

ภาคผนวก ก

ใบสมัครใจเข้าร่วมโครงการ

โครงการวิจัยเรื่อง อัตราส่วนความเข้มข้นของยาในเลือดสูงสุดจากการให้ยาแต่ละครั้ง (Cpeak) ต่อความเข้มข้นต่ำสุดของยาด้านจุลชีพที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียในหลอดทดลองจนไม่สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่า (MIC) จากการให้ยาอะมิโนกลัยโคไซด์ แบบวันละครั้งในผู้ป่วยที่มีการติดเชื้อแบคทีเรียแกรมลบในโรงพยาบาลมหาราช นครศรีธรรมราช

วันที่สมัครใจเข้าร่วมโครงการ วันที่.....เดือน.....พ.ศ.....

ข้าพเจ้า นาย/นาง/นางสาว.....นามสกุล.....อาชีพ.....

ที่อยู่ บ้านเลขที่.....แขวง/ตำบล.....เขต/อำเภอ.....จังหวัด.....

ขอลงนามในใบสมัครใจเข้าร่วมโครงการนี้ โดยก่อนที่จะลงนามในใบสมัครใจให้ทำการวิจัยนี้ ข้าพเจ้าได้อ่านเอกสารใบเชิญชวนเข้าร่วมโครงการและผู้วิจัยได้อธิบายถึง วัตถุประสงค์ของการวิจัย วิธีการวิจัย และประโยชน์ที่จะเกิดขึ้นจากการวิจัยตามเอกสารใบเชิญชวน ข้าพเจ้ามีความเข้าใจดีแล้วและได้มีโอกาสซักถามผู้วิจัยจนเป็นที่พอใจ เมื่อข้าพเจ้าตัดสินใจเข้าร่วมโครงการนี้ข้าพเจ้าจะถูกเจาะเลือด 1 ครั้ง ประมาณครึ่งถึงหนึ่งซอนชาในวันที่สามของการได้รับยาอะมิโนกลัยโคไซด์ (เจนตามัยซิน หรือ อะมิคาซิน) เพื่อนำมาหาค่าความเข้มข้นของยาในเลือดสูงสุด (Cpeak) และส่งตรวจที่ข้าพเจ้าได้ส่งให้กับทางห้องปฏิบัติการโรงพยาบาลมหาราชนครศรีธรรมราชเพื่อตรวจหาเชื้อแบคทีเรีย เช่น เลือด, เสมหะ, ปัสสาวะ เป็นต้น ก็จะถูกแยกเชื้อเพื่อนำมาหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของยาด้านจุลชีพที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียในหลอดทดลองจนไม่สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่า (MIC) จากนั้นผู้วิจัยก็จะทำการติดตามผลการรักษาของข้าพเจ้าจากเวชระเบียนขณะที่ข้าพเจ้าพักรักษาตัวในโรงพยาบาล โดยจะทำการเก็บข้อมูลในส่วนที่เกี่ยวข้องทั่วไป เช่น อุณหภูมิร่างกาย, ความดันโลหิต, อัตราการหายใจ, ผลการตรวจทางห้องปฏิบัติการ, ยาด้านจุลชีพที่ข้าพเจ้าได้รับขณะนอนโรงพยาบาล และผลการรักษาที่เกิดขึ้น เป็นต้น และผู้วิจัยได้ตอบคำถามต่าง ๆ ที่ข้าพเจ้าสงสัยด้วยความเต็มใจ ไม่ปิดบังซ่อนเร้นจนข้าพเจ้าพอใจ

ข้าพเจ้าจึงสมัครใจเข้าร่วมโครงการวิจัยนี้ และผู้วิจัยได้แจ้งให้ข้าพเจ้าทราบว่าข้าพเจ้ามีสิทธิ์บอกเลิกการเข้าร่วมในโครงการวิจัยนี้เมื่อใดก็ได้ โดยการบอกเลิกการเข้าร่วมวิจัยนี้จะไม่ผลต่อการรักษาโรคที่ข้าพเจ้าจะได้รับต่อไป ผู้วิจัยรับรองว่าจะเก็บข้อมูลเฉพาะเกี่ยวกับตัวข้าพเจ้าเป็นความลับ และจะเปิดเผยได้เฉพาะในรูปที่เป็นสรุปผลการวิจัย

ข้าพเจ้าสมัครใจเข้าร่วมโครงการวิจัยนี้และผู้วิจัยได้มอบเอกสารใบเชิญชวนและสำเนาใบสมัครใจเข้าร่วมโครงการให้แก่ข้าพเจ้าไว้แล้วอย่างละ 1 ฉบับ

