

บทที่ 5

อภิปรายและสรุปผล

ในงานวิจัยนี้ได้ทดสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์โดยพิจารณาจากความเที่ยง ความเป็นเส้นตรง และความแม่นยำ เกณฑ์การยอมรับความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์คือ ความเที่ยงควรมีร้อยละของสัมประสิทธิ์การแปรผันไม่เกินร้อยละ 15³⁸ (ทั้งความเที่ยงภายในวันเดียวกันและต่างวันกัน) ความเป็นเส้นตรงควรมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ไม่ต่ำกว่า 0.99³⁹ และความแม่นยำควรมีค่าร้อยละของการวิเคราะห์กลับคืน อยู่ระหว่าง 85 – 115³⁸

1. การทดสอบความถูกต้องของวิธี GC

วิธี GC ที่ใช้ในการวิเคราะห์ความเข้มข้นพาราเซตามอลในซีรัมที่ใช้ในการวิเคราะห์นี้ใช้ MS เป็น detector ซึ่งมีความไวสูง จาก chromatogram ที่แสดง TIC fullscan พีคของพาราเซตามอลและสารมาตรฐานภายใน (ในที่นี้ใช้ *p*-chloroacetanilide) ปรากฏที่ retention time 5.8 และ 5 นาที ตามลำดับ (รูปที่ 14 ภาคผนวก) mass spectrum ของพาราเซตามอลมี parent ion และ base peak ที่ *m/z* เท่ากับ 151 และ 109 ตามลำดับ ส่วนของ *p*-chloroacetanilide มี parent ion และ base peak ที่ *m/z* เท่ากับ 169 และ 127 ตามลำดับ (รูป ข และ ค ภาคผนวก)

เพื่อเพิ่มความจำเพาะเจาะจงในการวิเคราะห์ ได้ใช้ base peak ในการหาปริมาณ เนื่องจากมี intensity สูงสุด ด้วยเหตุที่ base peak ของสารทั้งสองมี *m/z* ต่างกัน จึงได้ chromatogram แยกจากกัน (รูป ก ภาคผนวก)

การวิเคราะห์ความเข้มข้นของพาราเซตามอลโดยวิธี GC มักมีปัญหาของการเกิดพีคไม่สมมาตร นักวิจัยส่วนใหญ่แก้ปัญหานี้โดยการเปลี่ยนแปลงเป็นสารอนุพันธ์^{3,4,6-9} แต่ในงานวิจัยนี้ไม่ได้ทำการเปลี่ยนแปลงเป็นสารอนุพันธ์ เนื่องจากได้ใช้ capillary column ซึ่งลดปัญหาที่เกิดจากพีคไม่สมมาตรและได้ใช้ base peak ในการหาปริมาณ ซึ่งช่วยลดสัญญาณรบกวนที่มีผลต่อการอินทิเกรต (integrate) พื้นที่ใต้พีค และจากการทดสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์พบว่าความเที่ยง (ร้อยละของสัมประสิทธิ์การแปรผันภายในวันเดียวกันมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 6.36 และร้อยละของสัมประสิทธิ์การแปรผันต่างวันกันมีค่าเท่ากับ 7.17) ความเป็นเส้นตรง (ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ เท่ากับ 0.995) และความแม่นยำ (ร้อยละของการวิเคราะห์กลับคืน เท่ากับ 98.54) อยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้

2. การทดสอบความถูกต้องของวิธีสเปกโทรโฟโตเมตรี

วิธีสเปกโทรโฟโตเมตรีที่ใช้ในการวิเคราะห์ความเข้มข้นพาราเซตามอลในซีรัมที่ใช้ในงานวิจัยนี้เป็นวิธีที่รายงานโดย Wilkinson, G.S. (1976)¹² และในปัจจุบันโรงพยาบาลส่วนใหญ่ได้นำวิธีนี้มาใช้ในงานตรวจวัดความเข้มข้นพาราเซตามอลในซีรัมผู้ป่วยที่ได้รับยาเกินขนาด จากการทดสอบความถูกต้องของวิธีพบว่าความเที่ยง (ร้อยละของสัมประสิทธิ์การแปรผันภายในวันเดียวกัน มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 2.620 ต่างวันกันมีค่าเท่ากับ 4.403) ความเป็นเส้นตรง (ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ เท่ากับ 0.999) และความแม่นยำ (ร้อยละของการวิเคราะห์ที่กลับคืน เท่ากับ 109.51) อยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้

3. การทดสอบความถูกต้องของวิธี FPIA

เครื่อง TDx ที่ใช้ในการวิเคราะห์ความเข้มข้นพาราเซตามอลในซีรัมที่ใช้ในการวิเคราะห์นี้ใช้หลักการของ FPIA จากการทดสอบความถูกต้องของวิธีพบว่า ความเที่ยง (ร้อยละของสัมประสิทธิ์การแปรผันภายในวันเดียวกันมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 2.897 ร้อยละของสัมประสิทธิ์การแปรผันต่างวันกันมีค่าเท่ากับ 1.63) และความแม่นยำ (ร้อยละของการวิเคราะห์ที่กลับคืน เท่ากับ 97.85) อยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้ ก่อนการทดสอบความถูกต้องของวิธีและก่อนการวิเคราะห์ความเข้มข้นของพาราเซตามอลในตัวอย่างซีรัม ได้ทำการตรวจสอบกราฟมาตรฐานพบว่าค่าความเข้มข้นที่วิเคราะห์ได้มีค่าอยู่ในช่วงพิสัยที่ยอมรับได้

4. ความเข้มข้นพาราเซตามอลในตัวอย่างซีรัมผู้ป่วยที่วิเคราะห์ด้วยวิธี GC สเปกโทรโฟโตเมตรี และ FPIA

จากการทดลองพบว่าค่าความสัมพันธ์ของพาราเซตามอลในตัวอย่างซีรัมผู้ป่วย 41 ราย ที่วิเคราะห์ด้วยวิธี GC ไม่แตกต่างกับค่าที่วิเคราะห์ด้วยวิธี FPIA แต่จะมีค่าน้อยกว่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับค่าที่ได้จากวิธีสเปกโทรโฟโตเมตรี ผลการทดลองนี้สอดคล้องกับหลักการของวิธีวิเคราะห์ กล่าวคือ วิธี GC และ FPIA เป็นวิธีที่วิเคราะห์พาราเซตามอลเฉพาะรูปอิสระเท่านั้น^{4,37} ส่วนวิธีสเปกโทรโฟโตเมตรีเป็นวิธีที่วิเคราะห์พาราเซตามอลทั้งในรูปอิสระและรูปคอนจูเกต¹² การรักษาผู้ป่วยที่ได้รับพาราเซตามอลเกินขนาดโดยทั่วไปแพทย์ผู้ทำการรักษาจะใช้ acetaminophen toxicity nomogram เป็นเกณฑ์ในการพิจารณา ซึ่ง nomogram จะแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของพาราเซตามอลในรูปอิสระที่วิเคราะห์โดยวิธี GC กับเวลา (เวลาตั้งแต่ผู้ป่วยได้รับพาราเซตามอลจนถึงเวลาเจาะเลือด) ดังนั้นผลการวิเคราะห์โดยวิธี FPIA จะให้ค่าความเข้มข้นของพาราเซตามอลที่ใกล้เคียงกับวิธี GC ในขณะที่ผลการวิเคราะห์โดยวิธีสเปกโทรโฟโตเมตรีจะให้ค่าความเข้มข้นที่สูงกว่าวิธี GC ถ้าใช้ผลการ

วิเคราะห์ด้วยวิธีสเปกโทรโฟโตเมตรีจะมีโอกาสที่จะวินิจฉัยเพื่อให้ยาแก้พิษจำเพาะแก่ผู้ป่วยสูงกว่าการใช้ผลการวิเคราะห์ด้วยวิธี FPIA

ในการตรวจวิเคราะห์ความเข้มข้นของพาราเซตามอลในซีรัมผู้ป่วยวิธี GC เป็นวิธีที่มีความไวและความจำเพาะเจาะจงสูง สามารถเลือกตรวจพาราเซตามอลทั้งในรูปอิสระและรูปคอนจูเกต^{3,4} ใช้ตัวอย่างซีรัมประมาณ 500 ไมโครลิตรต่อการวิเคราะห์ 1 ครั้ง วิธีนี้มีข้อเสียคือ เป็นวิธีที่ค่อนข้างยุ่งยาก ต้องผ่านขั้นตอนการสกัดแยก (isolation) จึงใช้เวลาวิเคราะห์นาน (ประมาณ 3 ชั่วโมง/ตัวอย่าง) ผู้วิเคราะห์ต้องมีความชำนาญสูง ส่วนเครื่องมือแม้จะมีราคาแพงแต่ค่าใช้จ่ายระหว่างการวิเคราะห์ก็ไม่สูงนัก

วิธี FPIA เป็นวิธีที่มีความไวและความจำเพาะเจาะจงสูง โดยวิเคราะห์เฉพาะพาราเซตามอลในรูปอิสระเท่านั้น ส่วนพาราเซตามอลในรูปคอนจูเกตไม่รบกวนการวิเคราะห์^{37,42} วิธีนี้เหมาะสำหรับการตรวจวิเคราะห์ในผู้ป่วยที่ได้รับพาราเซตามอลเกินขนาดที่ควรได้รับการรักษาโดยด่วนในโรงพยาบาล เพราะเป็นวิธีที่รวดเร็ว (ใช้เวลาประมาณ 20 นาที/ตัวอย่าง)³⁷ เนื่องจากไม่ต้องผ่านขั้นตอนการสกัดแยก ผู้วิเคราะห์ไม่ต้องมีความชำนาญสูงเท่าวิธี GC ใช้ตัวอย่างซีรัมปริมาณน้อย (ประมาณ 100 ไมโครลิตรต่อการวิเคราะห์ 1 ครั้ง) แต่วิธีนี้มีข้อเสียคือ นำยาสำเร็จรูปมีราคาแพง และมีอายุการใช้งานจำกัด

วิธีสเปกโทรโฟโตเมตรีเป็นวิธีที่มีความไวปานกลาง ใช้เวลาในการวิเคราะห์ไม่มากนัก (ประมาณ 1.5 ชั่วโมง) และเครื่องสเปกโทรโฟโตเมตรีที่ใช้ก็เป็นเครื่องมือที่ราคาไม่สูงนัก มีใช้อยู่ทั่วไปในห้องปฏิบัติการในโรงพยาบาล สารเคมีที่ใช้ในวิธีนี้มีราคาไม่แพง จึงเป็นวิธีวิเคราะห์ความเข้มข้นของพาราเซตามอลที่นิยมใช้อยู่ในห้องปฏิบัติการทางพิษวิทยาในโรงพยาบาลต่างๆ เป็นส่วนใหญ่ วิธีนี้ใช้ตัวอย่างซีรัมประมาณ 500 ไมโครลิตร/การวิเคราะห์ 1 ครั้ง วิธีนี้มีข้อเสียคือ ขาดความจำเพาะเจาะจง โดยที่พาราเซตามอลในรูปคอนจูเกตจะรบกวนการวิเคราะห์อันเนื่องมาจากขั้นตอนการวิเคราะห์ต้องผ่านการแยกสลายด้วยน้ำ ซึ่งพาราเซตามอลที่อยู่ในรูปคอนจูเกตจะถูกแยกสลายด้วยน้ำไปเป็น *p*-aminophenol ได้เช่นเดียวกับพาราเซตามอลรูปอิสระ เนื่องจากค่าที่ได้จากวิธีนี้เป็นความเข้มข้นของพาราเซตามอลในรูปอิสระรวมกับพาราเซตามอลรูปคอนจูเกต เมื่อนำค่าที่ได้จากวิธีนี้ไปเทียบกับ acetaminophen toxicity nomogram เพื่อพิจารณาใช้ NAC ทำให้โอกาสการพิจารณาการใช้ NAC สูงเกินความจำเป็น ทำให้สิ้นเปลืองค่าใช้จ่ายในการรักษารวมทั้งมีโอกาสได้รับผลข้างเคียงจาก NAC ได้ แต่ในทางปฏิบัติวิธีสเปกโทรโฟโตเมตรีเป็นวิธีที่ใช้กันอยู่ทั่วไปในโรงพยาบาล (โดยเฉพาะอย่างยิ่งในประเทศไทย) ทั้งนี้เพราะวิธีนี้เป็นวิธีที่มีค่าใช้จ่ายน้อย เครื่องมือราคาไม่แพง ใช้เวลาในการวิเคราะห์ไม่มาก

การทดลองนี้พบว่าระยะเวลานับตั้งแต่ผู้ป่วยได้รับพาราเซตามอลจนถึงเวลาเจาะเลือดไม่มีอิทธิพลต่อความสัมพันธ์ระหว่างวิธีวิเคราะห์และได้สมการถดถอยเชิงเส้นแสดงความสัมพันธ์ระหว่างผลการวิเคราะห์ด้วยวิธี GC (Y) กับสเปกโทรโฟโตเมตรี (X) คือ $Y = 0.785X - 5.86$ สมการถดถอยเชิงเส้นแสดงความสัมพันธ์ระหว่างผลการวิเคราะห์ด้วยวิธี GC (Y) กับ FPIA (X) คือ $Y = 1.116X - 5.58$ เมื่อทดสอบความเป็นไปได้ของการนำสมการถดถอยเชิงเส้นทั้งสองนี้มาประยุกต์ใช้ ในการหาความเข้มข้นของพาราเซตามอลด้วยวิธี GC จากความเข้มข้นของพาราเซตามอลที่วิเคราะห์ด้วยวิธี FPIA และสเปกโทรโฟโตเมตรี พบว่ามีแนวโน้มที่จะนำสมการถดถอยเชิงเส้นนี้มาประยุกต์ใช้ทางปฏิบัติ อย่างไรก็ตามการนำสมการถดถอยเชิงเส้นนี้ไปประยุกต์ใช้มีข้อจำกัดบางประการ เนื่องจากข้อมูลที่นำมาสร้างสมการนี้ได้จากข้อมูลผู้ป่วยเพียง 41 ราย ส่วนใหญ่เป็นเพศหญิง (37 ราย คิดเป็นร้อยละ 90.24) และมีอายุระหว่าง 14-26 ปี และระยะเวลานับตั้งแต่ผู้ป่วยได้รับพาราเซตามอลจนถึงเวลาเจาะเลือดส่วนใหญ่ไม่เกิน 12 ชั่วโมง อีกทั้งการทดสอบความเป็นไปได้ของสมการใช้ผู้ป่วยเพียง 7 ราย ควรทำการศึกษาเพิ่มเติมโดยให้มีข้อมูลผู้ป่วยที่ได้รับพาราเซตามอลในแต่ละเวลาเพิ่มขึ้น

จากข้อมูลเปรียบเทียบความเข้มข้นของพาราเซตามอลในซีรัมผู้ป่วยที่ตรวจวิเคราะห์โดยวิธีทั้งสามวิธี และข้อดี ข้อเสียของแต่ละวิธี จะเห็นได้ว่าวิธี FPIA และวิธีสเปกโทรโฟโตเมตรี เป็นวิธีที่เหมาะสมที่จะนำมาใช้ในทางปฏิบัติได้

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย