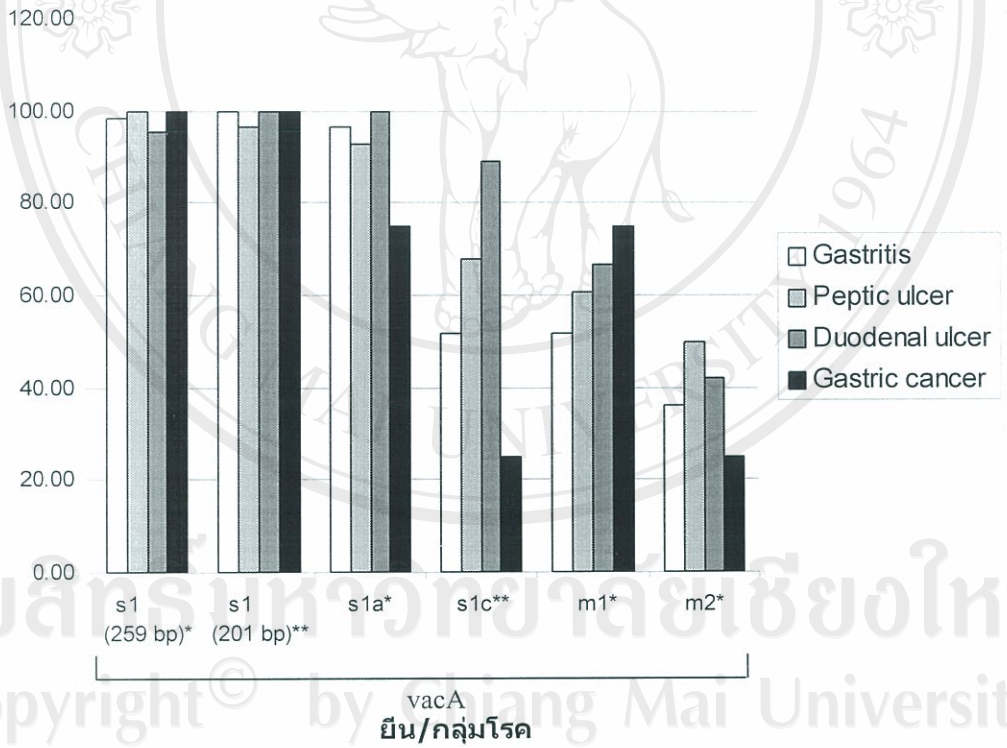
[b] เปรียบเทียบระหว่างกลุ่ม gastritis และกลุ่ม duodenal ulcer ($p<0.0001$)
เปรียบเทียบกลุ่ม duodenal ulcer และ peptic ulcer ($p<0.05$)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ก: ยีน cagA และ iceA



ข: ยีน vacA



ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

รูปที่ 3.9 เปรียบเทียบความชุกของยีน cagA, iceA และ vacA subtypes ชนิด s และ m ของเชื้อ *H. pylori* ในกลุ่มโรคกระเพาะอาหารอักเสบ โรคแผลในกระเพาะและโรคแผลลำไส้ส่วนต้นและโรคมะเร็งกระเพาะอาหาร ก: ยีน cagA และ iceA; ข: ยีน vacA (* primer ที่ออกแบบจำเพาะต่อเชื้อสายพันธุ์คนไทย ** primer ที่ออกแบบจากคณะวิจัยอื่น)

ยีน vacA subtypes ที่มีทั้งชนิด s และ m พบยีนชนิด vacAs1/m1 และ vacAs1a/m1 มากที่สุดโดยพบร้อยละ 59.26 เท่ากัน รองลงมาพบ vacAs1c/m1 51.85% ทั้งยีน vacAs1/m1, vacAs1a/m1 และ vacAs1c/m1 ไม่มีความสัมพันธ์กับความรุนแรงของโรคกระเพาะอาหาร อย่างไรก็ตามตัวอย่างที่มียีนผสมของ vacAs1a และ vacAs1c ซึ่งพบร้อยละ 66.67 ในตัวอย่างที่ตรวจและพบว่าตัวอย่างที่ได้จากกลุ่มโรค duodenal ulcer (88.89%) จะมีมากกว่ากลุ่มโรค gastritis (51.72%) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.0001$) และมากกว่ากลุ่ม peptic ulcer (67.86%) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเช่นกัน ($p<0.05$) ยีนร่วม s1/m1m2 s1a/m1m2 และ s1a/s1c/m1 จะพบในกลุ่ม duodenal ulcer มากกว่ากลุ่ม gastritis อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเช่นกัน ($p<0.05$)(ตารางที่ 3.14) ส่วนความชุกของเชื้อ *H. pylori* ในตัวอย่างเนื้อเยื่อกระเพาะที่พบเชื้อสายพันธุ์ vacA และ iceA มากกว่า 1 สายพันธุ์ แสดงไว้ในตารางที่ 3.15 จะพบว่าเชื้อที่พบสายพันธุ์ vacAs1a และ s1c อยู่ในตัวอย่างเนื้อเยื่อมากที่สุดคือ 66.67% ส่วนสายพันธุ์ที่มียีน m1 m2 จะพบเพียง 9.63% ตัวอย่างที่พบ iceA1+iceA2 จะพบเพียง 3.70%

ตารางที่ 3.14 ยีน vacA ในตัวอย่างเนื้อเยื่อโดยแยกเป็นกลุ่มโรคกระเพาะอาหารต่างๆ

ยีน vacA	Gastritis		Peptic ulcer		Duodenal ulcer		Gastric cancer		Total	
	n(58)	ร้อยละ	n(28)	ร้อยละ	n(45)	ร้อยละ	n(4)	ร้อยละ	n(135)	ร้อยละ
s1/m1	30	51.72	17	60.71	30	66.67	3	75.00	80	59.26
s1/m2	21	36.21	14	50.00	19	42.22	1	25.00	55	40.74
s1/m1m2*	1	1.72	5	17.86	6	13.33	1	25.00	13	9.63
s1a/m1	30	51.72	17	60.71	30	66.67	3	75.00	80	59.26
s1a/m2	21	36.21	13	46.43	19	42.22	1	25.00	54	40.00
s1a/m1m2*	1	1.72	5	17.86	6	13.33	1	25.00	13	9.63
s1c/m1	30	51.72	12	42.86	27	60.00	1	25.00	70	51.85
s1c/m2	14	24.14	10	35.71	17	37.78	1	25.00	42	31.11
s1c/m1m2	1	1.72	4	14.29	6	13.33	1	25.00	12	8.89
s1a/s1c*,**	30	51.72	19	67.86	40	88.89	0	0	89	65.93
s1a/s1c/m1*	13	22.41	12	42.86	27	60.00	0	0	52	38.52
s1a/s1c/m2	14	24.14	10	35.71	17	37.78	0	0	41	30.37
s1a/s1c/m1m2	1	1.72	3	10.71	6	13.33	0	0	10	7.07

* เปรียบเทียบกลุ่มgastritis และกลุ่ม duodenal ulcer ($p<0.0001$)

** เปรียบเทียบกลุ่ม peptic ulcer และ duodenal ulcer ($p<0.05$)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตารางที่ 3.15 ความชุกของเชื้อ *H. pylori* ในตัวอย่างเนื้อเยื่อกระเพาะที่พบเชื้อสายพันธุ์ vacA และ iceA มากกว่าหนึ่งสายพันธุ์

Genotype	Gastritis		Peptic ulcer		Duodenal ulcer		Gastric cancer		Total	
	n(58)	ร้อยละ	n(28)	ร้อยละ	n(45)	ร้อยละ	n(4)	ร้อยละ	n(135)	ร้อยละ
vacA										
s1a + s1c*,**	30	51.72	19	67.86	40	88.89	1	25.00	90	66.67
m1 + m2	1	1.72	5	17.86	6	13.33	1	25.00	13	9.63
iceA										
iceA1 + iceA2	2	3.45	0	0	3	6.67	0	0	5	3.70

* เปรียบเทียบระหว่างกลุ่มgastritis และกลุ่ม duodenal ulcer ($p<0.0001$)

** เปรียบเทียบระหว่างกลุ่ม peptic ulcer และ duodenal ulcer ($p<0.035$)

ตารางที่ 3.16 แสดงตัวอย่างเนื้อเยื่อกระเพาะผู้ป่วยที่ติดเชื้อสายพันธุ์ผสมที่มียีน cagA, vacA และ iceA อยู่ด้วยในกลุ่มโรคกระเพาะชนิดต่างๆ พบยีนผสม cagA/vacAs1a/m1/iceA1 มากที่สุดคือ 38.52% รองลงมาคือ cagA/vacAs1a/m2/iceA1 (26.67%) อย่างไรก็ตามเมื่อเปรียบเทียบยีนผสมกับกลุ่มโรคกระเพาะแล้วพบว่ากลุ่มยีนที่มียีน vacA ชนิด m1 และ iceA1 ซึ่งได้แก่กลุ่มยีน cagA/vacAs1a/m1/iceA1, cagA/vacAs1c/m1/iceA1 และ cagA/vacAs1a/s1c/m1/iceA1 จะพบในกลุ่มตัวอย่างจากผู้ป่วยที่เป็นแผลมากกว่ากลุ่มที่ไม่เป็นแผล และเมื่อเปรียบเทียบระหว่างกลุ่ม duodenal ulcer และกลุ่ม gastritis พบว่ากลุ่ม duodenal ulcer จะมียีนกลุ่มดังกล่าวมากกว่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$).