ลงนาม(ผู้สมัครใจ)

()

ลงนาม(ผู้รับผิดชอบในการวิจัย)

()

ลงนาม(พยาน)

()

ขอเชิญเข้าร่วมโครงการวิจัย

ชื่อโครงการ

อัตราส่วนความเข้มข้นของยาในเลือดสูงสุดจากการให้ยาแต่ละครั้ง (Cpeak) ต่อความเข้มข้นต่ำสุดของยาด้านจุลชีพที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียในหลอดทดลองจนไม่สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่า (MIC) จากการให้ยาอะมิโนกลัยโคไซด์แบบวันละครั้งในผู้ป่วยที่มีการติดเชื้อแบคทีเรียแกรมลบในโรงพยาบาลมหาสารนครศรีธรรมราช (Cpeak/MIC ratio of once daily Aminoglycosides in patient with systemic gram-negative infection in Maharaj Nakornsrihammaraj Hospital)

เรียนท่านผู้อ่านที่นับถือ

พวกเราคณะผู้วิจัยใคร่ขอเล่าถึงโครงการที่กำลังทำอยู่ และขอเชิญท่านเข้าร่วมโครงการดังกล่าวด้วยรายละเอียดดังนี้

เนื่องจากผู้ป่วยที่มีการติดเชื้อในร่างกายจะต้องได้รับยาฆ่าเชื้อในการรักษา โดยเฉพาะยาเจนตามัยซิน (gentamicin) หรือ อะมิคาซิน (amikacin) ซึ่งจัดว่าเป็นยาฆ่าเชื้อในกลุ่มอะมิโนกลัยโคไซด์ที่สามารถใช้ในการรักษาผู้ป่วยที่มีการติดเชื้อได้ และจากการศึกษาในอดีตพบว่าค่าอัตราส่วนความเข้มข้นของยาในเลือดสูงสุดจากการให้ยาแต่ละครั้ง (Cpeak) ต่อความเข้มข้นต่ำสุดของยาด้านจุลชีพที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียในหลอดทดลองจนไม่สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่า (MIC) มีความสัมพันธ์กับการตอบสนองต่อการรักษาอย่างมาก โดยพบว่าผลการรักษาจะดีถ้าค่าอัตราส่วนดังกล่าวมีค่ามากกว่าหรือเท่ากับ 10 ด้วยเหตุนี้คณะผู้วิจัยซึ่งประกอบด้วยแพทย์และเภสัชกร ได้ร่วมมือกันเพื่อหาค่าอัตราส่วนดังกล่าวจากผู้ป่วยที่ได้รับยาเจนตามัยซินหรืออะมิคาซินเพื่อนำมาประเมินดูความสัมพันธ์ของขนาดยาที่ผู้ป่วยได้รับกับผลการรักษาที่เกิดขึ้น การศึกษานี้จำเป็นต้องมีผู้ป่วยที่ได้รับยาเจนตามัยซิน หรืออะมิคาซินจำนวนหนึ่งเข้าร่วมโครงการ พวกเราคณะผู้วิจัยจึงใคร่ขอเชิญท่านเข้าร่วมในโครงการนี้

ถ้าท่านตัดสินใจเข้าร่วมโครงการนี้ท่านจะต้องได้รับการถูกเจาะเลือด 1 ครั้ง ประมาณครึ่งถึงหนึ่ง ชั่วโมง อย่างน้อยในวันที่สามของการได้รับยาเจนตามัยซินหรืออะมิคาซิน เพื่อนำมาหาค่าความเข้มข้นของยาในเลือดสูงสุด (Cpeak) และส่งตรวจที่ท่านได้ส่งให้กับทางห้องปฏิบัติการโรงพยาบาลมหาสารนครศรีธรรมราชเพื่อตรวจหาเชื้อแบคทีเรีย เช่น เลือด, เสมหะ, ปัสสาวะ เป็นต้น ก็จะถูกแยกเชื้อเพื่อนำมาหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของยาฆ่าเชื้อที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียในหลอดทดลองจนไม่สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่า (MIC) จากนั้นผู้วิจัยก็จะทำการติดตามผลการรักษาของท่านจากเวชระเบียนขณะที่ท่านพักรักษาตัวอยู่ในโรงพยาบาล โดยจะทำการเก็บข้อมูลในส่วนที่เกี่ยวข้อง

