



บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

3.1 รูปแบบการวิจัย (research design)

เป็นการวิจัยผลการตอบสนองต่อการรักษาโดยเก็บข้อมูลไปข้างหน้า (prospective study)

3.2 ระเบียบวิธีการวิจัย (research methodology)

3.2.1 ประชากร (population) และตัวอย่าง (sample)

○ ประชากรเป้าหมาย (target population)

คือ ผู้ป่วยหญิงติดเชื้อที่กรวยไตซึ่งเกิดจากเชื้อ *E. coli*, *K. pneumoniae*, *K. oxytoca* หรือ *P. mirabilis* ทั้งที่สร้างและไม่สร้างเอ็นไซม์ ESBL ในโรงพยาบาลตติยภูมิ (tertiary care)

○ ประชากรตัวอย่าง (sample)

คือ ผู้ป่วยหญิงติดเชื้อที่กรวยไตแบบเฉียบพลันซึ่งเกิดจากเชื้อ *E. coli*, *K. pneumoniae*, *K. oxytoca* หรือ *P. mirabilis* ทั้งที่สร้างและไม่สร้างเอ็นไซม์ ESBL ซึ่งรับไว้ในหอผู้ป่วยอายุรกรรมของโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ โรงพยาบาลตากสิน และโรงพยาบาลชลบุรี ตั้งแต่เดือน 1 มกราคม พ.ศ. 2549 ถึง เดือน 1 มกราคม พ.ศ. 2550

3.2.2 เกณฑ์การคัดเลือกผู้ป่วยเข้าสู่การศึกษาวิจัย (inclusion criteria)

○ ผู้ป่วยหญิงอายุมากกว่าหรือเท่ากับ 15 ปี และ

○ ได้รับการวินิจฉัยเป็นโรคติดเชื้อที่กรวยไตแบบเฉียบพลันตามคำจำกัดความ และ

○ เพาะเชื้อจากปัสสาวะหรือในเลือดขึ้น *E. coli*, *K. pneumoniae*, *K. oxytoca* หรือ *P. mirabilis* และ

○ ไม่มีข้อห้ามใช้ยาปฏิชีวนะกลุ่มเซฟาโลสปอริน (cephalosporins) หรือ ยาเพนนิซิลลิน (penicillins)

3.2.3 เกณฑ์การคัดเลือกผู้ป่วยออกจากการศึกษาวิจัย (exclusion criteria)

○ ได้รับการวินิจฉัยเป็นโรคติดเชื้อทางเดินปัสสาวะภายใน 4 สัปดาห์

○ ได้รับการรักษาด้วยยาปฏิชีวนะเซฟาโลสปอริน (cephalosporins) ภายใน 72 ชั่วโมง

- ผู้ป่วยที่มีภาวะภูมิคุ้มกันบกพร่อง (immunocompromised host) เช่น ได้รับยาเคมีบำบัด ได้รับยาสเตียรอยด์ (steroid) และ โรคมะเร็ง
- มีความผิดปกติในหน้าที่ของระบบทางเดินปัสสาวะ (functional abnormalities of urinary tract) วินิจฉัยโดยอาศัยประวัติและอาการทางคลินิก
- มีความผิดปกติของลักษณะทางกายภาพ หรือมีการอุดตันของระบบทางเดินปัสสาวะ (physical or mechanical obstruction of urinary tract) วินิจฉัยโดยอาศัยประวัติและอาการทางคลินิก
- มีการคาสายสวนปัสสาวะ (retained Foley's catheter) หรือมีการใส่สาย stent
- ผู้ป่วยตั้งครรรภ์
- มีข้อห้ามใช้ยาปฏิชีวนะกลุ่มเพนิซิลลิน (penicillins) หรือยาปฏิชีวนะกลุ่มเซฟฟาโลสปอริน (cephalosporins)

3.2.4 เกณฑ์การถอนผู้ป่วยออกจากการศึกษา (withdrawal criteria)

เกณฑ์การถอนผู้ป่วยออกจากการศึกษา (withdrawal criteria)

- ไม่สามารถได้รับยาปฏิชีวนะ ceftriaxone ได้ครบ 72 ชั่วโมง เนื่องจาก แพ้ยา หรือ อาการแยลงจำเป็นต้องเปลี่ยนยาภายใน 72 ชั่วโมง

3.3 การให้คำนิยามเชิงปฏิบัติที่ใช้ในการวิจัย (operational definition)

3.3.1 การติดเชื้อที่กรวยไตแบบเฉียบพลัน หมายถึง ภาวะที่มีใช้ costovertebral angle (CVA) tenderness คลื่นไส้ อาเจียน ร่วมกับเพาะเชื้อปัสสาวะขึ้นเชื้อแบคทีเรีย $\geq 10^3$ cfu/ml (9)

3.3.2 ESBL หมายถึง เ็นไซม์ที่สามารถย่อยสลายเบต้าแลกตาซัน extended-spectrum ผลิตโดยเชื้อแบคทีเรียรูปแท่งกรัมลบ ซึ่งสามารถทราบได้โดยวิธีการทดสอบด้วย double-disc diffusion หรือ combination disc ตามวิธีมาตรฐานของ CLSI ของสหรัฐอเมริกา (10,11)

3.3.3 ภาวะไข้ หมายถึง ภาวะที่วัดอุณหภูมิร่างกายทางปากได้ ≥ 37.8 C ห่างกันอย่างน้อย 2 ครั้งห่างกันอย่างน้อย 12 ชั่วโมง (12)

3.3.4 การติดเชื้อที่กรวยไตแบบเฉียบพลัน (acute pyelonephritis) การวินิจฉัยประกอบด้วย (13)

- การวินิจฉัยทางคลินิก (clinical diagnosis)

ไข้ (body temperature ≥ 37.8 °C วัดทางปาก อย่างน้อย 2 ครั้งซึ่งวัดห่างกัน อย่างน้อย 12 ชั่วโมง) หรือ CVA tenderness หรือคลื่นไส้ อาเจียน หรือ อาการทาง systemic

- การวินิจฉัยทางจุลชีววิทยา (microbiological diagnosis)

พบเม็ดเลือดขาวในปัสสาวะ (pyuria)

Pyuria: wbc ≥ 10 cells/high power field, HPF (unspun) หรือ wbc ≥ 25 cells/HPF (spun)

พบเชื้อแบคทีเรียในปัสสาวะ (significant bacteriuria)

Bacteria ≥ 1 ตัว/HPF (unspun) หรือ bacteria ≥ 10 ตัว/HPF (spun) หรือ
Urine culture $\geq 10^3$ CFU/ml ในรายที่มีอาการ หรือมี pyuria หรือ
Urine culture $\geq 10^5$ CFU/ml 2 ครั้ง (แบคทีเรียตัวเดิม) ในรายที่ไม่มีอาการ

3.3.5 ESBL producing ตรวจยืนยันด้วยวิธีการ double disc โดยวางแผ่นยา AMX/Cla (20/10) มคก. เป็นศูนย์กลางของผิวหน้าของอาหารเลี้ยงเชื้อ แล้วจึงวางแผ่นยา ceftazidime (30 มคก.) และ cefotaxime (30 มคก.) ให้ห่างจากจุดศูนย์กลางของแผ่นยา AMX/Cla ประมาณ 20 mm หรือวิธีการ combination disc เปรียบเทียบ inhibition zone ของแผ่นยา cefotaxime (30 มคก.) กับ cefotaxime+clavulanate (30+10 มคก.) หรือ ceftazidime กับ ceftazidime+clavulanate (30+10 มคก.) ตามวิธีมาตรฐานของ CLSI ของสหรัฐอเมริกา (10)

3.3.6 การทดสอบความไวต่อยาต้านจุลชีพโดยใช้วิธี disc method ตามมาตรฐานของ CLSI(10)

3.3.7 Susceptible *K. pneumoniae* หรือ *E. coli* หรือ *P. mirabilis* หมายถึงเชื้อตอบสนองต่อยา ceftriaxone ตั้งแต่ระดับ intermediate และ susceptible จากการตรวจหาค่า MIC (minimal inhibitory concentration) ด้วยวิธี E test ตามมาตรฐาน ของ CLSI ของสหรัฐอเมริกา⁽¹⁰⁾ ดังนี้

Susceptible ค่า MIC ≤ 8 มคก./มล.

Intermediate ค่า MIC 16-32 มคก./มล.

Resistance ค่า MIC ≥ 64 มคก./มล.

3.3.8 ความรุนแรงของโรค แบ่งเป็น 3 ระดับคือ

- รุนแรงมาก มีสัญญาณชีพไม่คงที่ (severe vital signs unstable or sepsis)
- รุนแรงปานกลาง (moderate) พบอาการ 2 ข้อใน 4 ข้อ คือ อุณหภูมิร่างกายมากกว่า 39 องศาเซลเซียส ปวดบริเวณบั้นเอวอย่างรุนแรง ตรวจพบเม็ดเลือดขาวในเลือดมากกว่า 15,000 cells/mm³ หรือมีอาการคลื่นไส้อาเจียนมาก (fever > 39 °C, severe flank pain, nausea or vomiting, leukocytosis wbc>15,000 cells/mm³)
- รุนแรงน้อย (mild) ได้แก่ ภาวะที่ไม่พบอาการรุนแรงปานกลางหรือรุนแรงมาก (absence of criteria for moderate and severe)

3.3.9 การตอบสนองต่อการรักษาที่ 72 ชั่วโมง หมายถึง

การตอบสนองทางคลินิก (clinical outcome) ที่ 72 ชั่วโมง

- Good outcome หมายถึง ภาวะที่ไม่มีไข้หลังการรักษาที่ 72 ชั่วโมง
- Poor outcome หมายถึง ภาวะที่ยังมีไข้ หรือถึงแก่กรรมภายใน 24-72 ชั่วโมงหลังให้ยาปฏิชีวนะ ceftriaxone

การตอบสนองทางจุลชีววิทยา (microbiological outcome) ที่ 72 ชั่วโมง

- Good outcome หมายถึง เพาะเชื้อไม่ขึ้นจากปัสสาวะ (sterile urine) ภายหลังการรักษาที่ 72 ชั่วโมง
- Poor outcome หมายถึง เพาะเชื้อขึ้นจากปัสสาวะภายหลังการรักษาที่ 72 ชั่วโมง

3.3.10 การตอบสนองต่อการรักษาที่ 14 วัน หมายถึง

การตอบสนองทางคลินิก (clinical outcome) ที่ 14 วัน

- good outcome หมายถึงภาวะที่ไม่มีไข้หลังการรักษาที่ 14 วัน
- Poor outcome หมายถึงภาวะที่ยังมีไข้หรือถึงแก่กรรมภายหลังให้การรักษาที่ 14 วัน

การตอบสนองทางจุลชีววิทยา (microbiological outcome) ที่ 14 วัน

- Good outcome หมายถึง เพาะเชื้อไม่ขึ้นจากปัสสาวะ (sterile urine) หลังให้การรักษาที่ 14 วัน
- Poor outcome หมายถึง เพาะเชื้อขึ้นจากปัสสาวะ หลังให้การรักษาที่ 14 วัน

3.4 การคำนวณขนาดตัวอย่าง

ขนาดตัวอย่างคำนวณจากสูตร

$$N/\text{group} = 2(Z_{\alpha/2} + Z_{\beta})^2 PQ / (P_t - P_c)^2$$

$$P = (P_t + P_c)/2, \quad Q = 1 - P$$

กำหนดให้ $\alpha = 0.05$ $\beta = 0.20$

$$Z_{\alpha/2} = 1.96 \quad Z_{\beta} = 0.84$$

$$P_c = 0.75, \quad P_t = 1.0$$

(จากเอกสารอ้างอิงของ กมลวรรณ และคณะ (11))

เนื่องจากความชุกของเชื้อ *E. coli* และ *K. pneumoniae* ที่สร้างเอ็นไซม์ ESBLพบประมาณ 30% และการส่งเพาะเชื้อจากปัสสาวะหรือเลือดให้ผลเพาะเชื้อขึ้นประมาณ 60%

$$\text{ESBL-producing arm} = 28 \times 100 \times 100 / 60 \times 30 = 155.55$$

$$\text{ESBL-nonproducing arm} = 28 \times 100 \times 100 / 60 \times 70 = 66.66$$

ในการศึกษาต้องใช้ผู้ป่วยทั้งหมดประมาณ 222.21 คน เพื่อให้ได้ประชากรกลุ่มละประมาณ 28 คน

3.5 การดำเนินการวิจัย

ผู้ป่วยที่ผ่าน inclusion และ exclusion criteria จะได้รับการชี้แจงวัตถุประสงค์ ขั้นตอนการทำวิจัย ประโยชน์ที่จะได้รับ และเซ็นใบยินยอมเข้าร่วมการศึกษาวิจัย

- ชักประวัติ ตรวจร่างกาย และบันทึกข้อมูลพื้นฐานต่าง ๆ ลงในแบบบันทึกข้อมูล (CRF)
- ผู้ป่วยทุกรายได้รับการตรวจ UA, urine Gram stain, urine culture และเจาะเลือดส่งตรวจ CBC, BUN, Cr และ bloodculture
- ผลการตรวจทางห้องปฏิบัติการต่าง ๆ บันทึกลงในแบบบันทึกข้อมูล (case record form:CRF)
- ผู้ป่วยทุกรายได้รับการรักษาด้วยยาปฏิชีวนะ ceftriaxone ขนาด 2 แกรมต่อวัน เป็นเวลาอย่างน้อย 72 ชั่วโมง
- บันทึกอาการ อาการแสดง และผลการตรวจทางห้องปฏิบัติการอื่น ๆ ทุกวันลงในแบบบันทึกข้อมูลตามแบบบันทึกที่แนบท้ายบท ในช่วงระยะเวลา 3 วันแรกหลังได้รับการรักษา
- บันทึกการตอบสนองต่อการรักษาด้วย ceftriaxone ที่ 72 ชั่วโมงด้วยการวัดอุณหภูมิร่างกายโดยถือว่าไม่มีไข้เมื่อ $\text{body temperature} \leq 37.8^{\circ}\text{C}$ วัดทางปาก อย่างน้อย 2 ครั้งซึ่งวัดห่างกันอย่างน้อย 12 ชั่วโมง
- ตรวจสอบและบันทึกผลเพาะเชื้อจากปัสสาวะและเลือด
- คัดเลือกผู้ป่วยเฉพาะรายที่ผลเพาะเชื้อขึ้น *E. coli*, *K. pneumoniae*, *K. oxytoca* หรือ *P. mirabilis* เพื่อทำการศึกษาวินิจฉัยโดยแบ่งเป็น 2 กลุ่มตามการสร้างเอ็นไซม์ ESBL ศึกษาวิจัยจนครบจำนวนผู้ป่วยตามที่คำนวณไว้
- ทำการตรวจปัสสาวะ CBC, urine Gram stain และเพาะเชื้อจากปัสสาวะซ้ำอีกครั้งในวันที่ 3 หลังการรักษา
- ในรายที่ไม่มีไข้และตอบสนองต่อการรักษาให้เปลี่ยนยาปฏิชีวนะชนิดรับประทานจนครบ 14 วัน
- ในกรณีที่ผู้ป่วยมีอาการทรุดลงหรือไม่ตอบสนองต่อการรักษาให้เปลี่ยนแปลงการรักษาตาม guidelines ของโรงพยาบาล หรือความเห็นชอบของแพทย์เจ้าของไข้

3.6 การรวบรวมข้อมูล (data collection)

ผู้ทำการวิจัยเป็นผู้เก็บรวบรวมข้อมูล บันทึกข้อมูลประวัติ การตรวจร่างกาย และผลตรวจทางห้องปฏิบัติการต่างๆ รวมทั้งติดตามผลการรักษาจากประวัติผู้ป่วยนอกและเวชระเบียน ทำการบันทึกข้อมูลลงในแบบบันทึกข้อมูล เพื่อนำมาวิเคราะห์ข้อมูลต่อไป

3.7 การวิเคราะห์ข้อมูล (data analysis)

วิเคราะห์ข้อมูลด้วยโปรแกรม SPSS version 12

1. ข้อมูลทั่วไปของผู้ป่วย เช่น อายุ ระยะเวลาของไข้ โรคประจำตัว อาการและอาการแสดง ผลการตรวจทางห้องปฏิบัติการต่างๆ และผลการรักษา นำมาวิเคราะห์ข้อมูลด้วยสถิติ frequency หรือ percentage ในกรณีที่เป็นข้อมูลเชิงคุณภาพ (qualitative data) และสรุปข้อมูลเป็นค่าเฉลี่ย (mean) ค่ามัธยฐาน (median) พิสัย (range) ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (standard deviation) ในกรณีที่เป็นข้อมูลเชิงปริมาณ (quantitative data)
2. การนำเสนอข้อมูลเป็นตารางแสดงผลต่างๆ
3. เปรียบเทียบผลการรักษาหลังให้ยาปฏิชีวนะ ceftriaxone ระหว่างกลุ่มที่สร้างและไม่สร้างเอ็นไซม์ ESBL ใช้วิธี Chi-square test หรือ Fisher's Exact test
4. ปัจจัยเสี่ยงที่มีผลต่อการไม่ตอบสนองต่อการรักษาการติดเชื้อที่กรวยไตแบบเฉียบพลันซึ่งเกิดจากเชื้อ *E. coli* , *K. pneumoniae*, *K. oxytoca* หรือ *P. mirabilis* ที่สร้างเอ็นไซม์ ESBL วิเคราะห์ข้อมูลด้วย relative risk และ multivariate analysis
5. การทดสอบทางสถิติของข้อมูลอื่นๆเพื่อเปรียบเทียบระหว่างกลุ่มที่เกิดจากเชื้อ *E. coli* , *K. pneumoniae*, *K. oxytoca* หรือ *P. mirabilis* ที่สร้างและไม่สร้างเอ็นไซม์ ESBL จะใช้ Chi-Square หรือ Fisher's Exact test ในกรณีที่ข้อมูลเป็นร้อยละ และใช้ Mann Whitney U test หรือ Student t-test ในกรณีที่ข้อมูลเป็นค่าเฉลี่ย