

บทที่ 3

วิธีดำเนินการ

การวิจัยนี้เป็นการศึกษาผู้ป่วยไทยที่มีโรคแผลเปปติก ที่เข้ารับการรักษาในโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ แผนกอายุรศาสตร์ ทั้งผู้ป่วยในและผู้ป่วยนอก ในช่วงเวลา 1 ปี ระหว่างวันที่ 1 เมษายน 2540 ถึง 31 มีนาคม 2541

รูปแบบการวิจัย

การวิจัยเชิงวิเคราะห์ชนิดไปข้างหน้า

ระเบียบวิธีการวิจัย

ประชากรเป้าหมาย คือ ผู้ป่วยไทยที่มีโรคแผลเปปติกร่วมกับ *H. pylori*
ประชากรตัวอย่าง คือ ผู้ป่วยไทยที่มีโรคแผลเปปติกร่วมกับ *H. pylori* ที่มารับการรักษาในโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ แผนกอายุรศาสตร์ ทั้งผู้ป่วยในและผู้ป่วยนอก

คุณสมบัติของผู้ป่วยที่เข้าในการวิจัย

- ผู้ป่วยไทยอายุ 15-80 ปี ทั้งเพศหญิงและชาย ที่มีครบ 3 ข้อต่อไปนี้ คือ
1. มีแผลเปปติก ที่กระเพาะอาหาร และ/หรือลำไส้เล็กส่วนต้น จำกัดขนาดไม่เกิน 2 ซม. แต่ไม่จำกัดจำนวน จากการส่องกล้องตรวจทางเดินอาหารส่วนบน ที่มี *H. pylori* โดยวินิจฉัยจากผลบวกของ CLO test ร่วมกับการตรวจทางพยาธิ หรือการเพาะเชื้อ¹³ และทราบผลความไวต่อเมโทรนิดาโซล
 2. ไม่เคยได้รับการรักษา เฮลิโคแบคเตอร์ ไพโลไร ภายใน 6 เดือนก่อนการรักษา
 3. ผู้ป่วยยินยอมให้ศึกษาโดยลงนามในใบยินยอมเข้ารับการรักษา

คุณสมบัติของผู้ป่วยที่ไม่เข้าในการวิจัย

1. ผู้ป่วยที่อายุน้อยกว่า 15 ปีหรือมากกว่า 80 ปี
2. ผู้ป่วยที่มีการตกเลือดในทางเดินอาหารส่วนบนที่รุนแรง (active upper gastrointestinal bleeding, visible vessels หรือ adherent clot)
3. ผู้ป่วยที่สงสัยว่ามีหรือพบว่ามึะเร็งกระเพาะอาหารจากผลการส่องกล้องตรวจทางเดินอาหารส่วนบน หรือจากการตรวจทางพยาธิ
4. ผู้ป่วยที่ไม่สามารถรับการรักษาได้ภายใน 3 วันหลังการส่องกล้องตรวจทางเดินอาหารส่วนบน
5. ผู้ป่วยหญิงที่ตั้งครรภ์ หรือกำลังให้นมบุตร
6. ผู้ป่วยที่มีความผิดปกติทางระบบประสาท, หลอดเลือดและหัวใจ, ปอด , เลือด หรือทางจิตเวช ที่รุนแรง
7. ผู้ป่วยที่มีความผิดปกติทางตับ คือ SGOT, SGPT > 2 เท่าของค่าปกติ
8. ผู้ป่วยที่มีความผิดปกติทางไต คือ serum creatinine > 2 มก./ดล.
9. ผู้ป่วยที่ได้ ยาปฏิชีวนะ, บิสมีธ, ยาต้านปั้มโปรตอน ภายใน 4 สัปดาห์ก่อนการรักษา
10. ผู้ป่วยที่มีประวัติดื่มสุราประจำ
11. ผู้ป่วยที่มีประวัติแพ้ยา โอมิพราโซล, คลาริโธรมัยซิน หรือ เมโทรนิดาโซล
12. ผู้ป่วยที่ไม่สามารถมาตามนัดเพื่อรับการรักษาจนครบ ไม่ว่าจะเหตุผลใดก็ตาม

ขนาดตัวอย่าง

คำนวณขนาดตัวอย่างในการศึกษาเชิงวิเคราะห์ชนิดไปข้างหน้า

$$\text{จากสูตร} \quad n = \frac{[Z_a/\sqrt{2pq} + Z_b/\sqrt{P(1+R-P(1+R^2))}]^2}{[P(1-R)]^2}$$

n = ขนาดตัวอย่างของแต่ละกลุ่ม

Z_a = ค่า Z ที่ได้จกตารางการแจกแจงปกติมาตรฐาน เมื่อ alpha error 5% = 1.96

Z_b = ค่า Z ที่ได้จกตารางการแจกแจงปกติมาตรฐาน เมื่อ beta error 10% = 1.28

P = โอกาสที่กำจัดเชื้อไม่ได้แม้ไม่เป็นเชื้อที่ติดต่อเมโทรนิดาโซล คือ 10% = 0.1

R = relative risk ที่กำจัดเชื้อไม่ได้เมื่อเป็นเชื้อที่ติดต่อเมโทรนิดาโซล กำหนด = 2

P = P(1+R)/2 = 0.15 , q = 1-p = 0.85

แทนค่าในสูตร ขนาดตัวอย่างจะได้ประมาณ 265 รายต่อกลุ่ม แต่เนื่องจากมีข้อจำกัดในเวลาที่ทำการศึกษาระบบประมาณ จึงกำหนดขนาดตัวอย่าง เท่ากับ 50 รายที่เพาะ

เชื้อชั้นและทราบผลความไวต่อเมโทรนิดาโซล แบ่งเป็น 2 กลุ่มคือ กลุ่มที่ไวต่อเมโทรนิดาโซล และกลุ่มที่ดื้อต่อเมโทรนิดาโซล กลุ่มละ 25 ราย (เพราะทราบความชุกของเชื้อนี้ที่ดื้อต่อเมโทรนิดาโซลในประเทศไทยคือ ร้อยละ 51¹²)

จากข้อมูลของห้องแบคทีเรียที่ส่งตรวจในการศึกษานี้ พบว่าความไวในการเพาะเชื้อนี้ เท่ากับร้อยละ 60¹² ฉะนั้นจะต้องได้ผู้ป่วยที่ผล CLO test เป็นบวกประมาณ 80 ราย

การรวบรวมข้อมูล

ผู้ทำการวิจัยจะอธิบายผู้ป่วยถึงความจำเป็นในการวิจัยนี้ และขอให้เซ็นใบยินยอมเข้ารับการรักษา จากนั้นจะบันทึกข้อมูลลงในแบบรายงานผู้ป่วย ซึ่งมีตัวอย่างในภาคผนวก

วิธีดำเนินการวิจัย

1. เมื่อพบผู้ป่วยที่มีแผลเปปติคขณะทำการส่องกล้องตรวจทางเดินอาหารส่วนบน และมีคุณสมบัติเข้าในการวิจัยได้ตามหลักเกณฑ์การคัดเลือกเข้าและคัดออก

จะทำการตัดชิ้นเนื้อกระเพาะอาหารที่ตำแหน่ง

antrum (ห่างจากรูเปิด pylorus 1-2 ซม.) 3 ชิ้น
body 2 ชิ้น

รวมทั้งสิ้น 5 ชิ้น

antrum 1 ชิ้น + body 1 ชิ้น ส่งตรวจ CLO test³
ถ้า CLO test ได้ผลบวก จึงส่งตรวจเพิ่มเติม คือ

antrum 1 ชิ้น ส่งตรวจทางพยาธิ*
antrum 1 ชิ้น + body 1 ชิ้น ส่งเพาะเชื้อดูความไวต่อเมโทรนิดาโซล*

2. ให้การรักษาด้วยสูตรยา OCM คือ

- โอมิพราโซล (20 มก.)	ทาน 1 เม็ดก่อนอาหารเช้าและเย็น
- คลาร์ิโธรมัยซิน (500 มก.)	ทาน 1 เม็ดก่อนอาหารเช้าและเย็น
- เมโทรนิดาโซล (500 มก.)	ทาน 1 เม็ดก่อนอาหารเช้าและเย็น

นาน 1 สัปดาห์ จากนั้น ตามด้วย

- โอมิพราโซล (20 มก.) ทาน 1 เม็ดก่อนอาหารเช้า
- ต่ออีก 5 สัปดาห์สำหรับแผลในกระเพาะอาหาร
- และ 3 สัปดาห์สำหรับแผลในลำไส้เล็ก

3. นอกจากนี้แล้วจะทำการบันทึกข้อมูลพื้นฐานผู้ป่วย คือ ชื่อ เพศ อายุ ที่อยู่ การสูบบุหรี่ สัญชาติ เชื้อชาติ รายได้ครอบครัวต่อปี ก่อนให้การรักษา
4. ทำการส่องกล้องตรวจทางเดินอาหารส่วนบนซ้ำที่ 4 สัปดาห์หลังจากโอมิพราโซลหมด โดยระหว่างนี้ต้องไม่มียาปฏิชีวนะ, บิสมีท และยาต้านปั๊มโปรตอน จากนั้นตัดชิ้นเนื้อเพื่อส่งตรวจด้วยวิธีเดิมซ้ำ
5. ถ้าผลลบทั้ง CLO test, การตรวจทางพยาธิ และการเพาะเชื้อ ถือว่ากำจัด *H. pylori* ได้ จากนั้นพิจารณาเฉพาะกลุ่มที่เพาะเชื้อขึ้นและทราบผลความไวต่อเมโทรนิดาโซล เปรียบเทียบผลการกำจัดเชื้อและผลการรักษาแผลเปปติก ระหว่างกลุ่มที่ไวกับกลุ่มที่ดื้อต่อเมโทรนิดาโซล

⁵ CLO test (Delta West, Australia) ย่อจาก Campylobacter-like organism test เป็น commercial kit ที่มีลักษณะเป็นวงสีเหลือง ประกอบด้วย urea ทำหน้าที่เป็น substrate และ phenol red ทำหน้าที่เป็น indicator ซึ่งปกติมีสีเหลือง จะเปลี่ยนเป็นสีแดงเมื่อมีภาวะเป็นด่าง ใช้ตรวจหา *H. pylori* โดยใส่ชิ้นเนื้อกระเพาะอาหารที่ antrum 1 ชิ้นและ body 1 ชิ้นรวมกันลงใน kit อาศัยคุณสมบัติของ *H. pylori* ที่มี urease ซึ่งสามารถย่อย urea แล้วทำให้เกิด ammonium hydroxide ที่มีฤทธิ์เป็นด่างเปลี่ยนสีของ phenol red ที่ทำหน้าที่เป็น indicator จากสีเหลืองเป็นสีแดง ถ้ามี *H. pylori* ผลจะเป็นบวกร้อยละ 75 ที่ 20 นาที, ร้อยละ 85 ที่ 1 ชม., ร้อยละ 90 ที่ 2 ชม. และร้อยละ 95 ที่ 24 ชม. ดังนั้นจะทราบผลได้ภายใน 24 ชม.

* การตรวจทางพยาธิ ใช้ชิ้นเนื้อกระเพาะอาหารที่ antrum 1 ชิ้น แช่ในน้ำยาฟอร์มาลิน ส่ง รศ.นพ. พิเชษฐ์ สัมปทานกุล ภาควิชาพยาธิวิทยา โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ ซึ่งไม่ทราบผล CLO test และการเพาะเชื้อ เพื่อตรวจหา *H. pylori* โดยใช้ modified Giemsa stain ซึ่งเป็น stain ที่มีความไวและความจำเพาะสูงสำหรับ *H. pylori* ราคาถูก และสะดวกในทางปฏิบัติ⁶⁻⁷ จากนั้นรายงานผลพร้อมทั้งถ่ายรูปไว้เป็นหลักฐาน

* การเพาะเชื้อ ใช้ชิ้นเนื้อกระเพาะอาหารที่ antrum 1 ชิ้นและ body 1 ชิ้น ใส่ใน selective media: Brucella agar (Difco, U.K.), 5 % Horse serum (Gobco BRL.), 0.2% Bovine heme (BBL, Becton Dickinson, U.S.A.) and 1 % supplement (Difco, U.K.) containing vancomycin 6 mg./l., trimethoprim 5 mg./l., polymyxin B 2 mg./l. and amphotericin B 2 mg./l. ทั้งนี้ จากนั้น incubate ที่ 37°C, microaerophilic atmosphere (5% O₂, 10% CO₂, 85% N₂, Difco, U.K.) เป็นเวลา 3-7 วัน ถ้าเชื้อขึ้น แยกเชื้อต่อด้วยลักษณะเฉพาะทางชีวเคมีที่มี urease, catalase และ oxidase activity จากนั้นตรวจความไวต่อ

เมโทรนิดาโซลโดยดู minimum inhibitory concentration ที่ 90 (MIC₉₀) ด้วยวิธี Epsilon test (E test) (AB Biodisk, Solna, Sweden) โดย scape bacterial colonies ที่ขึ้นใน selective media จากนั้น suspend ใน Brain Heart Infusion broth (BHI, Difco, U.K.) จนกระทั่งขุ่นเท่ากับ 3 McFarland standard (เทียบเท่ากับ 10⁸ colony forming units per ml.) จากนั้น streak bacterial suspension ด้วย cotton swab ลงบน Mueller Hinton agar (Difco, U.K.) containing 5% Horse serum, 0.2% Bovine heme and 1% supplement วาง E test strip บน agar ที่ทิ้งไว้จนแห้ง incubate ต่อที่ 37°C, microaerophilic atmosphere เป็นเวลา 3-5 วัน จากนั้นอ่าน MIC₉₀ scale value บน E test strip โดยดูที่จุด intersection ของ growth elliptic margin zone กรณีที่เพาะเชื้อไม่ขึ้นภายใน 7 วัน จะยังคง incubate ต่อจนถึง 14 วันก่อนที่จะรายงานผลว่า no growth

เหตุผลในวิธีดำเนินการวิจัย

1. เลือกรักษาเฉพาะ *H. pylori* ในโรคแผลเปปติกเท่านั้นซึ่งเป็นที่ยอมรับทั่วโลก²⁷⁻³⁰ ส่วนการกำจัดเชื้อในโรคอื่นๆ ยังไม่เป็นที่ยอมรับโดยแพร่หลาย การศึกษาเดิมที่ผ่านมาทั้งที่สนับสนุน³⁶⁻⁴² และคัดค้าน⁴³⁻⁴⁴ ว่าการดื้อต่อเมโทรนิดาโซลมีผลต่อการกำจัดเชื่อนั้น ล้วนแต่ศึกษาในผู้ป่วยทั้งโรคแผลเปปติก และ non-ulcer dyspepsia โดยส่วนใหญ่จะเป็น non-ulcer dyspepsia ซึ่งผลที่ได้จะไม่บ่งบอกถึงผลการกำจัดเชื้อในผู้ป่วยโรคแผลเปปติกที่จำเป็นต้องกำจัดเชื้อโดยแท้จริง นอกจากนี้อาจมีปัญหาในแง่จริยธรรม เพราะใน non-ulcer dyspepsia ที่มี *H. pylori* ยังไม่เป็นที่ยอมรับกันโดยทั่วไปในการกำจัด *H. pylori* แต่ต้องถูกส่องกล้องตรวจทางเดินอาหารส่วนบน ซึ่งเป็นวิธีที่ invasive ถึง 2 ครั้ง
2. จำกัดขนาดแผลเปปติกไม่เกิน 2 ซม. เพราะระยะเวลาในการรักษาด้วยอิมพิพราโซลจะต้องนานกว่าระยะเวลาที่ให้ในการศึกษานี้
3. เลือกตัดชิ้นเนื้อเพื่อตรวจหา *H. pylori* ที่ antrum และ body เนื่องจากเชื้อนี้พบมากที่สุดที่ antrum รองลงมาคือ body
4. ใช้ CLO test เป็นตัวคัดเลือกเพื่อตรวจหา *H. pylori* ต่อไปทางพยาธิและการเพาะเชื้อ เพราะเป็นการทดสอบที่ราคาถูกที่สุดและได้ผลไวที่สุดเมื่อเทียบกับการทดสอบอื่น และเนื่องจากต้องให้ยารักษาซึ่งราคาแพงไปก่อนที่จะทราบผลการเพาะเชื้อ ถ้าให้ในกลุ่ม CLO test ได้ผลลบซึ่งโอกาสที่จะเพาะเชื้อขึ้นนั้นน้อยมาก¹³ จะทำให้เปลืองค่ายาโดยไม่จำเป็น
5. วิจัยว่ามี *H. pylori* จากผลบวกของ CLO test ร่วมกับการตรวจทางพยาธิหรือการเพาะเชื้อ¹³ ไม่ควรใช้ผลบวกของการทดสอบเดียว (ยกเว้นการเพาะเชื้อซึ่งมีความจำเพาะสูง แต่มีความไวในการวินิจฉัยต่ำเพียงร้อยละ 60 ในประเทศไทย¹²) เนื่องจาก CLO test มีผลบวกปลอม ได้ร้อยละ 10 ใน Campylobacter-like organism อื่นๆ เช่น *H. heilmannii*, *C. jejuni* หรือ bacterial overgrowth จาก *Klebsiella spp.*, *Proteus spp.*¹³ ส่วนการตรวจทางพยาธิ

- มีผลบวกปลอมได้ใน *H. heilmannii* (พบเพียง 0.5%)¹³, *H. cinadei*, *H. fennelliae*, *Flexispira rappini*, *Gastrospirillum hominis* ซึ่งมีรูปร่างคล้ายกัน¹³
6. ให้การรักษาด้วยสูตรยา โอมิพราโซล + คลาโรไธรมัยซิน + เมโทรนิดาโซล นาน 1 สัปดาห์ แม้ว่าสูตรยา โอมิพราโซล + อะม็อกซิซิลลิน + เมโทรนิดาโซล น่าจะเหมาะกว่าในแง่ที่ไม่มีรายงานการดื้อต่ออะม็อกซิซิลลิน แต่ไม่เลือกใช้สูตรยาหลังนี้เพราะอาจเกิด non-compliance (ซึ่งพบว่าเป็นปัญหาในการรักษามากที่สุดถึงร้อยละ 20-30) เนื่องจากต้องให้ยานาน 2 สัปดาห์ (การให้ 1 สัปดาห์ยังไม่เป็นที่ยอมรับมากเท่ากับสูตรยาที่มีคลาโรไธรมัยซิน) และ พบว่ามีปัญหาท้องเสียจากอะม็อกซิซิลลิน สูงถึงร้อยละ 20
 7. วินิจฉัยว่ากำจัด *H. pylori* ได้ เมื่อ CLO test, การตรวจทางพยาธิ และการเพาะเชื้อ ได้ผลลบ เนื่องจาก CLO test มีผลลบปลอมร้อยละ 10 ถ้าได้ ยาปฏิชีวนะ หรือยาด้านบีมโปรตอน การตรวจทางพยาธิอาจพบ coccoid form ของ *H. pylori* หลังการรักษา ซึ่งทำให้เกิดผลลบปลอมได้ ส่วนการเพาะเชื้อ เนื่องจากความไวในการวินิจฉัยต่ำร้อยละ 60¹² จึงไม่อาจใช้เป็นตัววินิจฉัยการกำจัดเชื้อได้เพียงการทดสอบเดียว
 8. เลือกทำการส่องกล้องตรวจทางเดินอาหารส่วนบนซ้ำที่ 4 สัปดาห์หลังจากโอมิพราโซลหมด โดยระหว่างนี้ต้องไม่มียาปฏิชีวนะ, บิสมัท, ยาด้านบีมโปรตอน เนื่องจาก ยาดังกล่าวทำให้จำนวนเชื้อลดลงทำให้เกิดผลลบปลอมจากการทดสอบได้ และนอกจากนั้นยาด้านบีมโปรตอนยังทำให้ภาวะเป็นกรดในกระเพาะอาหารเปลี่ยนแปลงไป ทำให้ภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของ *H. pylori* ซึ่งทนภาวะกรดต่างได้ในช่วงแคบๆ เปลี่ยนจากที่ antrum ไปอยู่ที่ body หรือที่เรียกว่ามี migration (ซึ่งเป็น misnomer)
 9. เลือก MIC₉₀ ที่ 32 มก./ล. ด้วยวิธี Epsilonometer test เป็นจุดตัดในการวินิจฉัยว่ามีการดื้อต่อเมโทรนิดาโซล เนื่องจากสัมพันธ์กันกับ serum level หลังจากได้ standard dose ของเมโทรนิดาโซล³¹ มากกว่าค่านี้ถือว่ามี การดื้อต่อเมโทรนิดาโซล (ยังไม่มีวิธีทดสอบใดที่เป็นมาตรฐานในการบอกรับการดื้อยา และจุดตัดที่บอกรับการดื้อยาก็ไม่อาจดูได้จาก serum level แต่ควรดูที่ local gastric concentration โดยเฉพาะในชั้นเยื่อเมือก เพราะเป็นที่อยู่ของ *H. pylori* ซึ่งยากที่จะตรวจได้)

เกณฑ์การยุติการศึกษา

1. ครบเวลาตามกำหนด
2. เกิดภาวะแพ้ยา หรืออาเจียนมากจนมีผลได้รับยาไม่ครบตามขนาดที่กำหนด

ตารางการปฏิบัติงาน

เวลา	กิจกรรม
1 เมษายน 2540 - 31 ธันวาคม 2540	ดำเนินงาน
1-31 มกราคม 2541	รวบรวมข้อมูล
1-28 กุมภาพันธ์ 2541	วิเคราะห์ข้อมูล
1-31 มีนาคม 2541	รายงานผลการวิจัย

การวิเคราะห์และนำเสนอข้อมูล

1. วิเคราะห์ข้อมูลพื้นฐาน เช่น จำนวนผู้ป่วย, เพศ, อายุเฉลี่ย, ชนิดของแผลเปปติค , การสูบบุหรี่ โดยใช้ unpaired t-test เปรียบเทียบ อายุเฉลี่ย และใช้ Chi-square test เปรียบเทียบสัดส่วนของเพศ, สัดส่วนชนิดของแผลเปปติค, การสูบบุหรี่ ระหว่างกลุ่มที่ไวและกลุ่มที่ดื้อต่อเมโทรนิดาโซล จากนั้นนำเสนอด้วยตาราง

2. วิเคราะห์อัตราการกำจัดเชื้อ, อัตราการหายของแผลเปปติคว่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติหรือไม่ระหว่างสองกลุ่มดังกล่าวโดยใช้ Chi-square test และนำเสนอด้วยตาราง

ปัญหาทางจริยธรรม

ผู้ป่วยที่มีแผลในลำไส้เล็ก โอกาสเป็นมะเร็งน้อยมาก และแผลหายเกือบร้อยละ 100 จึงไม่จำเป็นต้องทำการส่องกล้องตรวจทางเดินอาหารส่วนบนซ้ำถ้าได้รับการรักษาครบ แต่ในการศึกษานี้จะต้องทำซ้ำเพื่อตรวจว่าสามารถกำจัด *H. pylori* ได้หรือไม่ อย่างไรก็ตาม ผู้ป่วยจะได้รับการบอกกล่าวถึงการศึกษานี้ และให้ลงนามยินยอมก่อนทำการศึกษาทุกราย

งบประมาณ

1. การส่งกล้องตรวจทางเดินอาหารส่วนบน	1,000 บาท x 80 x 2 = 160,000 บาท
2. CLO test ^R	200 บาท x 80 x 2 = 32,000 บาท
3. การตรวจทางพยาธิ	350 บาท x 80 x 2 = 56,000 บาท
4. การเพาะเชื้อดูความไวต่อเมโทรนิดาโซล	600 บาท x 80 x 2 = 96,000 บาท
	<u>รวม 344,000 บาท</u>

หมายเหตุ งบประมาณนี้ยังไม่รวมค่ายาในการรักษา