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตารางที่ 3.16 ตัวอย่างเนื้อเยื่อที่พบยีน cagA, vacA และ iceA ในตัวอย่างเดียวกันและความสัมพันธ์ของยีนเหล่านี้กับความรุนแรงของโรคกระเพาะอาหาร

ยีนรวม	Gastritis		Peptic ulcer		Duodenal ulcer		Gastric cancer		Total	
	n(58)	ร้อยละ	n(28)	ร้อยละ	n(45)	ร้อยละ	n(4)	ร้อยละ	n(135)	ร้อยละ
cagA/vacAs1a/m1/iceA1*	17	29.13	11	39.29	22	48.89	2	50	52	38.52
cagA/vacAs1a/m1/iceA2	8	13.79	4	14.29	7	15.56	0	0	19	14.07
cagA/vacAs1a/m2/iceA1	13	22.41	7	25.00	15	33.33	1	25.00	36	26.67
cagA/vacAs1a/m2/iceA2	7	12.07	4	14.29	6	13.33	0	0	17	12.59
cagA/vacAs1c/m1/iceA1*	7	12.07	7	25.00	19	42.22	1	25.00	34	25.19
cagA/vacAs1c/m1/iceA2	4	6.90	3	10.71	7	15.56	0	0	14	10.37
cagA/vacAs1c/m2/iceA1	8	13.79	4	14.29	13	28.89	1	25.00	26	19.26
cagA/vacAs1c/m2/iceA2	6	10.34	4	14.29	5	11.11	0	0	15	11.11
cagA/vacAs1a/s1c/m1/iceA1*	7	12.07	7	25.00	19	42.22	0	0	33	24.44
cagA/vacAs1a/s1c/m1/iceA2	4	6.90	3	10.71	7	15.56	0	0	14	10.37
cagA/vacAs1a/s1c/m2/iceA1	8	13.79	4	14.29	13	28.89	0	0	25	18.52
cagA/vacAs1a/s1c/m2/iceA2	6	10.34	4	14.29	5	11.11	0	0	15	11.11

* เปรียบเทียบระหว่างกลุ่ม gastritis และกลุ่ม duodenal ulcer ($p<0.05$)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

บทที่ 4
วิจารณ์และสรุปผล

นับตั้งแต่นายแพทย์ชาวออสเตรเลียสองท่านคือ Dr. Barry Marshall และ Dr. Robin Warren ได้รายงานถึงความสำเร็จในการเพาะเลี้ยงเชื้อ *H. pylori* และสามารถแยกเชื้อได้จากเนื้อเยื่อกระเพาะอาหาร และนอกจากนี้แล้วยังสามารถพิสูจน์ว่าเชื้อตัวนี้มีความสัมพันธ์กับการเกิดโรคกระเพาะอาหารอักเสบและแผลในกระเพาะอาหาร ในปี ค.ศ. 1984 (27) ตั้งแต่นั้นเป็นต้นมานักวิจัยต่างๆแทบทุกภูมิภาคของโลกได้พากันตื่นตัวในการศึกษาเชื้อตัวนี้ ทั้งทางด้านระบาดวิทยาและการก่อโรค ทางด้านระบาดวิทยา ได้พบว่าเกือบครึ่งหนึ่งของประชากรโลกติดเชื้อ *H. pylori* ซึ่งในประเทศที่พัฒนาแล้วอาจสูงถึง 25% และในประเทศที่กำลังพัฒนาความชุกของการติดเชื้อนี้จะสูงถึง 80% (28) ผู้ติดเชื้อส่วนใหญ่แล้วจะไม่มีอาการทางคลินิก มีเพียง20%ของผู้ติดเชื้อจะเกิดอาการรุนแรงทางคลินิก เช่นเกิดอาการกระเพาะอักเสบอย่างรุนแรง เกิดแผลในกระเพาะหรือในลำไส้ส่วนต้นและมะเร็งกระเพาะอาหาร (7) โดยที่สาเหตุของการเกิดโรคอาจมาจากหลายปัจจัยเช่น ปัจจัยจากผู้ติดเชื้อ ปัจจัยเฉพาะของเชื้อที่มีความรุนแรงต่างกัน ปัจจัยทางสิ่งแวดล้อมหรืออาจเกิดจากปัจจัยร่วมที่กล่าวมาแล้ว ซึ่งปัจจุบันนี้ยังไม่สามารถสรุปสาเหตุที่ทำให้เกิดความรุนแรงของโรคได้อย่างชัดเจน (8) ในส่วนของปัจจัยเฉพาะของตัวเชื้อ *H. pylori* พบว่าสายพันธุ์ที่มียีน cagA ซึ่งจะสร้าง interleukin 8 ในเซลล์เยื่อบุผิว ซึ่งสาร interleukin นี้จะเป็นตัวล่อให้เซลล์เม็ดเลือดขาวชนิด neutrophil เข้ามาในส่วนชั้นเนื้อเยื่อเกี่ยวพันของผนังเยื่อบุเมือก (lamina propria) ที่แทรกอยู่ระหว่างเซลล์เยื่อบุผิว (epithelium cell) ซึ่งการเกิดแผลอาจเกิดจาก neutorphil ที่มีจำนวนมากหลั่งสารที่มีคุณสมบัติย่อยเนื้อเยื่อเช่น เอนไซม์ protease ออกมา (6) ส่วนสายพันธุ์ที่มียีนชนิด vacA ซึ่งพบประมาณ 50% ของเชื้อจะผลิตสารพิษ vacuolating cytotoxin โดยเชื้อตัวนี้จะประกอบด้วยยีน 2 ชนิดคือ ชนิด signal sequence (s region) และชนิด middle region (m region) ซึ่งชนิด signal sequence แบ่งเป็นกลุ่มย่อย s1 และ s2 ในกลุ่มย่อย s1 ได้มีการแยกย่อยออกไปอีกคือ s1a, s1b และ s1c โดยเชื้อที่มียีน s1, s1a จะทำให้เกิดโรคมากกว่าสายพันธุ์ที่มียีน s1b หรือสายพันธุ์ s2 ส่วนยีนอีกชนิดหนึ่งคือชนิด m region แยกย่อยออกเป็น m1 และ m2 ยีน vacAm1 จะมีความสัมพันธ์กับการเกิดการทำลายเยื่อบุผิวกระเพาะ (gastric epithelial damage) มากกว่าสายพันธุ์ m2 เชื้อแต่ละตัวอาจมีทั้งชนิด s และ m หรืออาจมีหลายๆชนิดย่อยของ s และ m ก็ได้ ซึ่งสายพันธุ์ชนิด s1/m1 จะผลิตสารพิษ (cytotoxin) ในปริมาณที่สูงมาก ส่วน s1/m2 จะผลิตสารพิษในระดับปานกลาง ส่วน s2/m2 จะผลิตสารพิษในระดับน้อยมากหรืออาจไม่ผลิตเลย อย่างไรก็ตามสารพิษจาก m2 สามารถเหนี่ยวนำการเกิด vacuolation ในเซลล์กระเพาะได้ (17) ส่วนยีน iceA

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

คณะวิจัยของ Peek (29) พบว่ามียีนย่อยอยู่ 2 ชนิดคือ iceA1 และ iceA2 โดยกลไกการทำงานคล้ายๆกับการทำงานของ type II restriction endonuclease ซึ่งจะเหนี่ยวนำให้เกิดการเกาะติดกับเซลล์เยื่อบุผิว (epithelium cell) ในกระเพาะและอาจมีความสัมพันธ์กับการเกิดแผลในกระเพาะอาหาร อย่างไรก็ตามหน้าที่ของยีน iceA ที่ชัดเจนยังไม่ทราบ

จากการที่มีรายงานการศึกษายีนที่อาจเป็นสาเหตุทำให้เกิดความรุนแรงของโรคคือยีน cagA, vacA และ iceA ดังกล่าวข้างต้นแล้วได้มีรายงานการศึกษาถึงระบาดวิทยาโมเลกุลของยีนดังกล่าวกับความสัมพันธ์กับโรคกระเพาะอาหารชนิดเป็นแผลและไม่เป็นแผลและโรคมะเร็งกระเพาะอาหารจากประเทศที่อยู่ตามภูมิภาคต่างๆทั่วโลก เช่นประเทศสหรัฐอเมริกา ประเทศในทวีปยุโรป ในทวีปอเมริกาใต้ ทวีปอัฟริกา ทวีปเอเชียใต้และทวีปเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ เป็นต้น ซึ่งผลการศึกษาจะมีความขัดแย้งกันอยู่บ้าง เช่นการศึกษาของประเทศแถบยุโรป พบเชื้อที่มียีน cagA อยู่ประมาณ 60-70% และพบว่ามีความสัมพันธ์กับการเกิดแผลในกระเพาะอาหาร (9, 10, 11, 12) ในขณะที่ประเทศแถบทวีปเอเชียเช่น ในประเทศจีนซึ่งมีการศึกษาในเมืองต่างๆหลายเมือง ประเทศญี่ปุ่น เกาหลี พบยีน cagA มากกว่า 90% และไม่พบความสัมพันธ์ของ cagA กับอาการทางคลินิก (14, 15, 16)

คณะวิจัยชุดนี้ได้ทำการศึกษาระบาดวิทยาโมเลกุลของยีน cagA, vacA subtypes ชนิด s และ m และ iceA ของเชื้อ *H. pylori* และความสัมพันธ์ของยีนดังกล่าวต่ออาการทางคลินิกของผู้ป่วยโรคกระเพาะอาหารในภาคเหนือของประเทศไทย นับว่าเป็นการศึกษายีน vacA subtypes และ iceA ฉบับแรกของประเทศไทย ซึ่งผลการศึกษาในตัวอย่างเนื้อเยื่อกระเพาะผู้ป่วยจำนวน 135 คน ตรวจพบยีน cagA ถึง 95.56% เมื่อใช้ primer ที่จำเพาะต่อเชื้อ *H. pylori* ที่ได้จากสายพันธุ์คนไทยและไม่พบความสัมพันธ์ระหว่างยีน cagA กับกลุ่มโรคกระเพาะชนิดต่างๆ ซึ่งผลจากการศึกษานี้เป็นไปในทิศทางเดียวกับผลการศึกษาจากประเทศในแถบทวีปเอเชียเช่น จีน ญี่ปุ่น เกาหลี ไต้หวันและฮ่องกง (26, 34, 35, 36) และการศึกษาในประเทศไทยของ Mahachai และคณะ ซึ่งใช้การตรวจหา antibody ต่อ cagA (13) การศึกษายีน vacA subtypes ชนิด s และ m จะพบยีน vacAs1 มากที่สุด คณะวิจัยนี้ได้ใช้ PCR primer 2 คู่ ที่จำเพาะต่อยีน vacAs1 โดยให้ผลิตภัณฑ์ PCR ที่ 201 bp และ 259 bp พบความชุกของยีนนี้ 97.78 % และ 88.89% ตามลำดับ เมื่อออกแบบ primer โดยให้จำเพาะต่อสายพันธ์คนไทยของ vacAs1 (259 bp) พบว่าสามารถตรวจพบยีนดังกล่าวได้สูงถึง 99.26% ส่วน vacAs2 ตรวจไม่พบเลย ซึ่งแสดงให้เห็นว่าผู้ป่วยโรคกระเพาะอาหารจะติดเชื้อ *H. pylori* สายพันธุ์ vacAs1 เกือบทั้งหมด เมื่อศึกษายีน vacAs1 โดยแบ่งย่อยเป็น s1a, s1b และ s1c จะพบยีน s1a 96.30% เมื่อใช้ primer จำเพาะต่อสายพันธุ์ของเชื้อในคนไทยรองลงมาคือ s1c พบ 66.67% ส่วน s1b ตรวจไม่พบเลย ซึ่งผลการศึกษานี้จะใกล้เคียงกับรายงานการศึกษาของ Li และคณะ (30) ที่รายงานการศึกษาในผู้ป่วยโรคแผลในกระเพาะและโรคมะเร็งกระเพาะในกรุงโซล ประเทศเกาหลี โดย

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ใช้ primer คู่เดียวกันกับคณะวิจัยนี้ พบยีน s1a ถึง 100% แต่ไม่พบ s1b และพบ s2 ค่อนข้างต่ำ คือ 8.7% การศึกษาในเมืองเซี่ยงไฮ้ ประเทศจีน โดย Pan และคณะ (31) พบยีน s1a สูงถึง 91.67% เช่นเดียวกันและไม่พบยีน s1b และ s2 ซึ่งยีน 2 ตัวนี้จะพบบ่อยในประเทศสหรัฐอเมริกาและประเทศในทวีปอเมริกาใต้ เช่นประเทศบราซิล โคลัมเบีย และเม็กซิโก (21, 26, 32) ส่วนยีน s1c พบมากในประเทศเกาหลี ฮ่องกงและไต้หวัน (33, 34, 35) ในส่วนของ vacA m-region พบ m1 มากกว่า m2 แต่อย่างไรก็ตาม ไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ แสดงให้เห็นว่าผู้ป่วยที่อยู่ในภาคเหนือของประเทศไทยจะติดเชื้อ *H. pylori* สายพันธุ์ที่ผลิตสารพิษเป็นจำนวนมาก (s1a, s1c และ m1) เมื่อศึกษาถึงยีน vacA ที่มีส่วนของยีนทั้ง s และ m ร่วมกันและยีนผสมของยีนย่อย vacAs1 พบว่ายีนที่เป็นสายพันธุ์ผสมเช่น s1a/s1c หรือ m1m2 เช่นยีนร่วม s1/m1m2, s1a/m1m2, s1a/s1c, s1a/s1c/m1, s1a/s1c/m1m2 มีความสัมพันธ์กับการเกิดแผลในลำไส้ส่วนต้นอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) ซึ่งผลการศึกษานี้จะคล้ายกับการศึกษาจากประเทศ Mexico ที่พบสายพันธุ์ผสมในผู้ป่วยที่เป็นแผลในกระเพาะ (95%) มากกว่าผู้ป่วยที่ไม่เป็นแผล (37% $p<0.001$) (32) นอกจากนี้แล้วผลการศึกษานี้ยังพบว่าความชุกของเชื้อในตัวอย่างเดียวกันมีสายพันธุ์ vacA มากกว่าหนึ่งสายพันธุ์ถึง 76.3% ซึ่งอาจไม่แปลกใจทั้งนี้เพราะระบาดวิทยาของเชื้อ *H. pylori* ในประเทศไทยมีความชุกค่อนข้างสูงทุกกลุ่มอายุเช่น การศึกษาในประชากรไทยภาคอีสานพบว่าเด็กอายุ 5-9 ปี จะพบเชื้อ 17.5% และเพิ่มขึ้นเป็น 55% ในกลุ่มอายุ 15-29 ปี และพบสูงถึง75% ในกลุ่มอายุ 30-49 ปี และในเด็กที่อยู่บ้านเด็กกำพร้าที่มีอายุ 3-4 ปี จะมีอัตราการติดเชื้อสูงถึง 74% (36) การศึกษาในเด็กชายและหญิงที่มีสุขภาพดีในจังหวัดเชียงใหม่อายุตั้งแต่ 2 เดือนจนถึง 16 ปี โดยใช้วิธีการตรวจที่แตกต่างกันตามอายุของกลุ่มศึกษาเช่น ตรวจหาแอนติบอดีต่อเชื้อในปัสสาวะด้วยวิธี immunochromatography และตรวจในตัวอย่างอุจจาระในเด็กที่มีอายุต่ำกว่า 5 ปี ส่วนในเด็กโตจะใช้วิธี C-13-urea breath test พบอัตราชุกในเด็กหญิงคือ 51% และในเด็กชาย 44% (37) ล่าสุดการศึกษาระดับประเทศ ในปี พ.ศ. 2546 โดย Atisook และคณะ(38) ได้รายงานการติดเชื้อ *H. pylori* ทั่วทุกภาคโดยศึกษาผู้ป่วยที่มีประวัติการเป็นโรคกระเพาะพบผู้ติดเชื้อถึง 48.2% และพบมากที่สุดในกลุ่มอายุ 31-60 ปี ดังนั้นการที่ประเทศไทยมีอัตราชุกของการติดเชื้อ *H. pylori* สูงทั้งในเด็กและผู้ใหญ่ การพบเชื้อมากกว่าหนึ่งสายพันธุ์ในคนเดียวกันอาจเกิดขึ้นได้เนื่องจากการติดเชื้อตั้งแต่เด็ก เชื้ออาจอยู่ในตัวเด็กจนโตหากไม่ได้รับการรักษา นอกจากนี้แล้ววิถีชีวิตของการอยู่ร่วมกันในครอบครัวเช่นวัฒนธรรมการรับประทานอาหาร โดยทั่วไปแล้วจะรับประทานร่วมกันและไม่นิยมใช้ช้อนกลาง นอกจากนี้แล้วความเป็นอยู่โดยทั่วไปโดยเฉพาะชาวชนบทจะไม่ค่อยถูกสุขลักษณะจึงทำให้เกิดการแพร่เชื้อระหว่างสมาชิกในครอบครัวและ/หรือนอกครอบครัวได้ การพบสายพันธุ์ของเชื้อมากกว่าหนึ่งสายพันธุ์ได้มีรายงานจากคณะวิจัยอื่นๆ เช่น Gong และคณะ (39) พบสายพันธุ์ของยีน vacAm1m2 ในสองเมืองทางตอนเหนือของประเทศจีนสูงถึง 44.86-52.38% การที่เชื้อ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

หลายสายพันธุ์อยู่ในกลุ่มผู้ติดเชื้อคนเดียวกันอาจสะท้อนให้เห็นถึงเชื้อหลายสายพันธุ์สามารถอยู่ร่วมกันในกระเพาะอาหารเดียวกันได้

การศึกษาในส่วนของยีน iceA ของคณะวิจัยชุดนี้พบ iceA1 (64.44%) มากกว่า iceA2 (28.89%) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) และในกลุ่มเป็นแผลจะมีแนวโน้มพบ iceA1 มากกว่ากลุ่มไม่เป็นแผล ยีน iceA1 น่าจะเป็นยีนเด่นในแถบทวีปเอเชีย โดยจากรายงานการศึกษาในประเทศญี่ปุ่น เกาหลี ฮ่องกงและไต้หวัน (26, 34, 35, 36) ก็พบยีน iceA1 มากกว่า iceA2 นอกจากนี้แล้วผลการศึกษานี้ยังแสดงให้เห็นว่าสายพันธุ์เชื้อ *H. pylori* ที่มีกลุ่มยีน cagA/vacAs1a/m1/iceA1, cagA/vacAs1c/m1/iceA1 และ cagA/vacAs1a/s1c/m1/iceA1 ซึ่งจะพบมากที่สุดในกลุ่มผู้ป่วยที่เป็นโรคแผลในกระเพาะและลำไส้ส่วนต้น ลักษณะยีน vacA ชนิด m1 ร่วมกับยีน iceA1 สามารถบ่งชี้การเกิดแผลในกระเพาะอาหารและลำไส้ส่วนต้นได้ดีที่สุด ซึ่งผลการศึกษานี้จะเป็นไปในทิศทางเดียวกันกับการศึกษาของ van Doorn และคณะ (40) ที่พบว่าเชื้อที่มียีนร่วม vacAs1/cagA^{+}/iceA1 สามารถบ่งบอกได้ ว่าเป็นตัวก่อโรคได้มากที่สุด และเป็นกลุ่มยีนที่พบมากที่สุดในผู้ป่วยที่เป็นแผล

วิธีการศึกษาระบาดวิทยาโมเลกุลของเชื้อ *H. pylori* ตลอดจนความสัมพันธ์ระหว่างยีน cagA, vacA subtypes ชนิด s และ m และยีน iceA กับลักษณะอาการทางคลินิกของโรคกระเพาะจะใช้วิธี PCR มาตรฐาน เทคนิค PCR based DNA fingerprinting เช่น Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP-PCR) (31) Multiplex PCR และวิธี Reverse hybridization-line probe assay (LiPA-PCR) (34) ในส่วนของวิธี PCR มาตรฐาน primer ที่ใช้จะต่างกันบ้าง ดังนั้นความไว (sensitivity) ในการตรวจอาจต่างกัน ทำให้ความชุกของยีนที่ตรวจต่างกันด้วย นอกจากนี้แล้วตัวอย่างเชื้อ *H. pylori* ที่ตรวจมาจากแหล่งที่ต่างกันเช่น มากจากการเพาะเลี้ยง จากตัวอย่างเนื้อเยื่อกระเพาะที่ได้จากผู้ป่วยโดยตรง ตัวอย่างเนื้อเยื่อที่ฝังในพาราฟินซึ่งเก็บไว้หลังจากการตรวจด้วยวิธีทางพยาธิวิทยาหรือเนื้อเยื่อมาจากการตรวจวินิจฉัยโดยวิธี CLO test แล้วซึ่งจะมีข้อดีและข้อด้อยแตกต่างกันไป

จากการที่มีการนำวิธี PCR มาศึกษาในตัวอย่างเนื้อเยื่อที่ฝังในพาราฟินและเก็บไว้หลังจากการวินิจฉัยทางด้านพยาธิวิทยา เช่นการศึกษาโรคทางพันธุกรรม การวิจัยด้านมะเร็ง เพื่อศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างการกลายพันธุ์ของ oncogene และการเกิดโรคมะเร็ง และยังได้มีการนำมาศึกษาในเนื้อเยื่อที่ติดเชื้อแบคทีเรียหรือไวรัส ซึ่ง Greer และคณะ (41) ได้ประสบความสำเร็จในการสกัด DNA ที่มีขนาดระหว่าง 110-1327 bp จากเนื้อเยื่อที่ฝังในพาราฟินเพื่อใช้เป็นแม่พิมพ์ DNA ของการทำ PCR โดยพบว่าตัวอย่างเนื้อเยื่อที่ดีที่สุดคือ เนื้อเยื่อที่แช่ใน acetone หรือ 10% buffer neutral formalin ในส่วนของการศึกษาเชื้อ *H. pylori* ได้มีรายงานการใช้เนื้อเยื่อกระเพาะฝังในพาราฟิน ซึ่งเป็นตัวอย่างเนื้อเยื่อที่เก็บไว้หลังจากตรวจวินิจฉัยด้วยวิธีทางพยาธิวิทยาแล้วโดยนำมาตรวจหายีน cagA, vacA ละ iceA โดยวิธี PCR ในกลุ่มผู้ป่วยโรค

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

กระเพาะอักเสบรุนแรงและมะเร็งกระเพาะชนิด adenocarcinoma และ mucosa associated lymphoid tissue (MALT lymphoma) สามารถตรวจได้ 91 ใน 121 ตัวอย่าง (75.2%) (42) ในการศึกษานี้คณะวิจัยสามารถสกัด DNA ของเชื้อ *H. pylori* จากตัวอย่างที่ได้แช่ใน 10% buffer neutral formalin และฝังในพาราฟิน 50 ใน 94 ตัวอย่าง (53.2%) โดยสกัดจากตัวอย่างเนื้อเยื่อผู้ป่วยที่เป็นโรคแผลในกระเพาะและแผลในลำไส้ส่วนต้นได้สูงถึง 87.5% ส่วนในตัวอย่างเนื้อเยื่อจากผู้ป่วยที่เป็นโรคมะเร็งในกระเพาะสามารถสกัดได้เพียง 16.7% ซึ่งประสิทธิภาพการสกัดเชื้อได้ค่อนข้างต่ำอาจเนื่องมาจากเนื้อเยื่อที่เก็บไว้บางตัวอย่างค่อนข้างนานคือ ตั้งแต่ปี ค.ศ. 2000 และเนื่องมาจาก *H. pylori* เป็นเชื้อที่อาศัยอยู่ใต้เซลล์เยื่อเมือก (mucosa cell) ในกระเพาะอาหารซึ่งอยู่ส่วนบน หากมีการตัดชิ้นเนื้อเพื่อวินิจฉัยทางพยาธิวิทยาหลายชิ้น อาจทำให้จำนวนเชื้อที่มีอยู่ตรงผิวลดลงหรืออาจหมดไป ประสิทธิภาพในการสกัดเชื้อจากเนื้อเยื่อในกลุ่มโรคมะเร็งค่อนข้างต่ำมาก อาจเป็นเพราะตำแหน่งการตัดชิ้นเนื้อกระเพาะอาจพบเชื้อน้อย ทั้งนี้ในส่วนเนื้อกระเพาะที่เป็นมะเร็งจะไม่พบเชื้อ *H. pylori* จึงต้องตัดจากตำแหน่งอื่น

ในประเทศที่กำลังพัฒนา การตรวจเชื้อ *H. pylori* ในผู้ป่วยที่เป็นโรคกระเพาะจะนิยมใช้วิธีตรวจหาเอนไซม์ urease ในชิ้นเนื้อที่ได้จากการส่องกล้องกระเพาะ ทั้งนี้เพราะราคาค่อนข้างถูกและได้ผลรวดเร็ว Cutler และคณะ (43) ได้เสนอแนะว่าเมื่อตรวจเอนไซม์ urease ในชิ้นเนื้อและให้ผลบวกคงจะไม่จำเป็นที่จะตรวจวิธีอื่นเพิ่มเติม นอกเสียจากเมื่อผลเป็นลบและมีการวินิจฉัยว่าผู้ป่วยน่าจะติดเชื้อ Linpisarn และคณะ (25) ได้นำเอาชิ้นเนื้อที่ได้จากการตรวจวินิจฉัยเอนไซม์ urease โดยน้ำยาสำเร็จรูป CLO test® มาตรวจหาเชื้อ *H. pylori* โดยวิธี PCR พบว่า sensitivity และ specificity มากกว่า 80% ในการศึกษานี้คณะวิจัยได้ใช้เนื้อเยื่อกระเพาะที่ให้ผลบวกด้วย CLO test® นำมาสกัด DNA และตรวจหาเชื้อ *H. pylori* โดยใช้ primer ที่จำเพาะต่อยีนที่มีขนาด 860 bp โดยตัวอย่างที่ให้ผลบวกจะนำมาศึกษายีน cagA, vacA และ iceA และการนำเอาเนื้อเยื่อจากการตรวจ CLO test® มาใช้ในการศึกษานี้ขอดีคือ ไม่จำเป็นต้องตัดชิ้นเนื้อเพิ่มและการประกันว่ามีเชื้อ *H. pylori* ในตัวอย่างเนื้อเยื่อ ซึ่งหากยีนที่ศึกษาสามารถบ่งบอกความรุนแรงของโรคได้ก็จะเป็นประโยชน์อย่างมากต่อการวางแผนการรักษาให้มีประสิทธิภาพมากขึ้น

คณะวิจัยนี้ใช้วิธี PCR มาตรฐานในการตรวจหายีน cagA, vacA subtypes ชนิด s และ m และ iceA และจากการศึกษาลำดับเบสของผลิตภัณฑ์ PCR ที่ได้เพื่อเป็นการยืนยันถึงยีนที่ศึกษา ซึ่งพบลำดับเบสที่เหมือนกับที่รายงานใน GenbBank อยู่ในค่าเฉลี่ยช่วง 91.92-96.89% อย่างไรก็ตามยังมีความแตกต่างของลำดับเบสในแต่ละยีนอยู่บ้าง มีหลายงานวิจัยที่รายงานถึงการออกแบบ primer ที่จำเพาะต่อยีนสายพันธุ์ที่พบในกลุ่มศึกษา เช่นการออกแบบ primer ที่จำเพาะต่อยีนสายพันธุ์เชื้อ *H. pylori* ที่พบในประเทศจีนและญี่ปุ่น (14, 15, 22) สามารถตรวจพบยีนของเชื้อ *H. pylori* ได้มากกว่า primer ที่ออกแบบจากลำดับเบสที่ได้จากเชื้อ *H. pylori*

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

สายพันธุ์ในผู้ป่วยชาวตะวันตก คณะวิจัยนี้ได้ออกแบบ primer ที่จำเพาะต่อเชื้อที่พบในคนไทย และพบว่าที่ตำแหน่งยีน cagA, vacAs1 และ vacAs1a สามารถตรวจพบยีนเหล่านี้ได้มากกว่าเมื่อใช้ primer ที่ออกแบบจำเพาะต่อเชื้อที่พบในผู้ป่วยชาวตะวันตกอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) โดยตรวจพบยีนได้เพิ่มมากขึ้น 8.4%, 11.67% และ 18.19% ตามลำดับ

สรุปผลการวิจัยครั้งนี้ คณะวิจัยได้หาสภาวะที่เหมาะสม วิธี PCR มาตรฐานในการศึกษายีน cagA, vacA subtypes ชนิด s และ m และ iceA ของเชื้อ *H. pylori* โดยความไว (sensitivity) ที่ได้สามารถตรวจหายีนในช่วง 1-10 genome ของเชื้อ การเพิ่ม sensitivity ของวิธี PCR โดยการออกแบบ primer ที่จำเพาะต่อลำดับเบสที่ได้จากสายพันธุ์ของเชื้อที่พบในผู้ป่วยคนไทย พบว่าที่ตำแหน่งยีน cagA vacAs1(259 bp) และ vacAs1a สามารถตรวจเชื้อได้มากกว่า primer ที่ออกแบบจำเพาะต่อสายพันธุ์ของเชื้อที่พบในผู้ป่วยชาวตะวันตก 8.4%, 11.67% และ 18.19% ตามลำดับ โดยจะมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) การศึกษาระบาดวิทยาโมเลกุลของยีนดังกล่าวในผู้ป่วยโรคกระเพาะที่มีอาการทางคลินิกต่างกันจำนวน 135 คน พบยีน cagA สูงถึง 95.56% และยีน cagA จะไม่มีความสัมพันธ์กับอาการทางคลินิกของโรคกระเพาะอาหาร ส่วนยีน vacA subtypes s และ m พบยีน vacAs1 โดยเมื่อใช้ primer 2 ชุด คือ primer ที่ให้ผลิตภัณฑ์ PCR ที่ 201 bp จะพบ vacAs1 97.78% เมื่อใช้ primer ที่ออกแบบโดยจำเพาะต่อสายพันธุ์ของเชื้อที่พบในคนไทย vacAs1 (259 bp) จะพบ 99.26% เมื่อศึกษายีนย่อยของ vacAs1 คือ s1a, s1b, s1c และ s2 พบยีน s1a สูงสุดคือ 96.30% รองลงมาคือ s1c พบ 66.67% ส่วน s1b และ s2 ตรวจไม่พบเลย ส่วน m-region ตรวจพบ m1 (59.3%) มากกว่า m2 (40.7%) และพบว่า vacAs1 และ vcaAs1a ไม่มีความสัมพันธ์กับอาการทางคลินิกของโรคกระเพาะ ส่วนยีนย่อย s1c จะพบว่าในกลุ่มโรค duodenal ulcer มากกว่าในกลุ่มโรค gastritis ($p<0.001$) และมากกว่าในกลุ่ม peptic ulcer ($p<0.05$) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ส่วนยีน vacA subtypes ที่มีทั้งชนิด s และ m พบ vacAs1/m1 และ vacAs1a/m1 มากที่สุด โดยพบ 59.26% เท่ากัน รองลงมาคือ s1c/m1 พบ 51.85% ซึ่งยีนทั้ง 3 ชนิดไม่มีความสัมพันธ์กับความรุนแรงของโรคกระเพาะ ส่วนยีน iceA พบยีน iceA1 มากกว่ายีน iceA2 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

ในกลุ่มศึกษาจะพบยีนผสม vacAs1a และ s1c มากที่สุดคือ 66.67% และพบว่ากลุ่มโรค duodenal ulcer จะมีความชุกมากกว่ากลุ่มโรค gastritis อย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.0001$) ตัวอย่างที่มียีนผสม cagA/vacA/iceA จะพบยีน cagA/vacAs1a/m1/iceA1 มากที่สุดคือ 38.52% และพบว่ากลุ่มยีนที่มีชนิด m1 และ iceA1 ซึ่งได้แก่กลุ่มยีน cagA/vacAs1a/m1/iceA1, cagA/vacAs1c/m1/iceA1 และ cagA/vacAs1a/s1c/m1/iceA1 จะพบในกลุ่มผู้ป่วยที่เป็นแผลมากกว่ากลุ่มที่ไม่เป็นแผล และพบว่ากลุ่ม duodenal ulcer จะมียีนกลุ่มนี้มากกว่ากลุ่ม gastritis อย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

