

### บทที่ 3

#### วิธีดำเนินการวิจัย

งานวิจัยนี้เป็นงานวิจัยเชิงสำรวจเพื่อพัฒนาระบบการติดตามอาการไม่พึงประสงค์จากการใช้ยา โดยติดตามความเป็นพิษต่อตับจากการใช้ยาต้านวัณโรคในผู้ป่วยวัณโรครายใหม่ที่รับยาต้านวัณโรคสูตรระยะสั้น เพื่อหาข้อมูลถึงลักษณะของความเป็นพิษต่อตับที่เกิดขึ้น ความเหมาะสมในการตรวจทางห้องปฏิบัติการ วิธีดำเนินการวิจัยประกอบด้วย การเก็บข้อมูลโดยการซักถามจากผู้ป่วยโดยตรงก่อนเริ่มต้นและระหว่างบำบัดวัณโรค และการตรวจทางห้องปฏิบัติการเบื้องต้นและระหว่างบำบัดวัณโรค

#### ประชากรและขอบเขตของการวิจัย

เป็นการวิจัยในกลุ่มผู้ป่วยวัณโรคที่ได้รับการรักษาด้วยยาต้านวัณโรค

สูตรระยะสั้น หมายถึง สูตร 2HRZE/4HR, 2HRZ/2HR หรือ 2HRZ/4HR (เลขตัวหน้า หมายถึงจำนวนเดือน)

กล่าวโดยสรุป คือ

- ใน 2 เดือนแรกของการรักษา ผู้ป่วยจะได้รับยาต้านวัณโรค อย่างน้อย 3 ชนิด คือ ยา isoniazid , rifampicin , pyrazinamide และหรือมีการใช้ ethambutol ร่วม
- ในเดือนที่ 3-6 ของการรักษา ผู้ป่วยจะได้รับยาต้านวัณโรค 2 ชนิด คือ isoniazid และ rifampicin

#### เกณฑ์การคัดเลือก (Inclusion criteria)

การศึกษาคัดเลือกผู้ป่วยเฉพาะที่มีลักษณะประกอบด้วยผู้ป่วยช่วงอายุ 15-45 ปี ผู้ป่วยที่ได้รับการวินิจฉัยโดยแพทย์ว่าเป็นวัณโรค ผู้ป่วยจำเป็นต้องได้รับการบำบัดด้วยยาต้านวัณโรคสูตรระยะสั้น ดังกล่าวข้างต้น

#### เกณฑ์การคัดออก (Exclusion criteria)

ข้อยกเว้น ผู้ป่วยจะต้องไม่มีสภาวะตามเงื่อนไขต่อไปนี้ แม้ข้อใดข้อหนึ่งคือ

- มีประวัติได้รับยาต้านวัณโรคมาก่อน
- ผู้ป่วยไม่สมัครใจเข้าร่วมในการศึกษาหรือมีเหตุผลอื่นที่ไม่สามารถติดตามผู้ป่วยได้

กลุ่มผู้ป่วยที่ทำการศึกษาก็คจะเป็นผู้ป่วยที่ขึ้นทะเบียนบำบัดวัณโรคที่โรงพยาบาลสตึกในปี พุทธศักราช 2541 เริ่มคัดเลือกผู้ป่วยวัณโรครายใหม่ตั้งแต่ 31 มีนาคม 2541 โดยคัดเลือกลำดับตามเลขที่ที่ขึ้นทะเบียนและมีคุณสมบัติตามกำหนด สิ้นสุดการคัดเลือก 31 มกราคม 2542 รวมระยะเวลาในการคัดเลือก 10 เดือน คัดเลือกผู้ป่วยได้ทั้งสิ้น 23 ราย ติดตามข้อมูลวิเคราะห์ระดับเอนไซม์ และติดตามตลอดระยะเวลาที่ผู้ป่วยมารับทางด้านวัณโรคจนจบการรักษา สิ้นสุดการเก็บข้อมูลและการตรวจทางห้องปฏิบัติการในเดือนกรกฎาคม 2542 รวมระยะเวลาในการคัดเลือกและเก็บข้อมูลในการศึกษาครั้งนี้ ณ โรงพยาบาลสตึก รวม 16 เดือน ได้ผู้ป่วยที่สามารถศึกษาวิจัยและนำข้อมูลมาแปรผลทั้งสิ้น 23 ราย

เครื่องมือที่ใช้ในการวิจัย

## 1. วัสดุและวิธีการ (Material and method)

### 1.1 เอกสารและวัสดุทั่วไป

- แบบซักประวัติและเก็บข้อมูลเบื้องต้นและข้อมูลติดตามเฉพาะราย(ภาคผนวก ก)
- แบบเก็บข้อมูลแต่ละครั้งที่มารับการรักษา (ภาคผนวก ข)
- บัตรนัดผู้ป่วยวัณโรคเพื่อความสะดวกในการติดตาม ในระหว่างมารับการรักษาในโรงพยาบาล (ภาคผนวก ค)
- บัตรประเมินความร่วมมือในการรับประทานยาของผู้ป่วย (ภาคผนวก ง)
- เอกสารแนะนำการใช้ยาและการปฏิบัติตนในระหว่างรับการรักษา (ภาคผนวก จ)
- ขั้นตอนการเก็บข้อมูลในแต่ละครั้ง (ภาคผนวก ฉ)
- เอกสารเกี่ยวกับการสำรวจนําร่อง (ภาคผนวก ช)
- software โปรแกรม SPSS 7.52

### 1.2 ยาและสารเคมีที่ใช้ในการตรวจทางห้องปฏิบัติการ จาก

- ศูนย์ควบคุมโรคเขต 5 นครราชสีมา

ยา Isoniazid	100mg tablet	ผลิตโดย องค์การเภสัชกรรม
ยา Rifampicin	300mg capsule	ผลิตโดย องค์การเภสัชกรรม
ยา Rifampicin	450 mg capsule	ผลิตโดย องค์การเภสัชกรรม
ยา Pyrazinamide	500 mg tablet	ผลิตโดย องค์การเภสัชกรรม
ยา Ethambutol	400 mg tablet	ผลิตโดย องค์การเภสัชกรรม
ยา Ethambutol	500 mg tablet	ผลิตโดย องค์การเภสัชกรรม

- บริษัท คลินิกคอลไคแอดโนติกส์ ประเทศไทย จำกัด  
Antihebscell Reversed Passive Hemagglutination (PHA) Test Kit
- บริษัท คลาสวัน แลบบอราตอรี จำกัด  
Total & Direct bilirubin reagent
- บริษัท ซิลลิค แห่งประเทศไทย จำกัด  
SERA-PAK<sup>®</sup> ALT (GPT) code 6397  
SERA-CHEK<sup>™</sup> control sera (Normal, code 6656)  
SERA-CHEK<sup>™</sup> control sera (Abormal, code 6657)  
SERA-PAK<sup>®</sup> AST (GOT)  
SERA-PAK<sup>®</sup> ALP
- จากสำนักงานสาธารณสุขจังหวัดบุรีรัมย์  
ชุดตรวจหาพยาธิใบไม้ตับในอุจจาระ Kato's thick smear

### 1.3 เครื่องมือที่ใช้ในการทดลอง

- Technicon RA-50<sup>®</sup> ของ Bayer (Operating Manual RA50 Chemistry Analyzer)
- กล้องจุลทรรศน์สำหรับตรวจหาพยาธิใบไม้ตับในอุจจาระ
- เครื่องคอมพิวเตอร์และเครื่องพิมพ์

## 2. สถานที่ทำการวิจัย

โรงพยาบาลสตึก อำเภอสตึก จังหวัดบุรีรัมย์

## 3. การเก็บรวบรวมข้อมูล

- คัดเลือกผู้ป่วยที่อยู่ในขอบเขตของการศึกษานี้
- ชักประวัติผู้ป่วยโดยแบบสัมภาษณ์และแบบเก็บข้อมูล
- แนะนำแนวทางการรักษาตามแบบแผนที่กำหนด
- ผู้ป่วยมารับการรักษาต่อเนื่อง ชักประวัติ, เก็บข้อมูลเพิ่มเติม ตรวจสอบสัญญาณชีพ วัดระดับ ALT ทุกครั้งที่ผู้ป่วยมารับการรักษา โดยในเดือนแรกของการรักษานัดในสัปดาห์ที่ 2 ด้วย ต่อจากนั้นนัดเป็นทุกเดือนของการรักษาตามปกติ

- ประสานงานกับเจ้าหน้าที่ที่เจาะเลือดเพื่อเก็บตัวอย่างเลือดสำหรับวัดระดับ ALT
- ผู้วิจัยทำการวิเคราะห์ตัวอย่างเลือดเพื่อหาระดับ ALT โดยทำเป็น 2 ครั้งใน 1 ตัวอย่าง หาค่าเฉลี่ย บันทึกผล
- การวิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้ nonparametric statistic ด้วยโปรแกรม SPSS 7.52

การเตรียมผู้ป่วยก่อนเริ่มการรักษา เมื่อผู้ป่วยได้รับการคัดเลือกแล้ว ผู้ป่วยจะได้รับข้อมูลเกี่ยวกับ

- แนวทางแบบแผนการรักษา
- ความจำเป็นในการบำบัดโรควัณโรค
- การนัดหมายคลินิกวัณโรคของโรงพยาบาลสตึก การรับบริการตรวจเสมหะทุกเดือน และเอกซเรย์ปอดหลังจากรับการรักษาด้วยยาตามแบบแผนครบ
- อาการไม่พึงประสงค์ซึ่งอาจเกิดขึ้นได้จากการใช้ยา
- การปฏิบัติตัวในการรับประทานยา ในการศึกษาได้จัดยาต้านวัณโรคที่ต้องรับประทานรวมเป็น 1 ซองต่อวัน ให้ผู้ป่วยรับประทานก่อนอาหารเช้าวันละครั้ง การบันทึกการทานยาในบัตรเดือน การงดเว้นการดื่มสุราหรือการสูบบุหรี่
- เหตุผลที่ต้องมีการเจาะเลือดทุกครั้ง หรือการตรวจชันสูตรทางห้องปฏิบัติการอื่นๆ
- การใช้ยาอื่น นอกเหนือจากที่ได้รับจากที่ได้รับจากโรงพยาบาล เช่น การซื้อยาทานเอง การไปรับยาอื่นนอกจากยาที่ได้รับจากผู้วิจัยจ่ายให้
- การติดต่อกับผู้วิจัย

การศึกษาในระหว่างการบำบัดวัณโรค

- การนัดผู้ป่วยหลังจากเริ่มการบำบัด เมื่อครบ 2 สัปดาห์ 1, 2, 3, 4, 5 และ 6 เดือน จนจบระยะการรักษาด้วยยาวัณโรคสูตรระยะสั้นที่ผู้ป่วยได้รับ การนัดทุกครั้งจะนัดกับวันศุกร์ ซึ่งวันที่จัดให้มีคลินิกวัณโรคของโรงพยาบาลสตึก
- ผู้วิจัยเก็บข้อมูลเกี่ยวกับการใช้ยา อาการ อาการแสดง น้ำหนัก การเปลี่ยนแปลงแบบแผนการรักษา
- ผลการตรวจเสมหะ หา acid fast bacilli ทุกเดือน
- ผลระดับน้ำตาลในปัสสาวะหรือระดับน้ำตาลในเลือดก่อนเริ่มต้นการรักษา
- การตรวจวัดระดับของอลานินทรานซามิเนส โดย 1 ตัวอย่างวัด 2 ครั้งแล้วหาค่าเฉลี่ย

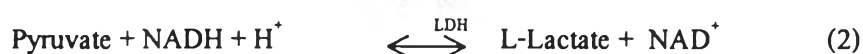
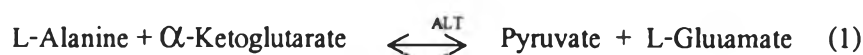
- ในกรณีที่มียาค่าของอลานีนทรานซอมีเนสผิดปกติมาก (ตั้งแต่ 2 เท่าของระดับปกติ) ผู้วิจัยจะตรวจวัดการทำงานของตับเพิ่มเติม ได้แก่ การวัดระดับ AST, ALP เป็นต้น
- การตรวจอุจจาระเพื่อหาพยาธิใบไม้ตับ ในกรณีที่ผู้ป่วยมีอาการปวดแน่นท้อง
- ตรวจสอบอาการคิซ่าน โดยดูจากเปลือกลูกตา(sclera) ของผู้ป่วย หากมีสีเหลืองจะตรวจหาระดับของ ALP , bilirubin เพื่อขึ้นชั้นภาวะ cholestasis

### การตรวจทางห้องปฏิบัติการ

#### a) ตรวจวัดค่า alanine transaminase

หลักการโดยวัดอัตราการลดลงของการดูดกลืนแสงต่อนาที ที่ความยาวคลื่น 340 nm อุณหภูมิ  $37.0 \pm 0.2$  °C ของ NADH เนื่องจากถูกใช้ไปในปฏิกิริยาขั้นตอนที่ 2 โดยใช้เครื่อง Operating Manual RA50 Chemistry Analyzer

#### หลักการของปฏิกิริยา



การตรวจวัดโดยวิธีนี้ มีการกล่าวถึงภาวะพร่องวิตามิน บี 6(pyridoxine;B<sub>6</sub>) ในซีรัมของผู้ป่วยว่ามีผลต่อระดับ ALT ที่วัดได้ เนื่องจากเอนไซม์ทรานซอมีเนสต้องมี pyridoxal-5-phosphate (PDP) ซึ่งเป็น active form ของ B<sub>6</sub> เป็นโคแฟกเตอร์ การวัดอาศัย PDP จากในตัวอย่างซีรัม แต่ถ้าหากว่าตัวอย่างในซีรัมขาด PDP ค่า ALT ที่วัดได้จะต่ำกว่าปกติ (Hafkenschied, 1979)

ภาวะพร่องวิตามิน บี 6 พบได้น้อย ดังนั้นการตรวจโดยทั่วไปจะใช้ PDP ในชุดทดสอบหรือไม่ ค่าที่ได้ไม่แตกต่างกันนัก

เป็นที่ทราบกันว่าเมื่อมีการใช้ยา isoniazid อาการไม่พึงประสงค์ที่สำคัญที่เกิดขึ้นคือ ภาวะพร่องวิตามิน บี 6 โดยกลไก ดังนี้



เมื่อมีการใช้ยา isoniazid จะทำให้ร่างกายสูญเสีย pyridoxine ไปในรูปของ pyridoxal-hydrazone ซึ่งจะถูกขับออกจากร่างกายอย่างรวดเร็วทางปัสสาวะ ทำให้ระดับ

PDP ในเลือดลดลง ในการรักษาผู้ป่วยเป็นการยากที่จะคาดคะเนถึงระดับพร่องวิตามิน บี 6 ดังนั้นการตรวจ ALT ในการศึกษาครั้งนี้ จะใช้วิธีการตรวจที่มีการใส่ PDP ในชุดทดสอบเป็นหลัก

b) การทดสอบผลต่อแอนติเจนไวรัสตับอักเสบบี

โดยวิธี Reversed Passive Hemagglutination(RPHA) Test Kit ซึ่งอาศัยหลักการจับกลุ่มการตกตะกอนของเม็ดเลือดแดงที่เคลือบด้วย Anti-HBs แบบ RPHA แล้วอ่านผลได้ด้วยตาเปล่า ด้วยน้ำยา Antihebscell

c) วัดระดับ Total and Direct Bilirubin ในซีรัม

ด้วยวิธี DMSO, Acid Diazo

หลักการเกิดสีจากการที่ bilirubin ทำปฏิกิริยากับ diazotised sulphanic acid แล้วเกิดเป็น azobilirubin ที่มีสี วัดการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 550nm เครื่อง Operating Manual RA50 Chemistry Analyzer วัดโดยใช้น้ำยาของ CLASS-1 laboratories co.ltd.

d) ตรวจหาไข่หรือตัวพยาธิใบไม้ตับ(*Opisthochis viverrini*) ในอุจจาระ โดยวิธี Kato's thick smear แล้วตรวจหาตัวอ่อนหรือไข่พยาธิโดยใช้กล้องจุลทรรศน์

### ขั้นตอนการทำวิจัย

- จัดทำการสำรวจนำร่อง โดยขอความร่วมมือจากหน่วยงานโรงพยาบาลชุมชน 3 แห่งในจังหวัดบุรีรัมย์ เก็บข้อมูลจากผู้ป่วยแต่ละ 5 ราย โดยการตรวจวัดซีรัม ALT ในผู้ป่วยวัณโรครายใหม่ อายุระหว่าง 20-45 ปี ติดตามข้อมูลในระยะ 2 เดือนแรก โดยวัดค่า ALT เบื้องต้นก่อนเริ่มการรักษา และค่า ALT ในเดือนที่ 1 และเดือนที่ 2 หลังรับการรักษา และเก็บข้อมูล น้ำหนัก ขนาดใช้ต่อวันของยาแต่ละตัว
- เนื่องจากเป็นการศึกษานี้เป็นวิจัยเชิงสำรวจ ผู้วิจัยเลือกศึกษาในผู้ป่วยวัณโรครายใหม่(ผู้ป่วยใหม่ อายุ 15 - 45 ปี ที่ไม่เคยรับการรักษาด้วยยาวัณโรคมามาก่อนที่ใช้ยาต้านวัณโรคสูตรระยะสั้น ) ติดตามข้อมูลตลอดระยะเวลาในการรักษา นำข้อมูลมาวิเคราะห์หารูปแบบการเปลี่ยนแปลงของค่า ALT และพารามิเตอร์ต่างๆ ได้แก่

- ข้อมูลภาพรวม(demographic data) เช่น เพศ อายุ น้ำหนัก ส่วนสูง เป็นต้น
- อาการทางคลินิก
- การเปลี่ยนแปลงของค่าทางห้องปฏิบัติการข้อมูลได้จากการซักประวัติ การสังเกตอาการ และการวัดโดยใช้เครื่องมือทางการแพทย์ และเครื่องมือทางห้องปฏิบัติการ
- รวบรวมผลการทดลอง วิเคราะห์ผล

#### การวิเคราะห์ข้อมูล

- นำข้อมูลมาวิเคราะห์ทางสถิติ โดยใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์ SPSS 7.52
- เปรียบเทียบระดับออกซิเจนในเลือดและระดับของออกซิเจนในเลือดระหว่างการให้ยาต้านวัณโรคกับระยะเวลาต่างๆ
- รูปแบบการเปลี่ยนแปลงของระดับออกซิเจนในเลือดกับความสัมพันธ์ของพารามิเตอร์ต่างๆ
- เพื่อหาความแตกต่างของพารามิเตอร์ของผู้ป่วย ที่มีการเปลี่ยนแปลงระดับออกซิเจนในเลือด มากกว่า 2 เท่าของค่าปกติ กับผู้ป่วยที่ไม่มีการเปลี่ยนแปลงระดับออกซิเจนในเลือดหรือมีการเปลี่ยนแปลงน้อยไม่มากกว่า 2 เท่าของค่าปกติ