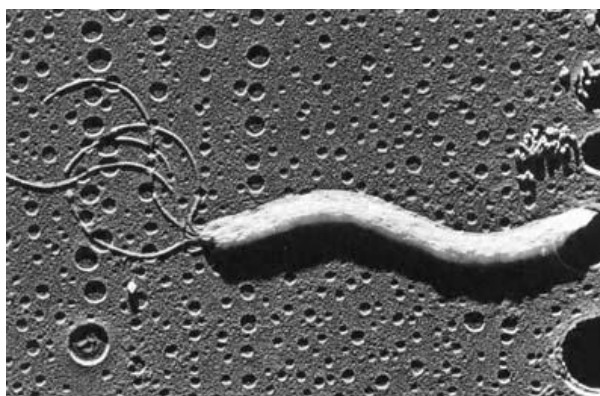


Helicobacter pylori

เรียบเรียงโดย ดร.สืบตระกูล วิเศษสมบัติ

ค.ศ. 1979 Prof. J. Robin Warren ได้ค้นพบเชื้อแบคทีเรียรูปแท่งดิดีแกรมลบนี้ในเยื่อกระเพาะอาหารเป็นครั้งแรก และจากการทำการทดลองร่วมกับ Prof. Barry James Marshall ที่ประเทศออสเตรเลียในปี ค.ศ. 1982 สามารถแยกและเพาะเชื้อนี้ได้ (Warren and Marshall, 1983) ซึ่งภายหลังรู้จักกันในชื่อว่า *Helicobacter pylori* ทำให้แยก Genus *Helicobacter* ออกจาก Genus *Campylobacter* ในปี ค.ศ. 1989 (Owen, 1998) พบว่าการติดเชื้อ *H. pylori* นี้มีความสัมพันธ์กับการเกิดแผลในกระเพาะอาหาร (gastric ulcer) กระเพาะอาหารอักเสบ (gastritis) โรคแผลในลำไส้เล็กส่วนต้น (duodenal ulcer) ตลอดจนการเกิดมะเร็งในกระเพาะอาหาร (gastric cancer) (Azevedo *et al*, 2009; Costa *et al*, 2009) จากข้อมูลของ WHO ปัจจุบันให้ความสำคัญต่อ *H. pylori* นี้ว่าเป็นตัวก่อให้เกิดมะเร็ง (carcinogen) โดยประมาณการว่าผู้ที่ติดเชื้อนี้จะเพิ่มโอกาสเสี่ยงในการเกิด gastric cancer มากกว่าคนปกติ (WHO, 2008)



รูปที่ 1 ภาพ Scanning electron microscope (SEM) แสดงเชื้อ *H. pylori*

H. pylori เป็นเชื้อแบคทีเรียแกรมลบ (Gram-negative bacteria) ที่มีรูปร่างเกลียว (spiral) มีขนาดกว้าง 0.5-1.0 μm ยาว 2.5-5.0 μm มีอวัยวะช่วยในการเคลื่อนที่ชนิดมีปลอกหุ้มประมาณ 2-6 อัน ด้านใดด้านหนึ่งของเซลล์ (polar sheathed flagella) ดังรูปที่ 1 เชื้อเจริญได้ในสภาวะออกซิเจนต่ำ (microaerophilic) (Owen, 1998) ปกติแล้วกระเพาะอาหารจะมีสภาพที่เป็นกรดอย่างแรงซึ่งจะทำหน้าที่ทำลาย แบคทีเรีย ทำให้แบคทีเรียส่วนใหญ่ไม่สามารถดำรงชีวิตอยู่ได้ แต่เนื่องจากเชื้อ *H. pylori* จะมีลักษณะพิเศษที่สำคัญคือ สามารถสร้างค้างมาหักล้างกับกรดได้ ทำให้เชื้อนี้สามารถอยู่และเจริญเติบโตในสภาพแวดล้อมที่เป็นกรดอย่างแรงในกระเพาะอาหารได้ (Owen, 1998) พบเชื้อได้ในกระเพาะอาหารของประชากรทั่วโลกมากถึง 50% (Correa and Piazzuelo,

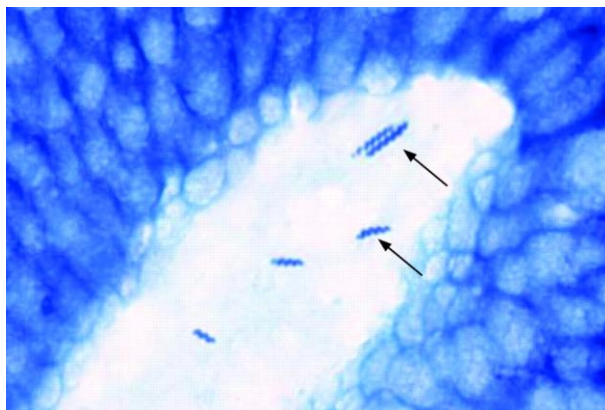
2008) และจะพบได้ในเกือบทุกประเทศทั่วโลก สายพันธุ์ของเชื้อจะมีความแตกต่างกันขึ้นอยู่กับภูมิภาค และการย้ายถิ่นฐานก็จะทำให้เกิดการผสมระหว่างสายพันธุ์ขึ้นได้ (Yamaoka *et al*, 2008) เชื้อสามารถอยู่ในร่างกายมนุษย์ได้นานหลายสิบปี (Brown, 2000) สาเหตุของการติดเชื้อมีความเชื่อว่าอาจติดมาจากการปนเปื้อนอยู่ในอาหารและอุจจาระ โดยส่วนมากจะพบอัตราการติดเชื้อตั้งแต่ในเด็ก โดยคาดว่าเป็นการติดเชื้อจากแม่สู่ลูก (van Duynhoven and de Jonge, 2001) โดยเฉพาะประเทศที่กำลังพัฒนายังมีอุบัติการณ์ของการติดเชื้อ *H. pylori* สูง โดยพบสูงถึง 80% ในขณะที่ประเทศซึ่งพัฒนาแล้วพบอุบัติการณ์ 40% (Salih, 2009; Kusters *et al*, 2006; Perez-Perez *et al*, 2004) ในประเทศไทยนั้นมียุบัติการณ์ของการติดเชื้อ 57% (Deankanob *et al*, 2006)

การตรวจวินิจฉัยเพื่อหาเชื้อในผู้ป่วยจึงมีความสำคัญ วิธีมาตรฐานในการตรวจแยกเชื้อคือวิธีเพาะเลี้ยงเชื้อจากชิ้นเนื้อกระเพาะอาหารของผู้ป่วย (gastric biopsy) ซึ่งใช้เวลา 3-5 วันในการ enrichment culture แล้วจึงทำการแยกเชื้อบน selective media และตรวจสอบ phenotypic identification ซึ่งอาจใช้เวลานานถึง 7 วัน ประกอบกับต้องใช้บุคลากรที่มีประสบการณ์ มีความพยายามที่จะพัฒนาวิธีการวินิจฉัยเชื้อที่มีประสิทธิภาพขึ้นหลายวิธีมีความรวดเร็ว แม่นยำ มีความจำเพาะและความไวสูง แต่ไม่เหมาะสมในการที่จะนำมาใช้ในประเทศที่กำลังพัฒนาเนื่องจากมีราคาสูง ดังนั้นจำเป็นต้องมีการศึกษาวิจัยเพื่อพัฒนาชุดทดสอบในการตรวจหาเชื้อ *H. pylori* ที่มีประสิทธิภาพ ราคาถูก สามารถยืนยันได้ว่าเป็นเชื้อมีชีวิตเนื่องจากเชื้อมีชีวิตเท่านั้นที่ก่อโรคได้

ปัจจุบันวิธีการตรวจหาเชื้อ *H. pylori* สามารถแบ่งวิธีการทดสอบออกเป็น 2 กลุ่มได้แก่

1. ต้องทำการส่องกล้องระบบทางเดินอาหาร (endoscopy) จัดเป็น invasive tests เพื่อตัดชิ้นเนื้อเยื่อบุกระเพาะอาหารแล้วจึงนำมาทดสอบหาเชื้อ *H. pylori* ด้วยวิธีจุลกายวิภาคศาสตร์ของเซลล์และเนื้อเยื่อ (histology), การเพาะเลี้ยง (culture), และการทดสอบการผลิตเอนไซม์ (rapid urease test) ของเชื้อ ซึ่งมีข้อดีและข้อด้อยต่างกันดังนี้

- 1.1 Histology ตรวจโดยพยาธิแพทย์ สามารถตรวจหาตัวเชื้อโดยตรงด้วยการย้อมสี Giemsa หรือการย้อมด้วยสี Genta ช่วยให้เห็นทั้งตัวเชื้อและเซลล์เยื่อบุกระเพาะอาหารที่มีการอักเสบ (inflammatory cells) ดังรูปที่ 2 วิธีนี้เป็นวิธีที่ง่าย สะดวก มีความไว 53% และความจำเพาะ 90% (Dempsey, 2005; Rotimi *et al*, 2000) ข้อจำกัดที่สำคัญคือจำเป็นต้องมี histopathologist ที่มีประสบการณ์ และต้องใช้ระยะเวลาในการวินิจฉัย 2-3 วัน (Ricci *et al*, 2007) ในกรณีที่ผู้ป่วยได้รับยาปฏิชีวนะมาก่อน (prior treatment) จะทำให้โอกาสในการพบเชื้อลดลง (el-Zimaity *et al*, 1996; Cutler *et al*, 1995)



รูปที่ 2 ภาพแสดงเซลล์เยื่อบุกระเพาะอาหารที่ย้อมสี Giemsa จะพบเชื้อ *H. pylori* ได้โดยตรง

1.2 วิธีการ culture เชื้อ *H. pylori* เป็นเชื้อที่ตายได้ง่าย จึงจำเป็นต้องทำการเพาะเลี้ยงให้อย่างรวดเร็ว โดยทั่วไปไม่เกิน 2 ชั่วโมง (HPA, 2008) และเนื่องจากเป็นเชื้อต้องการออกซิเจนน้อยๆ (microaerophilic) ในการเจริญเติบโต การเพาะเลี้ยงจึงต้องใช้สภาวะพิเศษในการเพาะเลี้ยง ดังนี้ 4% O₂, 5% CO₂, 5% H₂, และ 86% N₂ ร่วมกับอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดพิเศษ ที่นิยมใช้ได้แก่ Columbia blood agar หรือ brain-heart infusion ร่วมกับการเติมยาปฏิชีวนะ เพื่อยับยั้งการเจริญของเชื้อชนิดอื่น (HPA, 2008) การเพาะเชื้อจะใช้เวลา 3-5 วัน ที่อุณหภูมิ 37°C จึงจะพบโคโลนีของเชื้อได้ โดยเป็นโคโลนีกลมขนาดเล็กสีขาวขุ่น จึงทำการทดสอบสมบัติทางชีวเคมีของเชื้อเพื่อบ่งชี้ว่าเป็น *H. pylori* ต่อไป โดยเชื้อให้ผลการทดสอบเป็นบวกต่อการทดสอบชีวเคมีที่สำคัญคือการผลิตเอนไซม์ oxidase, catalase, และ urease (HPA, 2008) การ culture มีความจำเพาะ 100% แต่ความไวค่อนข้างต่ำ โดยขึ้นอยู่กับระยะเวลาในการนำส่งตัวอย่าง สภาวะในการเพาะเลี้ยงเชื้อมีความเข้มข้นของออกซิเจนไม่เหมาะสม ตลอดจนประสิทธิภาพของผู้ทำการแยกเชื้อเป็นต้น (Ricci *et al*, 2007) กระนั้นก็ตามวิธีการนี้เป็นวิธีการเดียวที่ทำให้ได้เชื้อบริสุทธิ์ ซึ่งสามารถนำไปทดสอบความไวต่อยาปฏิชีวนะ เพื่อเลือกใชยาปฏิชีวนะที่เหมาะสมในการรักษา ช่วยลดปัญหาการดื้อยา (Romano *et al*, 2003; Dore *et al*, 2000)

1.3 Rapid urease test ใช้สมบัติของเอนไซม์ urease ที่เชื้อ *H. pylori* ผลิตขึ้นเปลี่ยน urea ได้ ammonia เพื่อเพิ่ม pH ภายในกระเพาะอาหารให้เหมาะสมต่อการอยู่รอดและเจริญของเชื้อ ตรวจพบได้โดยและเปลี่ยนสีของ phenol red ซึ่งเป็น indicator จากสีเหลืองเป็นสีแดง แสดงให้เห็นว่าชิ้นเนื้อนั้นมีเชื้อ *H. pylori* (Hazell *et al*, 1987) ปัจจุบันมีการผลิตในเชิงการค้าหลายชนิดเช่น Clotest, PyloriTek, และ CPtest เป็นต้น ดังรูปที่ 3 สามารถแสดงผลได้รวดเร็วภายใน 1-24 ชั่วโมงแล้วแต่บริษัทที่ผลิต เป็นวิธีที่นิยมมากที่สุดเมื่อต้องทำ endoscopy อยู่แล้ว ข้อดีคือเป็นวิธีสะดวก รวดเร็วกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับวิธี

histology และ culture (Di Bonaventura *et al*, 2004) มีความจำเพาะสูง 95-100% ทว่ามีความไวเพียง 85-95% โดยทั้งนี้ขึ้นอยู่กับจำนวนเชือบนชิ้นเนื้อนั้น โดยทั่วไปจะให้ผลบวกเมื่อมีจำนวนเชื้อ 10^4 cells ขึ้นไป (Tseng *et al*, 2005; Bermejo *et al*, 2002; Monteiro *et al*, 2001) นอกจากนี้ยังอาจให้ผลลบปลอม (false-negative) ในผู้ป่วยที่มีภาวะพร่องกรดเกลือในน้ำย่อย (achlorhydria) หรือได้รับยาปฏิชีวนะในกลุ่ม proton pump inhibitors ซึ่งส่งผลให้เชื้อตายได้ (Basset *et al*, 2004)



รูปที่ 3 ภาพแสดงชุดตรวจ CLOtest ที่ให้ผลการทดสอบเป็นบวก

2. ไม่ต้องทำ endoscopy จัดเป็น non-invasive tests เป็นการทดสอบหาเชื้อทางอ้อม คือ การตรวจทางซีรัมวิทยา (serology), ตรวจทางลมหายใจ (urea breath test), ตรวจทางอุจจาระ (stool antigen test), และ molecular techniques

2.1 Serology นิยมตรวจหา antibody ต่อเชื้อ *H. pylori* ชนิด IgG ในซีรัม และ IgA ในน้ำลายของผู้ป่วย เทคนิคที่นิยมคือ enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) และ latex agglutination เป็นวิธีที่สะดวก รวดเร็ว มีความไว 90-97% และมีความจำเพาะ 50-96% (Ricci *et al*, 2007; Zuniga-Noriega *et al*, 2006; Sternberg *et al*, 1997) แต่มีข้อด้อยที่สำคัญคือไม่สามารถแยกการติดเชื้อปัจจุบัน (active infection) ออกจากการติดเชื้อครั้งก่อนได้ (previous infection) โดยถ้าได้ผลบวกในรายที่ไม่เคยได้รับการรักษาเชื้อ *H. pylori* มาก่อน แสดงว่ามีการติดเชื้อจริง แต่ถ้าเคยได้รับการรักษา *H. pylori* จากการติดเชื้อครั้งก่อนไม่ว่านานเท่าใดก็ตามจะไม่สามารถบอกได้ว่าขณะนี้กำลังมีการติดเชื้ออยู่หรือเป็นปฏิกิริยาน้ำเหลืองที่เกิดขึ้นจากการติดเชื้อครั้งก่อน เพราะระดับปฏิกิริยาน้ำเหลืองจะได้ผลบวกไปตลอด จะไม่มีการลดลง

หลังการรักษาแล้วก็ตาม (Garza-Gonzales *et al*, 2003) และสามารถให้ผลบวกปลอม (false-positive) ได้ถึง 10% (McNulty *et al*, 2005)

2.2 Urea breath test โดยให้ผู้ป่วยกลืน C^{13} -urea isotope ซึ่งไม่เป็นอันตราย แล้วใช้สมบัติของเอนไซม์ urease ที่เชื้อ *H. pylori* ผลิตขึ้นสลายได้ ammonia และ CO_2 ดังนั้นถ้าผู้ป่วยติดเชื้อ *H. pylori* ก็จะตรวจหา $C^{13}O_2$ จากลมหายใจได้ (Gatta *et al*, 2003) มีความไว 90-96% มีความจำเพาะ 95-97% (Gatta *et al*, 2006) อาจให้ผล false-negative ในผู้ป่วยที่ได้รับยากลุ่ม proton pump inhibitors (Gatta *et al*, 2004) วิธีนี้สามารถทำได้ทั้งการตรวจหาเชื้อและตรวจยืนยันถึงผลสำเร็จของการรักษาได้ ในต่างประเทศเป็นวิธีทดสอบมาตรฐานในการทดสอบว่าสามารถกำจัดเชื้อได้สำเร็จได้หรือไม่ (Dempsey, 2005) แต่ในประเทศไทยวิธีนี้ยังไม่เป็นที่แพร่หลาย และเครื่องมือที่ใช้มีราคาแพง

2.3 Stool antigen test เป็นการตรวจหา antigen ของเชื้อ *H. pylori* ที่อาจปะปนมากับอุจจาระของผู้ป่วย เทคนิคที่นิยมได้แก่ enzymatic immunoassay (EIA) มีประสิทธิภาพในระดับเดียวกับวิธี urea breath test (Vaira *et al*, 2000; Vaira *et al*, 1999) สามารถทำได้ทั้งตรวจหาเชื้อ และตรวจยืนยันถึงผลสำเร็จของการรักษาได้ (Dempsey, 2005)

2.4 Molecular techniques ในปัจจุบันมีการนำมาใช้ในการตรวจหาเชื้อ *H. pylori* มากขึ้นโดยเฉพาะเทคนิค polymerase chain reaction (PCR) เนื่องจากเป็นวิธีที่มีความไวและความจำเพาะสูง (Cellini *et al*, 2006; Datta *et al*, 2003) สามารถตรวจได้ทั้งตัวอย่างจากชิ้นเนื้อกระเพาะอาหาร, น้ำลาย, และ อุจจาระ (Zsikla *et al*, 2006; Kabri, 2004) โดยการตรวจหาชิ้น urease C (*ureC*), urease A (*ureA*), cytotoxin-associated A (*cagA*), และ clarithromycin resistance ของเชื้อ *H. pylori* (Smith *et al*, 2004; Versalovic *et al*, 1996; Clayton *et al*, 1992; Labigne *et al*, 1991) แต่ก็มีข้อด้อยคือในตัวอย่างอุจจาระและน้ำลายมักมีสารรบกวน PCR reaction (Kabri, 2004) ตลอดจนเชื้อที่ตรวจพบไม่สามารถระบุได้ว่าเป็นเชื้อเป็นซึ่งมีความสำคัญในการก่อโรคหรือเชื้อตาย (Lisby, 1999)

เอกสารอ้างอิง

- Basset C, Holton J, Gatta L, Ricci C, Bernabucci V, Liuzzi G, Vaira D. 2004. *Helicobacter pylori* infection: anything new should we know? Aliment. Pharmacol. Ther. 20: 1-10.
- Bermejo F, Boixeda D, Gisbert JP, Defarges V, Sanz JM, Redondo C, Martín de Argila C, García Plaza A. 2002. Rapid urease test utility for *Helicobacter pylori* infection diagnosis in gastric ulcer disease. Hepatogastroenterology. 49: 572-575.

- Brown LM. 2000. *Helicobacter pylori*: epidemiology and routes of transmission. Epidemiol. Rev. 22: 283-297.
- Cellini L, Grande R, Di Campli E, Di Bartolomeo S, Capodicasa S, Marzio L. 2006. Analysis of genetic variability, antimicrobial susceptibility and virulence markers in *Helicobacter pylori* identified in Central Italy. Scand. J. Gastroenterol. 41: 280-287.
- Clayton CL, Kleanthous H, Coates PJ, Morgan DD, Tabaqchali S. 1992. Sensitive detection of *Helicobacter pylori* by using polymerase chain reaction. J. Clin. Microbiol. 30: 192-200.
- Correa P, Piazuelo MB. 2008. Natural history of *Helicobacter pylori* infection. Dig. Liver Dis. 40: 490–496.
- Cutler AF, Havstad S, Ma CK, Blaser MJ, Perez-Perez GI, Schubert TT. 1995. Accuracy of invasive and non invasive tests to diagnose *Helicobacter pylori* infection. Gastroenterology. 109: 136-141.
- Datta S, Chattopadhyay S, Balakrish Nair G, Mukhopadhyay AK, Hembram J, Berg DE, Rani Saha D, Khan A, Santra A, Bhattacharya SK, Chowdhury A. 2003. Virulence genes and neutral DNA markers of *Helicobacter pylori* isolates from different ethnic communities of West Bengal, India. J. Clin. Microbiol. 41: 3737-43.
- Deankanob W, Chomvarin C, Hahnvajanawong C, Intapan PM, Wongwajana S, Mairiang P, Kularbkaew C, Sangchan A. 2006. Enzyme-linked immunosorbent assay for serodiagnosis of *Helicobacter pylori* in dyspeptic patients and volunteer blood donors. Southeast Asian J. Trop. Med. Public Health. 37: 958–965.
- Dempsey DT. 2005. Stomach. In: Brunnicardi FC, editor. Schwartz's principle of surgery. 8th ed. New York : McGraw-Hill; p. 933-995.
- Di Bonaventura G, Neri M, Angelucci D, Rosini S, Piccolomini M, Piccolomini R. 2004. Detection of *Helicobacter pylori* by PCR on gastric biopsy specimens taken for CP test: comparison with histopathological analysis. Int. J. Immunopathol. Pharmacol. 17: 77-82.
- Dore MP, Leandro G, Realdi G, Sepulveda AR, Graham DY. 2000. Effect of pre-treatment antibiotic resistance to metronidazole and clarithromycin on outcome of *Helicobacter pylori* therapy: a meta analytical approach. Dig. Dis Sci. 45: 68-76.
- el-Zimaity HM, Graham DY, al-Assi MT, Malaty H, Karttunen TJ, Graham DP, Huberman RM, Genta RM. 1996. Interobserver variation in the histopathological assessment of *Helicobacter pylori* gastritis. Hum. Pathol. 27: 35-41.

- Garza-González E, Bosques-Padilla FJ, Tijerina-Menchaca R, Flores-Gutiérrez JP, Maldonado-Garza HJ, Pérez-Pérez GI. 2003. Comparison of endoscopy based and serum based methods for the diagnosis of *Helicobacter pylori*. *Can. J. Gastroenterol.* 17: 101-106.
- Gatta L, Ricci C, Tampieri A, Osborn J, Perna F, Bernabucci V, Vaira D. 2006. Accuracy of breath tests using low doses of ^{13}C -urea to diagnose *Helicobacter pylori* infection: a randomised controlled trial. *Gut.* 55: 457-462.
- Gatta L, Vakil N, Ricci C, Osborn JF, Tampieri A, Perna F, Miglioli M, Vaira D. 2003. A rapid, low dose ^{13}C Urea tablet for the detection of *Helicobacter pylori* infection before and after treatment. *Aliment. Pharmacol. Ther.* 17: 793-798.
- Gatta L, Vakil N, Ricci C, Osborn JF, Tampieri A, Perna F, Miglioli M, Vaira D. 2004. Effect of proton pump inhibitors and antacid therapy on ^{13}C -urea breath tests and stool test for *Helicobacter pylori* infection. *Am. J. Gastroenterol.* 99: 823-829.
- Hazell SL, Borody TJ, Gal A, Lee A. 1987. *Campylobacter pyloridis* gastritis, I: detection of urease as a marker of bacterial colonization and gastritis. *Am. J. Gastroenterol.* 82: 292-296.
- HPA, Health Protection Agency. 2008. National standard methods for identification of *Helicobacter* species. Reference no: BSOP ID26i2, 2: 1-12.
- Kabir S. 2004. Detection of *Helicobacter pylori* DNA in feces and saliva by polymerase chain reaction: a review. *Helicobacter.* 9: 115-123.
- Kusters JG, van Vliet AH, Kuipers EJ. 2006. Pathogenesis of *Helicobacter pylori* infection. *Clin. Microbiol. Rev.* 19: 449-490.
- Labigne A, Cussac V, Courcoux P. 1991. Shuttle cloning and nucleotide sequences of *Helicobacter pylori* genes responsible for urease activity. *J. Bacteriol.* 173: 1920-1931.
- Lisby G. 1999. Application of nucleic acid amplification to clinical microbiology. *Mol. Biotechnol.* 12: 75-99.
- McNulty C, Teare L, Owen R, Tompkins D, Hawtin P, McColl K. 2005. Test and treat for dyspepsiae but which test? *BMJ.* 330: 105-106.
- Monteiro L, de Mascarel A, Sarrasqueta AM, Bergey B, Barberis C, Talby P, Roux D, Shouler L, Goldfain D, Lamouliatte H, Mégraud F. 2001. Diagnosis of *Helicobacter pylori* infection: noninvasive methods compared to invasive methods and evaluation of two new tests. *Am. J. Gastroenterol.* 96: 353-358.

- Owen RJ. 1998. *Helicobacter*--species classification and identification. Br. Med. Bull. 54: 17-30.
- Perez-Perez GI, Rothenbacher D, Brenner H. 2004. Epidemiology of *Helicobacter pylori* infection. Helicobacter. 9: 1-6.
- Ricci C, Holton J, Vaira D. 2007. Diagnosis of *Helicobacter pylori*: invasive and non-invasive tests. Best Pract. Res. Clin. Gastroenterol. 21: 299-313.
- Romano M, Marmo R, Cuomo A, De Simone T, Mucherino C, Iovene MR, Montella F, Tufano MA, Del Vecchio Blanco C, Nardone G. 2003. Pretreatment antimicrobial susceptibility testing is cost saving in the eradication of *Helicobacter pylori*. Clin. Gastroenterol. Hepatol. 1: 273.
- Rotimi O, Cairns A, Gray S, Moayyedi P, Dixon M. 2000. Histological identification of *Helicobacter pylori*: comparison of staining methods. J. Clin. Pathol. 53: 756-759.
- Salih BA. 2009. *Helicobacter pylori* infection in developing countries: the burden for how long? Saudi. J. Gastroenterol. 15: 201-207.
- Smith SI, Oyediji KS, Arigbabu AO, Cantet F, Megraud F, Ojo OO, Uwaifo AO, Otegbayo JA, Ola SO, Coker AO. 2004. Comparison of three PCR methods for detection of *Helicobacter pylori* DNA and detection of *cagA* gene in gastric biopsy specimens. World J. Gastroenterol. 10: 1958–1960.
- Sternberg A, Coscas D, Wagner Y, Auslander L, Kaufshtein M, Fireman Z. 1997. Comparison of various *Helicobacter pylori* detection methods: serology, histology and bacteriology. Isr. J. Med. Sci. 33: 160-163.
- Tseng CA, Wang WM, Wu DC. 2005. Comparison of the clinical feasibility of three rapid urease tests in the diagnosis of *Helicobacter pylori* infection. Dig. Dis. Sci. 50: 449-452.
- Vaira D, Malfertheiner P, Mégraud F, Axon AT, Deltenre M, Hirschl AM, Gasbarrini G, O'Morain C, Garcia JM, Quina M, Tytgat GN. 1999. Diagnosis of *Helicobacter pylori* infection using a novel, noninvasive antigen based assay in a European multicentre study. Lancet. 354: 30-33.
- Vaira D, Malfertheiner P, Mégraud F, Axon AT, Deltenre M, Gasbarrini G, O'Morain C, Pajares Garcia JM, Quina M, Tytgat GN. 2000. Non invasive antigen based assay for assessing *Helicobacter pylori* eradication. A European multicentre study. Am. J. Gastroenterol. 95: 925-929.
- van Duynhoven YT, de Jonge R. 2001. Transmission of *Helicobacter pylori*: a role for food?. Bull. World Health Organ. 79: 455-60.

- Versalovic J, Shortridge D, Kibler K, Griffy MV, Beyer J, Flamm RK, Tanaka SK, Graham DY, Go MF. 1996. Mutations in 23S rRNA are associated with clarithromycin resistance in *Helicobacter pylori*. Antimicrob. Agents Chemother. 40: 477-480
- Warren JR, Marshall BJ. 1983. Unidentified curved bacilli on gastric epithelium in active chronic gastritis. Lancet. 1: 1273-1275.
- WHO, World Health Organization. 2008. *Helicobacter pylori*. Available from: http://www.who.int/immunization/topics/helicobacter_pylori/en/print.html. Accessed 2010 July.
- Yamaoka Y, Kato M, Asaka M. 2008. Geographic differences in gastric cancer incidence can be explained by differences between *Helicobacter pylori* strains. Inter. Med. 47: 1077–1083.
- Zsikla V, Hailemariam S, Baumann M, Mund MT, Schaub N, Meier R, Cathomas G. 2006. Increased rate of *Helicobacter pylori* infection detected by PCR in biopsies with chronic gastritis. Am. J. Surg. Pathol. 30: 242-248.
- Zúñiga-Noriega JR, Bosques-Padilla FJ, Pérez-Pérez GI, Tijerina-Menchaca R, Flores-Gutiérrez JP, Maldonado Garza HJ, Garza-González E. 2006. Diagnostic utility of invasive tests and serology for the diagnosis of *Helicobacter pylori* infection in different clinical presentations. Arch. Med. Res. 37: 123-128.