จากผลการศึกษาระบาดวิทยาโมเลกุลของยีน cagA, vacA subtypes ชนิด s และ m และยีน iceA ของเชื้อ *H. pylori* สามารถนำมาเป็นข้อมูลพื้นฐานในกลุ่มประชากรภาคเหนือ และยังเป็นข้อมูลเพื่อนำไปผลิตวัคซีนที่จำเพาะต่อเชื้อสายพันธุ์คนไทย การพบยีน cagA, vacAs1 และ vacAs1a มากในประชากรศึกษาอาจนำยีนเหล่านี้มาเป็นเป้าหมายในการพัฒนาน้ำยาเพื่อตรวจหาเชื้อ *H. pylori* ในน้ำเหลือง (serology test) การตรวจเชื้อโดยใช้ตัวอย่างอุจจาระหรือปัสสาวะได้ ข้อมูลที่ได้จากการพบยีนผสมอาจนำไปสู่การศึกษาถึงวิธีการแพร่กระจายเชื้อในครอบครัว เช่นการแพร่เชื้อจากแม่สู่ลูก เพื่อให้เกิดความเข้าใจถึงการติดต่อจากมารดาสู่ทารก เพื่อป้องกันการติดเชื้อระยะยาวตั้งแต่วัยเด็ก นอกจากนี้แล้วเทคนิคการสกัดเชื้อ *H. pylori* จากเนื้อเยื่อที่ฝังในพาราฟินที่คณะวิจัยได้ปรับปรุงและพัฒนาโดยอ้างอิงจากคณะวิจัยอื่น สามารถนำตัวอย่างเนื้อเยื่อที่ได้รับการวินิจฉัยทางพยาธิวิทยาและเก็บไว้มาศึกษาระดับโมเลกุลของโรคต่างๆ เช่นความสัมพันธ์ของเชื้อ *H. pylori* กับโรคมะเร็งตับ เป็นต้น

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

เอกสารอ้างอิง

1. Goodwin CS, Mendall MM, Northfield TC. *Helicobacter pylori* infection. Lancet 1997 ;349:265-269.
2. International Agency for Research on Cancer. World Health Organization : Schistosomes, liver flukes and *Helicobacter pylori* IARC Monogr Eval Carcinog Risks Hum. 1994 ;61:218 -220.
3. *Helicobacter pylori* in peptic ulcer disease. NIH consensus statement. 1994 ;12(1). 1 -23.
4. สิริวัฒน์ อนันตพันธุ์พงศ์. Epidemiology of *H.pylori* in Thailand. เอกสารประกอบการประชุม Thailand consensus for the management of dyspepsia and *Helicobacter pylori* .27 -29 มกราคม 1999 ณ ศูนย์ฝึกอบรมธนาคารไทยพานิชย์ จังหวัดเชียงใหม่
5. Peerakome S, Vannareumol P, Linpisarn S, Lertprasertsuke N, Sanchaimoon N, Phornphutkul K. Comparison of diagnostic methods for *Helicobacter pylori* infection in peptic ulcer patient. Bull. Chiang Mai Assoc Med Sci. 1996;26 (2):53-62.
6. Marshall BJ. *Helicobacter pylori* in the year 2000. http://www.helicobacter pylori.com
7. Atherton JC. *H.pylori* virulence factors. In:British Medical Bulletin(England) 1998;54(1)105-
8. Taylor DN and Blaser MJ. The epidemiology of *Helicobacter pylori* infection. Epidemiol Res.1991;13:42-59.
9. Cover TL, Dooley CP and Blaser MJ. Characterization of and human serologic response to protein in *Helicobacter pylori* broth culture supernatant with vacuolizing cytotoxin activity. Infect Immun. 1990;58:603 - 610.
10. Crabtree JE , Taylor J., Wyatt I, Heatley RV, Shallcross TM, Tompkins DS and Rathbone BJ. Mucosal IgA recognition of *Helicobacter pylori* 120 kDa protein, peptic ulceration and gastric pathology. Lancet.1993;338:332-335.
11. Covacci A, Censini S., Burroni M, Macchia G, Massone A, Papini E, Xiang Z, Figura N and Rappuoli R. Molecular characterization of the 128 kDa

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

immunodominant antigen of *Helicobacter pylori* associated with cyotoxicity and duodenal ulcer. Proc Natl Acad Sci USA. 1993;90:5791-5795.

12. Weel JFL, Van der Hulst RWM, Gerrits Y, Roorda P, Felller M, Dankert J, Tytgat GNT and van der Ende A. The interrelationship between cytotoxin - associated gene A vacuolating cytotoxin and *Helicobacter pylori* - related disease. J Infect Dis.1996;173:1171 - 1175.
13. Mahachai V, Tangkijvanich P, Wannachai N, Sumpathanukul P and Kullavanijaya P. CagA and VacA : Virulence factors of *Helicobacter pylori* in Thai patients with gastroduodenal diseases. *Helicobacter.* 1999;4(3).143-147.
14. Pan ZJ, vander Hulst RWN, Feller M, Xiao SD, Tytgat GNT, Dankert J and vander Ende A. Equally high prevalences of infection with cagA - positive *Helicobacter pylori* in Chinese patients with peptic ulcer disease and those with chronic gastritis - associated dyspepsia. J Clin Microbiol 1997;35:1344-1347.
15. Ito Y, Azuma T, Ito S, Miyaji H, Hirai M, Yamazaki Y, Sto F, Kato T, Kohli Y and Kuriyama M. Analysis and typing of the vacA gene from cagA positive strains of *Helicobacter pylori* isolated in Japan. J Clin Microbiol. 1997;35: 1710 - 1714.
16. Park SM, Park J, Kim JG, Cho HD, Cho JH, Lee DH and Cha YJ. Infection with *Helicobacter pylori* expressing the cagA gene is not associated with an increased risk of developing peptic ulcer disease in Korean patients. Scand. J. Gastroenterol. 1998;33:923 - 927.
17. Atherton JC, Cao P, Peek RM, Tummuru MKR, Blaser MJ and Cover TL. Mosaicism in vacuolating cytotoxin alleles of *Helicobacter pylori* : Association of specific vacA types with cytotoxin production and peptic ulceration. J Biol Chem.1995;270(30): 17771 - 17777.
18. Atherton JC, Peek RM, Tham KT, Cover TH and Blaser MJ. The clinical and pathological importance of heterogeneity in vacA encoding the vacuolating cytotoxin of *Helicobacter pylori.* Gastroenterology. 1997; 112: 92-99.
19. Rudi J, Kolb C, Maiwald M, Kuck D, Sieg A, Galle PR and Stremmel W. Diversity of *Helicobacter pylori* vacA and cagA genes and relationship to vacA and cagA protein expression cytotoxin production and associated disease. J Clin Microbiol. 1998;36(4):944 - 948.

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

20. Sillakivi T, Aro H, Ustar M, Peetsalu M, Peetsalu A, Mikelsaar M. Diversity of *Helicobacter pylori* genotypes among Estonian and Russian patients with perforated peptic ulcer, living in Southern Estonia. FEMS Microbiology Letters. 2001;195:29-33.

21. Ashour AAR, Magalhaes PP, Mendes EN, Collares GB, de Gusmao VR, Queiroz DMM, M.F Nogueira AM, Rocha GA and de Oliveira CA, Distribution of vacA genotypes in *Helicobacter pylori* strains isolated from Brazilian adult patients with gastritis, duodenal ulcer or gastric carcinoma. FEMS Immunology and Medical Microbology. 2002;33:173-178.

22. Kawamata O, Yoshida H, Hirota K, Yoshida A, Kawaguchi R, Shiratori Y and Omata M. Nested - polymerase chain reaction for the detection of *Helicobacter pylori* infection with novel primers designed by sequence analysis of urease a gene in clinically isolated bacterial strains. Biochem Biophy Res Com. 1996;219:266 - 272.

23. สุกัญญา ลินพิศาล, กรรณิการ์ พรพัฒน์กุล, Heinrich F Steger, นิรัชร์ เลิศประเสริฐสุข และกุลรัญญา พรหมเมืองยอง. การตรวจหาเชื้อ *Helicobacter pylori* ในตัวอย่างเนื้อเยื่อกระเพาะอาหารโดยวิธี Polymerase Chain Reaction. รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. มิถุนายน 2545.

24. QIAamp® DNA MiniKit and QIAamp DNA Blood MiniKit hand book. Isolation of genomic DNA from paraffin-embedded tissue. February 2003 page 50-51.

25. Linpisarn S, Koosirirat C, Prommuangyong K, Suwan W, Lertprasertsuke N and Phornphutkul K. Use of different PCR primers and gastric biopsy tissue from CLO test for the detection of *Helicobacter pylori*. Southeast Asian J Trop Med Public Health. 2005; 36(1): 135-140.

26. Yamaoka Y, Kodama T, Gutierrez O, Kim JG, Kashima K and Graham DY. Relationship between *Helicobacter pylori* iceA, cagA and vacA status and clinical outcome: Studies in four different countries. J Clin Microbiol 1999; 37(7): 2274-2279.

27. Marshall BJ, Warren IB. Unidentified curved bacilli in the stomach of patients with gastritis and peptic ulceration. Lancet 1984; 1: 1311-1315.

28. Pounder RE. The prevalence of *Helicobacter pylori* in different countries. Aliment Pharmacol Ther 1995; 9(Suppl 2): 33-40.

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

29. Peek PM, Thomson SA, Donahue IP etal. Adherence to gastric epithelial cells induces expression of a *Helicobacter pylori* gene, iceA, that is associated with clinical outcome. Proc Assoc Am Physician 1998; 6: 531-44.

30. Li L, Graham DY, Gutierroz O, Kim JG, Genta RM, EL-Zimaity HM and GO MF. Genomic fingerprinting and genotyping of *Helicobacter pylori* strains from patients with duodenal ulcer or gastric cancer from different geographic regions. Dig Dis Sci 2002; 47(11): 2512-2518.

31. Pan ZJ, Berg DE, Van der Hulst RWM, Su WW, Raudonikiene A, Xiao SD, Dankert J, Tytgat GNJ and Van der Ende A. Prevalence of vacuolating cytotoxin production and distribution of distinct vacA Alleles in *Helicobacter pylori* from China. J Infect Dis 1998; 178: 220-6.

32. Gonza'lez-valencia G, Atherton JC, Munoz M, Dehesa M, Garza AML and Torres J. *Helicobacter pylori* vacA and cagA genotypes in Mexican adults and children. J Infect Dis 2000; 182: 1450-4.

33. Kim SY, Woo CW, Lee YM, Son BR, Kim JW, Chae HB, Y SJ, Park SM. Genotyping cagA vacA subtype, iceA1 and babA of *Helicobacter pylori* isolates from Korean patients and their association with gastroduodenal disease. J Korean Med Sci 2001; 16: 579-84.

34. Wong BCY, Yin Y, Brerg DE, Xia HHX, Zhang JZ, Wang WH, Wong WM, Huang XR, Tang VSY and Lam SK. Distribution of distinct vacA, cagA and iceA alleles in *Helicobacter pylori* in Hong Kong. Helicobacter 2001; 6(4): 317-324.

35. Lin HJ, Perng CL, Lo WC, Wu CW, Tseng GY, Li AFY, Sun IC, Ou YH. *Helicobacter pylori* cagA, iceA and vacA genotypes in patients with gastric cancer in Taiwan. World J Gastroenterol 2004; 10(17): 2493-2497.

36. Perez-Perez GI, Taylor DN, Bodhidatta L etal. Seroprevalence of *Helicobacter pylori* infections in Thailand. J Inect Dis 1990; 161: 1237-41.

37. Booyaritichaikij S, Kuwabara K, Matsushisa T etal. Prevalence of *Helicobacter pylori* infections in Chiang Mai. Chiang Mai Medical Bulletin 2001; 40(3): suppl: 19.

38. Atisook K, Kachinthorn U, Luengrojanakul R etal. Histology of gastric and *Helicobacter pylori* infection in Thailand: a nationwide study of 3776 cases. Helicobacter 2003; 8(2): 132-141.

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

39. Gong YH, Wang Y, Yuan Y. Distribution of *helicobacter pylori* in north China. World J Gastroenterol 2005; 11(23): 3523-3527.

40. van Doorn LJ, Figueiredo C, Sanna R, Plaisier A, Schneeberger P, Boer WD and Quint W. Clinical relevance of cagA, vacA and iceA status of *Helicobacter pylori*. Gastroenterology 1998; 115: 58-66.

41. Greer CE, Peterson SL, Kiviat NB and Manos MM. PCR amplification from paraffin-embedded tissues. Am JClin Pathol. 1991; 95(2): 117-124.

42. Koehler CI, Mues MB, Dienes HP, Kriegsmann, Schirmacher P, Odenthal M. *Helicobacter pylori* genotyping in gastric adenocarcinoma and MALT lymphoma by multiplex PCR analysis of paraffin wax emedded tissues. J Clin Pathol: Mol Pathol 2003; 56: 36-42.

43. Cutler AF, Havstad S, Ma CK etal. Accuracy of invasive and noninvasive tests to diagnose *Helicobacter pylori* infection. Gastroenterology 1995; 109: 136-41.

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาคผนวก 1

1.1 การสกัด DNA ของเชื้อ *H. pylori* จากเนื้อเยื่อกระเพาะอาหาร โดยการใช้น้ำยาสำเร็จรูป QIAamp® DNA Mini Kit

1.2 การเพิ่มปริมาณ DNA ในหลอดทดลองโดยวิธี PCR

1.3 การตรวจผลิตภัณฑ์ PCR โดยวิธี Electrophoresis

1.4 การหาลำดับเบสของผลิตภัณฑ์ PCR

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาคผนวก 1

1.1 การสกัด DNA ของเชื้อ *H. pylori* จากเนื้อเยื่อกระเพาะอาหาร โดยการใช้น้ำยาสำเร็จรูป QIAamp® DNA Mini Kit

1) นำเนื้อเยื่อกระเพาะอาหารใส่ลงใน microcentrifuge tube ขนาด1.5 ml เติม Buffer ATL 180 µl และ Proteinase K 20 µl
2) ผสมให้เข้ากันโดยใช้ vortex mixer ปั่นเพื่อให้เนื้อเยื่อจมอยู่ใต้น้ำยา
3) Incubate ที่ 56°C overnight
4) ปั่นที่ 7,000 rpm 30 sec.
5) เติม Buffer AL 200 µl ผสมให้เข้ากันโดยใช้ vortex mixer ปั่นที่ 7,000 rpm 30 sec.
6) Incubate ที่ 70 °C เป็นเวลา 10 นาที
7) เติม ethanol 200 µl ผสมให้เข้ากัน ปั่นที่ 7,000 rpm 30 sec.
8) ดูดส่วนผสมจากข้อ 7. ใส่ลงไปใน QIAamp Spin Column ที่บรรจุลงใน collection tube ขนาด 2 ml
9) ปั่นที่ 8,000 rpm เป็นเวลา 1 นาที แล้วกำจัดสารละลายที่กรองได้ใน collection tube ออก
10) นำ QIAamp Spin Column บรรจุลงใน collection tube อันเดิม
11) เติม Buffer AW I 500 µl ปิดฝา
12) ปั่นที่ 8,000 rpm เป็นเวลา 1 นาที แล้วกำจัดเอาสารละลายที่กรองได้ใน collection tube ออก
13) นำ QIAamp Spin Column บรรจุลงใน collection tube อันเดิมอีกครั้ง
14) เติม Buffer AW II 500 µl ปิดฝา
15) ปั่นที่ 8,000 rpm เป็นเวลา 1 นาที แล้วกำจัดเอาสารละลายที่กรองได้ใน collection tube ออก
16) นำ QIAamp Spin Column บรรจุลงใน microcentrifuge tube ใหม่ขนาด 1.5 ml
17) เติม Buffer AE 200 µl ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง นาน 1 นาที
18) ปั่นที่ 8,000 rpm นาน 1 นาที
19) สารละลายที่กรองได้ คือ DNA ที่สกัดได้
20) เก็บ DNA ที่สกัดได้ที่ 4 °C เพื่อนำไปวิเคราะห์หาเชื้อ *H. pylori* โดยวิธี PCR ต่อไป

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

1.2 การเพิ่มปริมาณ DNA ในหลอดทดลองโดยวิธี PCR

1.2.1 สารเคมี สำหรับการทำ PCR

- 10 × Tag Buffer
  - 200 mM Tris (pH 8.4)
  - 500 mM KCl
  - 15 mM $MgCl_2$
  - 0.1 % BSA
  - 0.5 % Tween
- สารละลาย dNTPs ประกอบด้วย dATP, dCTP, dGTP และ dTTP ที่มีความเข้มข้น อย่างละ 1 mM
- primer mixture (5 µM)
- Tag DNA polymerase (5 U/µl)
- Hot start Taq, AmpliTaq Gold®

1.2.2 การเตรียม PCR reaction mixture มีดังนี้

Component	Vol. (ul)	Final concentration
10 × Tag Buffer	1	1 × Tag Buffer
dNTPs	2	200 uM/each
primer mixture	0.5	0.25 uM/each
Tag DNA polymerase	0.05	0.25 U
Distilled water	4.45	
DNA template	2	
Total volume	**10 ul**	

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

1.2.3 การเพิ่มปริมาณ DNA โดยใช้ Thermocycle โดยใช้ PCR condition ดังนี้

โปรแกรมที่ 1

denaturation	95 °C	2.30 นาที
	(1 รอบ)	

โปรแกรมที่2

denaturation	94 °C	0.30 นาที
annealing	52 °C	1.00 นาที
extension	72 °C	1.00 นาที
	(40 รอบ)	

โปรแกรมที่ 3

extension	72 °C	7.00 นาที
	(1 รอบ)	

1.3 การตรวจผลิตภัณฑ์ PCR โดยวิธี Electrophoresis

1.3.1 สารเคมีที่ใช้

- 0.5 × TBE
  89 mM Tris
  89 mM H_3BO_3
  2 mM EDTA
- 2 % agarose gel
  ชั่ง agarose gel 1.5 g ใน Elrenmayer flask
  เติม 0.5 × TBE 75 ml ต้มจนสารละลายเดือดและใส
  เทสารละลายลงบนแม่พิมพ์ ขนาด 10 × 10 cm^2
- Ethidium bromide solution
  Ethidium bromide 7 ul
  0.5 × TBE 150 ul
- Loading buffer
  0.25 % Xylene cyanol
  30 % glycerol

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

1.3.2 การทำ agarose gel electrophoresis

- แช่ 2% agarose gel ในสารละลาย ethidium bromide ประมาณ 30 นาที
- Load 7 ul PCR product with loading buffer (5 ul PCR product + 2 ul loading buffer)
- ทำ electrophoresis ใน 0.5 × TBE buffer ด้วยกระแสไฟฟ้า 100 mAmp ประมาณ 40 นาที หรือจนกว่าสีของ xylene cyanol เคลื่อนที่ออกจาก well ประมาณ 1-1.5 เซนติเมตร
- ตรวจดูแถบ DNA ภายใต้แสง ultraviolet ถ่ายรูปโดยใช้เครื่อง Photodocumentation system

1.4 การหาลำดับเบสของผลิตภัณฑ์ PCR

1.4.1 ขั้นตอนการทำ DNA sequencing

1) เตรียม PCR product

- ทำการ amplify DNA ตัวอย่างที่ต้องการ ตามสภาวะที่เหมาะสมของ primer แต่ละชนิด เพื่อเพิ่มปริมาณ DNA เป้าหมาย ประมาณ 20 µl

2) ตรวจสอบผลิตภัณฑ์ DNA เป้าหมาย โดยการ run gel electrophoresis

- ทำการ run DNA (ที่ได้จากข้อ 1) 4 µl บนเจล 2 % agarose โดยใช้กระแสไฟฟ้า 100V.

3) การ purify DNA

- โดยใช้ ExoSAP-IT 3 µl ต่อ PCR product 7.5 µl ทำการบ่ม ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นนำมาบ่มต่อที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

4) ตรวจสอบผลิตภัณฑ์ DNA อีกครั้ง โดยการ run gel electrophoresis

- ทำการ run DNA (ที่ได้จากข้อ 3) 4 µl บนเจล 2 % agarose โดยใช้กระแสไฟฟ้า 100V.