ทั่วไป เช่น คุณหมอร่างกาย, ความดันโลหิต, อัตราการหายใจ, ผลการตรวจทางห้องปฏิบัติการ, ยาฆ่าเชื้อที่ท่านได้รับขณะนอนโรงพยาบาล และผลการรักษาที่เกิดขึ้น เป็นต้น

ไม่ว่าท่านจะเข้าร่วมในโครงการหรือไม่ก็ตามท่านก็จะได้รับการปฏิบัติดูแลรักษาที่ดีเช่นเดียวกับผู้ป่วยอื่น ๆ ตามมาตรฐานของโรงพยาบาลมหาราชานครศรีธรรมราชและหากท่านต้องการบอกเลิกการเข้าร่วมการศึกษานี้เมื่อใดท่านก็สามารถกระทำได้อย่างอิสระและจะไม่มีผลต่อการรักษาโรคที่ท่านจะได้รับต่อไป คณะผู้วิจัยขอรับรองว่าจะเก็บข้อมูลท่านเฉพาะที่เกี่ยวข้องกับการวิจัยอย่างเป็นทางการลับและจะเปิดเผยเฉพาะในรูปที่เป็นผลสรุปการวิจัยเท่านั้น

ถ้าท่านมีคำถามใด ๆ ก่อนที่จะตัดสินใจเข้าร่วมในโครงการนี้ โปรดซักถามผู้วิจัยได้อย่างเต็มที่ โดยติดต่อ ภ.ก เกียรติศักดิ์ ณัฐธนพงศ์ โทร 09-7332219 ได้ทุกวันในวันและเวลาราชการ

ขอขอบคุณอย่างสูง

ภาคผนวก ข

แบบฟอร์มการเจาะเลือดผู้ป่วยที่ได้รับยา gentamicin หรือ amikacin

ชื่อผู้ป่วย.....H.N Ward.....

เพศ.....อายุ.....น้ำหนัก.....kgs

ชนิดของยา aminoglycosides ที่ได้รับ.....

ผลการตรวจวินิจฉัย (Diagnosis)

ตัวอย่างที่ส่งตรวจ.....() เลือด 3 – 5 ml

วันที่เก็บ..... เวลา

เวลาที่เข้ายาค้างสุดท้าย.....น.

ขนาดที่เข้ายาค้างสุดท้ายมก. ช่วงห่างของการให้ยา ทุก..... ชม

วิธีให้ยา iv infusion (30 นาที หรือ 1 ชม) เริ่มน. ถึง น.

..... พยาบาลผู้เจาะเลือด

ภาคผนวก ค

Fluorescence Polarization Immunoassay (FPIA)

เป็นการวัดระนาบแสง เหมาะกับโมเลกุลเล็กเพราะธรรมชาติสารจะมีการเคลื่อนไหวตลอดเวลา ทำให้ไม่สามารถวัดระนาบแสงได้ ถ้าหาแอนติบอดีมาจับสารนั้นให้เกิดเป็น Ag-Ab Complex เพื่อให้โมเลกุลมีขนาดใหญ่ขึ้น เคลื่อนไหวไม่สะดวกทำให้สามารถวัดระนาบแสงได้ง่ายขึ้น ร่วมกับปฏิกิริยาแย่งจับ (competitive binding) กันระหว่างสารในสิ่งส่งตรวจและสารที่ติดสารเรืองแสง (fluorescence) ถ้าในสิ่งส่งตรวจมีสารที่จะตรวจมากจะทำให้มี polarization น้อย ในทางกลับกันถ้าในสิ่งส่งตรวจมีสารที่จะตรวจน้อยจะทำให้มี polarization มาก

ภาคผนวก ง

E- Test Method

E-test เป็นการทดสอบความไวของเชื้อ (MIC) วิธีใหม่ซึ่งถือว่าเป็นวิธีการที่ไวและได้มาตรฐานมีหลักการคล้ายกับการทำ disk diffusion คือมีการ inoculum เชื้อลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง (agar plate) แล้ววาง strip (แท่ง) E-test ของยาแต่ละตัวลงบน agar plate นั้น แทน disk ยา

E-test strips ลักษณะเป็นแท่งพลาสติกบาง ๆ (non-porous plastic strip) ซึ่งถูก calibrated ไว้ด้วยยาปฏิชีวนะที่มีความเข้มข้นต่าง ๆ ประมาณ 15 two-fold dilution ขึ้นกับชนิดของยาและเก็บรักษา E-test strips ไว้ใน storage tube ที่บรรจุสารกันชื้นแล้ววางไว้ที่อุณหภูมิ -20° ซ. หรือช่องแช่แข็งตู้เย็นธรรมดา

วัสดุที่ต้องใช้

1. อาหารเหลว (broth) หรือ 0.85 % saline สำหรับการเตรียมเชื้อที่จะทดสอบ (inoculum)
2. ไม้พันสำลี (sterile swabs) เบอร์ M
3. คีม (forceps) สำหรับหยิบ strip ออกจากห่อ
4. McFarland standard No. 0.5
1. E-test strips template, E-test technical and Reading Guide
2. NCCLS standards and guideline
3. จานเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ (ใช้ plate ขนาด 90 หรือ 150 มม.) แล้วแต่ความจำเป็น ถ้าวางยา 3 ตัวขึ้นไป ควรใช้ขนาด 150 มม. เทอาหารแข็ง (media) ให้มีความลึก 4 + 0.5 มม.
4. ชนิดของอาหารเลี้ยงเชื้อ (media) ใช้ Mueller Hinton Agar เนื่องจากมีความเหมาะสมกับเชื้อแบคทีเรียแกรมลบชนิด non-fastidious

วิธีทำ

1. นำ E-test strip ออกจากตู้เย็นมาวางไว้ที่อุณหภูมิห้อง ประมาณ 30 นาที
2. เตรียม inoculum โดยใช้เชื้อที่ subculture ใหม่ ๆ (ถ้าใช้เชื้อที่ stock โดยแช่แข็ง ให้ทำการ subculture 2 ครั้ง จึงนำมาใช้ได้) เชื้อเชื้อ 2-3 โคโลนี ใส่ใน broth หรือ 0.85 % saline เขย่าให้เข้ากันดีก่อน แล้วเทียบความขุ่นกับ McFarland No. 0.5 (for aerobes)
3. ใช้ไม้พันสำลีจุ่มใน inoculum ก่อนยกขึ้นมาให้กดข้างหลอดทดลอง เพื่อไม่ให้ชุ่มเกินไปแล้วทำการ streak บนผิว agar ใน 3 ทิศทาง
4. วาง plate ไว้ 10 นาที เพื่อให้ inoculum ซึมเข้าลงสู่ agar และไม่เป็ยกเกินไปที่จะวาง strip
5. นำไปเข้าตู้ บ่มเพาะเชื้อ (35–37 °C), 20–24 ชั่วโมง

การอ่านผล ให้ดูบริเวณที่วงรีของ Zone (Symmetrically zone) มาพบกับแท่งยาปฏิชีวนะ

การควบคุมคุณภาพ (Quality control, QC)

1. QC strains เชื้อที่ใช้ตาม NCCLS สำหรับ aerobic bacteria เช่น

- <i>E. coli</i> ATCC 25922	- <i>S. aureus</i> ATCC 29213
- <i>E. coli</i> ATCC 35218	- <i>S. pneumoniae</i> ATCC 49619
- <i>Ps. aeruginosa</i> ATCC 27853	

โดยในการศึกษาครั้งนี้ใช้ QC strains เป็น *E. coli* ATCC 25922 และ *Ps. aeruginosa* ATCC 27853

2. การ test QC strains ต้องทำทุกครั้ง ควบคุมกับเชื้อที่เราทดสอบ
3. เลือก QC strains ให้เหมาะสมกับเชื้อที่เราทดสอบ
4. ผล MIC ของ QC stains ต้องอยู่ภายในช่วงที่กำหนด ถ้าผล MIC ของ QC strain ไม่ได้ในช่วงที่กำหนด (out-of-control result) ให้กลับมาเช็ค test materials และ reference strains ใหม่ ถ้าเป็นไปได้ให้ทำ testing daily และ testing weekly

Testing daily : ยินยอมให้ 1 ใน 20 ค่าของ MIC ที่จะเกิด out-of-control (95% confidence limits)

Testing weekly : MIC ทุกค่าที่ได้ต้องอยู่ในช่วงที่กำหนด

ตารางที่ 30 ค่ายอมรับได้สำหรับควบคุมคุณภาพของ Quality Control Strains เพื่อใช้ควบคุมความถูกต้องของ Minimal Inhibitory Concentration (MICs) (mg/L) ของ non fastidious organism (ใช้ Mueller – Hinton Medium ที่ไม่เติมเลือดหรือสารอื่น)

ชนิดของยาต้านจุลชีพ	<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853
Amikacin	0.5 – 4	1 – 4
Gentamicin	0.25 - 1	0.5 – 2

ภาคผนวก จ

Data Collection Form

Admit Date:	Patient died: Y / N
Discharge Date:	Date of death: ผู้ป่วย/ญาติไม่สมัครใจอยู่หรือไม่ Y / N
Admit ICU Date:	Discharge from ICU date
Age: Sex: 1 = Male 2 = Female Wt Ht	<u>Ward of Admission (circle):</u> 1= Medical Unit 3 = Surgical Unit 2= ICU 4 = Other.....
<u>Co-morbidities (circle)</u> 1=Diabetes 9=CAD 2=Asthma/COPD 10=PVD 3=HIV Infection 11=IVDA 4=ESRD/CRI 12=EtOH 5=Hepatitis/Cirrhosis 13=tobacco 6=Malignancy 14=radiation 7=Neutropenia 15=IV cath 8=HTN 16=foley 17=Prior ICU	
Location PTA (circle): 1 =home 2 =transfer from hospital 3 =other:	

Prior Antibiotic Use

ผู้ป่วยได้รับยาต้านจุลชีพมาก่อนหรือไม่

1 = Y

2 = N

	Prior to admission (PTA)	Total # days of tx PTA
1=PCNs	1=Y 2=N	
2=1 st gen. ceph.	1=Y 2=N	
3=2 nd gen. ceph	1=Y 2=N	
4=3 rd gen. ceph	1=Y 2=N	
5=4 th gen ceph.	1=Y 2=N	
6=Quinolone	1=Y 2=N	
7=Aminoglys.	1=Y 2=N	
8=Carbapenem	1=Y 2=N	
9=Monobactam	1=Y 2=N	

Presumed or known site of infection

Source (circle all that apply)

- | | |
|--|------------------------------------|
| 1. Blood (primary bacteremia or unknown) | 2. Intra-abdominal (biliary tract) |
| 3. Intraabdominal (intestinal tract) | 4. Indwelling vascular catheter |
| 5. Pleural (pneumonia/respiratory tract) | 6. CNS |
| 7. Urinary tract | 8. Pelvis |
| 9. Peritoneum | 10. Surgical Wound |
| 11. Trauma wound | 12. Decubitus ulcer |
| 13. Diabetic ulcer | 14. Other: |

Antibiotic Treatment

Start Date	Specific Antibiotic (drug, dose, route, schedule)	Stop date	Tx cont'd as outpatient
			1=Y 2=N
			1=Y 2=N
			1=Y 2=N
			1=Y 2=N
			1=Y 2=N

8								
9								
10								
11								
12								
13								

Site*

1=blood (percutaneous stick); 2=abscess; 3=wound fluid (aspirate); 4=skin (wound swab);

5=indwelling vascular catheter; 6=catheter tip; 7=urine; 8=rectum; 9=sputum;

10=valve; 11=other

ภาคผนวก ซ
Conclusion Data Form

<p>Baseline Data</p> <p>No. of patientAge Wt. Sex.....Ward of admission.....Admit Date</p> <p>Discharge DateSAPS II Score..... Scr (baseline) CrCl(ml/min)</p> <p>Temp..... WBC Type of AMG (Amikacin/Gentamicin)</p>	
<p>Date of start AMG Date of stop AMG</p> <p>Dose of AMG use (mg) Interval..... (hr)</p> <p>Indication of AMG therapy</p> <p>Organism Site Co-morbidities.....</p> <p>Other antimicrobial concurrent with AMG</p> <p>.....</p>	
<p>Final Clinical outcome Date of assessment.....</p> <p>Days to temperature normalization</p> <p>Days to WBC count normalization</p> <p>Comment :</p> <p>.....</p> <p>Bacteriological outcomeDate of assessment</p> <p>Comment</p> <p>.....</p> <p>Nephrotoxicity(Y/N) Other drug can cause of nephrotoxicity</p> <p>.....</p> <p>Comment</p>	
<p>Cpeak of patient (mg/L) MIC (mg/L)</p> <p>Cpeak/MIC ratio</p> <p>Patient group (1 = Cpeak/MIC \geq 10 , 2 = Cpeak/MIC < 10)</p>	

ภาคผนวก ฅ

สูตรในการคำนวณ creatinine clearance (CrCl) ของ Cockcroft and Gault

Creatinine clearance (ml/min) = $(140 - \text{Age}) \times \text{IBW (kg)} \div \text{serum creatinine} \times 72$
(multiply results by 0.85 for female patients)

IBW for male patients = $50 \text{ kg} + 2.3 \text{ kg (height in inches} - 60 \text{ inches)}$

IBW for female patients = $45 \text{ kg} + 2.3 \text{ kg (height in inches} - 60 \text{ inches)}$