5) การทำ cycle sequencing

a. เตรียม template

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

- โดยการกะปริมาณของ DNA จาก band ที่ได้จากการ run gel ในข้อ 4 (สำหรับ PCR product ขนาด 200-500 bp ต้องใช้ปริมาณ DNA ประมาณ 3-10 ng)

b. เตรียม primer

- เตรียม primer สายเดี่ยว ให้มีความเข้มข้น 1.6 µmol (final concentration เท่ากับ 3.2 ρmol ใน 20 µl)

c. เตรียม reaction (Total 10 µl)

- Termination ready reaction mix 4.0 µl
- Primer 3.2 ρmol (final concentration)
- Deionized water
- Template (PCR product DNA) ขึ้นอยู่กับขนาดของ DNA ถ้าสายDNA ยาว 200-500 bpต้องใช้ 3-10 ng

d. ทำ cycle sequencing สำหรับเครื่อง Gene Amp 9700

- นำ tube ที่เตรียม reaction ในข้อ 5.3 ใส่เครื่อง Gene Amp 9700
- ตั้งโปรแกรมที่ใช้ในการทำ cycle sequencing ดังนี้ 96 °C, 10s ; 5 °C, 5s; 60 °C, 4 min จำนวน 25 รอบ
- เก็บไว้ที่ 4 °C จนกว่าจะทำการตกตะกอน DNA

6) การตกตะกอน DNA โดยวิธี Isopropanol precipitation

- ปิเปต DNA ที่ผ่านการทำ cycle sequencing แล้ว 10 µl ลงใน tube 1.5 ml และเติมน้ำสะอาด 10 µl
- เติม 75% Isopropanol 80 µl, ปิดฝา, mix ให้เข้ากัน แล้ว spin down
- ตั้งทิ้งไว้ 1-24 ชั่วโมง, ไม่ควรให้ถูกแสง
- ปั่นด้วยความเร็วสูงสุดที่ 14,000 rpm, 20 นาที
- ดูดสารละลายด้านบนออกให้หมด (ควรดูดเบาๆ และสังเกตตะกอน DNA)
- เติม 75% Isopropanol 250 µl, ปิดฝา, mix ให้เข้ากัน แล้ว spin down
- ปั่นด้วยความเร็วสูงสุดที่ 14,000 rpm, 5 นาที

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

- ดูดสารละลายด้านบนออกให้หมด (ควรดูดเบาๆ และสังเกตตะกอน DNA)
- เปิดฝา tube ทิ้งไว้ประมาณ 1-2 ชั่วโมง (สังเกตว่าไม่มีสารละลายเหลืออยู่ใน tube) แล้วจึงปิดฝา แล้วไว้ที่ -20 °C

7) **วิเคราะห์หาลำดับเบสโดยส่ง DNA ไปยังหน่วยบริการชีวภาพ BSU**

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาคผนวก 2

ตัวอย่าง sequence Electrogram และลำดับเบสจาก GenBank

2.1 cagA gene

2.2 vacAs1 gene (201 bp)

2.3 vacAs1 gene (259 bp)

2.4 vacAs1a gene

2.5 vacAs2a gene

2.6 vacAm2 gene

2.7 vacAm m1 gene

2.8 vacAm m2 gene

2.9 iceA1 gene

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

cagA gene

L11714. Reports Helicobacter pylo...[gi:290950] Links

```
LOCUS       HECMAJANT               4826 bp    DNA     linear   BCT 11-JUN-
1993
DEFINITION  Helicobacter pylori major antigen gene sequence.
ACCESSION   L11714
VERSION     L11714.1  GI:290950
KEYWORDS    major antigen.
SOURCE      Helicobacter pylori
  ORGANISM  Helicobacter pylori
            Bacteria; Proteobacteria; Epsilonproteobacteria;
Campylobacterales;
            Helicobacteraceae; Helicobacter.
REFERENCE   1  (bases 1 to 4826)
  AUTHORS   Tummuru,M.K., Cover,T.L. and Blaser,M.J.
  TITLE     Cloning and expression of a high-molecular-mass major antigen
of
            Helicobacter pylori: evidence of linkage to cytotoxin
production
  JOURNAL   Infect. Immun. 61 (5), 1799-1809 (1993)
   PUBMED   8478069
COMMENT     Original source text: Helicobacter pylori (library: lambda ZAP;
            ATCC 53726) DNA.
FEATURES             Location/Qualifiers
     source          1..4826
                     /organism="Helicobacter pylori"
                     /mol_type="genomic DNA"
                     /db_xref="taxon:210"
                     /tissue_lib="lambda ZAP; ATCC 53726"
ORIGIN
        1 ctatgggctg cgcgtaacga aaaacagtcg cttgacctct tttgatgtca tcagagattt
       61 tccaaatatc cgctatacct ttgactccta gagcgcaacc acctacgatc gctagaacag
      121 aaatgatctg aaccaccaaa gttttagtct cagtaatgcc tgatgcagga ctgtcgaaag
      181 ccattaaagg attggctgct atcgctagcc ctaaagttac tacaactttc ttgtagctgt
      241 cagtgattct tgtaaaaaat ttcatgcgtt tcctttcaaa ttgaaatcaa tcgtttgagt
      301 atatcaaaaa aaagtatttt tatactattc atacaagcgc tactttataa tttaaatcaa
      361 aaccgacgct tttgtttgac aactgatata atttaggaac aataaaccta cttgtcccaa
      421 ccatttttct ttctcaagtc atcgtagaat tgtagatctt taggatcttt gatgtatttt
      481 ttaatcgtct caggttgaaa cctaaaaaca agcagaaaca aacccaagct gatcagagtg
      541 agaataaagc tccattttaa gcaactccat aaaccactaa agaaactttt tttgagactc
      601 tctttgaaaa tctgtcctat tgatttgttt tccattttgt ttcccatgcg gatcacaaac
      661 gcttaattac aaatacatac tataataagt atggcacaca caaaccaaac catttttaga
      721 acgcttcatg cactcacctt gctcctaacc atttctccaa ccatctttag cgttgcattt
      781 gatttcttca aaaaggctca tttcttagtt tcttttattc ttaaaatttt tccattctag
      841 caaatttttg ttaattgtgg gtaaaaatgt gaatcgttcc tagcttttag acgcttgcaa
      901 cgatcggact tttttcaata ttaatgaaaa aatgccaaat attctaaata ttgtggtata
      961 gtgataacgt tcaaagacac gaattgcata ctcaaagtgt gtagtagttt ttagcggtct
     1021 ttgataccaa taagataccg ataggtatga aactaggtat agaaggagaa acaatgacta
     1081 acgaaactat tgaccaacaa ccacaaaccg aagcggcttt taacccgcag caatttatca
     1141 ataatcttca agtagctttt cttaaagttg ataacgctgt cgcttcatac gatcctgatc
     1201 aaaaaccaat cgttgataag aacgataggg ataacaggca agcttttgag ggaatctcgc
     1261 aattaaggga agaatactcc aataaagcga tcaaaaatcc taccaaaaag aatcagtatt
     1321 tttcagactt tatcaataag agcaatgatt taatcaacaa agacaatctc attgtcgtgg
     1381 aatcttccac aaagagcttt cagaaatttg gggatcagcg ttaccgaatt ttcacaagtt
     1441 gggtgtccca tcaaaacgat ccgtctaaaa tcaacacccg atgcatccga aattttatgg
     1501 aacataccat acaacccccc atccctgatg acaaagaaaa agcagagttt ttgaaatctg
     1561 ccaaacaatc ttttgcagga atcatcatag ggaatcaaat ccgaacggat caaaaattca
     1621 tgggcgtgtt tgatgaatcc ttgaaagaaa ggcaagaagc agaaaaaaat ggagggccta
     1681 ctggtgggga ttggttggat attttttat catttatatt tgacaaaaaa caatcttctg
```

```
1741 atgtcaaaga agcaatcaat caagaaccac ttcctcatgt ccaaccagat atagccacta
1801 gcaccactca catacaaggc ttaccgcctg aatctaggga tttgcttgat gaaaggggta
1861 atttttctaa attcactctt ggcgatatgg aaatgttaga tgttgagggc gtcgccgaca
1921 tggatcccaa ttacaagttc aatcaattat tgattcacaa taacactctg tcttctgtgt
1981 taatggggag tcatgatggc atagaacctg aaaaagtttc attattgtat gcgggcaatg
2041 gtggttttgg agccaagcac gattggaacg ccaccgttgg ttataaagac caacaaggta
2101 acaatgtggc tacaataatt aatgtgcata tgaaaaacgg cagtggctta gtcatagcag
2161 gtggtgagaa agggattaac aaccctagtt tttatctcta caaagaagac caactcacag
2221 gctcacaacg agcattgagt caagaagaga tccaaaacaa aatagatttc atggaatttc
2281 ttgcacaaaa caatgctaaa ttagacagct tgagcgagaa agagaaagaa aaattccgaa
2341 atgagattaa ggatttccaa aaagactcta agccttattt agacgcccta gggaatgatc
2401 gtattgcttt tgtttctaaa aaagacccaa aacattcagc tttaattact gagtttaata
2461 agggggattt gagctacact ctcaaagtta tgggaaaaaa gcagataaag gctttagata
2521 gggagaaaaa tgtcactctt caaggtaacc taaaacatga tggcgtgatg tttgttaatt
2581 attctaattt caaatacacc aacgcctcca agagtcccaa taagggtgta ggcgttacga
2641 atggcgtttc ccatttagaa gcaggcttta gcaaggtggc tgtctttaat ttgcctaatt
2701 taaataatct cgctatcact agtgtcgtaa ggcgggattt agaggataaa ctaatcgcta
2761 aaggattgtc cccacaagaa gctaataagc ttgtcaaaga ttttttgagt agcaacaaag
2821 aattggttgg aaaagcttta aacttcaata aagctgtagc tgaagctaaa aacacaggca
2881 actatgacga ggtgaaacga gctcagaaag atcttgaaaa atctctaaag aaacgagagc
2941 atttggagaa gggagatgta gcgaaaaatt tggagagcaa aagcggcaac aaaaataaaa
3001 tggaagcaaa agctcaagct aacagccaaa aagatgagat ttttgcgttg atcaataaag
3061 aggctaatag agacgcaaga gcaatcgctt acgctcaaaa tcttaaaggc atcaaaaggg
3121 aattgtctga taaacttgaa aatatcaaca aggatttgaa agactttagt aaatcttttg
3181 atggattcaa aaatggcaaa aataaggatt tcagcaaggc agaagaaacg ctaaaagccc
3241 ttaaaggctc ggtgaaagat ttaggtatca atccggaatg gatttcaaaa gttgaaaacc
3301 ttaatgcagc tttgaatgaa ttcaaaaatg gcaaaaataa ggatttcagc aaggtaacgc
3361 aagcaaaaag cgaccaagaa aattccatta aagatgtgat catcaatcaa aagataacgg
3421 ataaagttga tgaactcaat caagcggtat cagtggctaa aatagcgtgc gatttcagtg
3481 gggtagagca agcgttagcc gatctcaaaa atttctcaaa ggagcaattg gctcaacaag
3541 ctcaaaaaaa tgaaagtttc aatgttggaa aatctgaaat ataccaatcc gttaagaatg
3601 gtgtgaacgg aaccctagtc ggtaatgggt tatctggaat agaggccaca gctctcgcca
3661 aaaatttttc ggatatcaag aaagaattga atgagaaatt taaaaatttc aataacaata
3721 acaataatgg tctcaaaaac ggcggagaac ccatttatgc tcaagttaat aaaaagaaaa
3781 caggacaagt agctagccct gaagaaccca tttatgctca agttgctaaa aaggtaacta
3841 aaaaaattga ccaactcaat caagcagcga caagtggttt cggtggtgta gggcaagcgg
3901 gcttcccttt gaaaaggcat gataaagttg aagatctcag taaggtaggg cgatcagtta
3961 gccctgaacc catttatgct acaattgatg atctcggtgg gtctttccct ttgaaaaggc
4021 atgataaagt tgatgatctc agtaaggtag ggctttcaag gaatcaagaa ttgactcaga
4081 aaattgacaa tctcagtcaa gcggtatcag aagctaaagc aggtttttt ggcaatctag
4141 aacaaacgat agacaagctc aaagatttta caaaaaacaa tcctgtgaat ctatgggctg
4201 aaagcgcaaa aaaagtgcct gctagtttgt cagcgaaact agacaattac gctactaaca
4261 gccacacacg cattaatagc aatatccaaa atggagcgat caatgaaaaa gcgaccggca
4321 ctgaacggca aaaaaaccct gagtggctca aactcgtgaa tgataagatc gttgcgcata
4381 atgtgggaag cgttcctttg tcagagtatg ataacattgg attcagccaa aagaatatga
4441 aggattattc tgattcgttc aagttttcca ccaagttgaa caatgccgta aaagacatta
4501 agtctggctt tacgcaattt ttagccaatg cattttctac aggatattac tccatggcga
4561 gagaaaatgc ggagcatgga atcaaaaatg ctaatacaaa aggtggtttc caaaaatctt
4621 aaaggattaa ggaacaccaa aaacgcaaaa accaccttgc taaaagcaag gggttttta
4681 acttaaaata tcccgacaga cactaacgaa aggctttgtt ctttaaagtc tgcatagata
4741 tttcctaccc caaaaagact taacccttg cttaaaatta aatttgattg tgctagtggg
4801 ttcgtgcttt atagtgcgga attggg
//
```

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

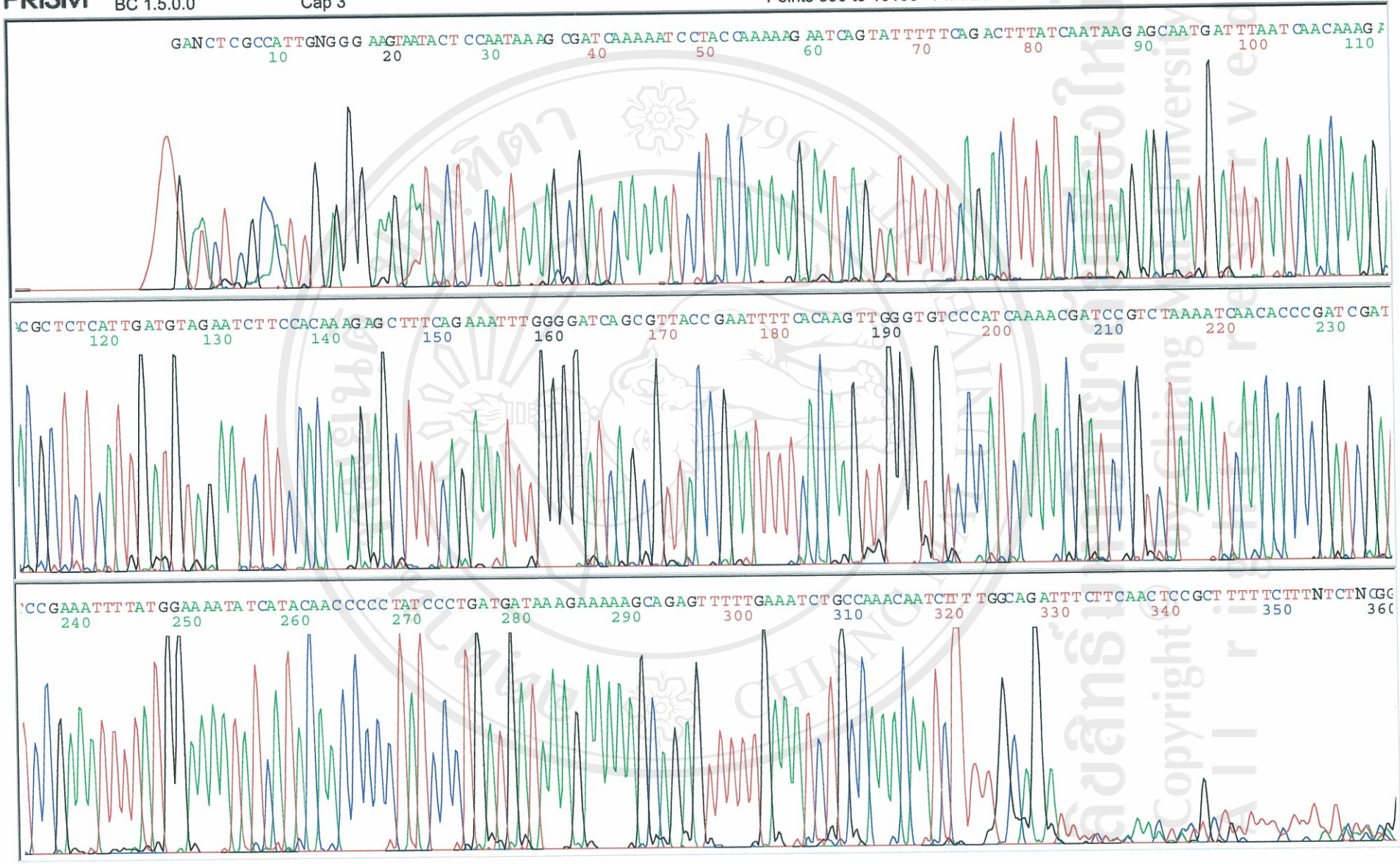
ABI PRISM

Model 3100
Version 3.7
Basecaller-3100APOP6
BC 1.5.0.0

23_6_04A_B07_cagA-F#54_03.ab1
cagA-F#54
Cap 3

Signal G:256 A:417 T:201 C:127
DT3100POP6{BD}v2.mob
demo_3100
Points 300 to 10106 Pk 1 Loc: 300

Thu, Jun 24, 2004 8:05 AM
Wed, Jun 23, 2004 10:43 PM
Spacing: 11.38{11.38}

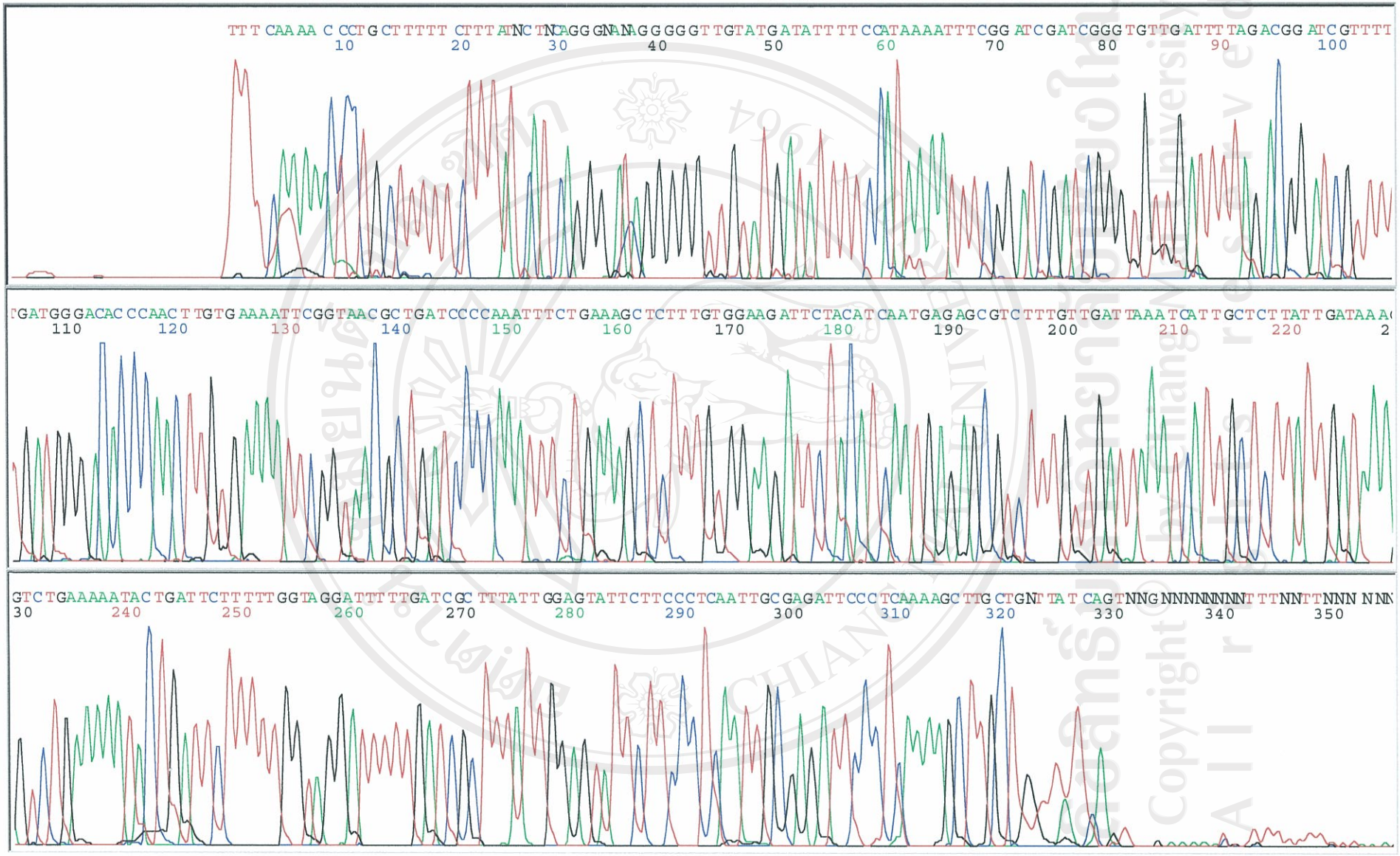


Copyright All rights reserved

Model 3100 11-08-04B_A02_cagA-R-54_02.ab1
Version 3.7
Basecaller-3100APOP6 cagA-R-54
BC 1.5.0.0 Cap 2

Signal G:258 A:341 T:238 C:98
DT3100POP6{BD}v2.mob
demo_3100
Points 250 to 10106 Pk 1 Loc: 250

Fri, Aug 13, 2004 10:39 AM
Wed, Aug 11, 2004 7:13 PM
Spacing: 11.77{11.77}



Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved