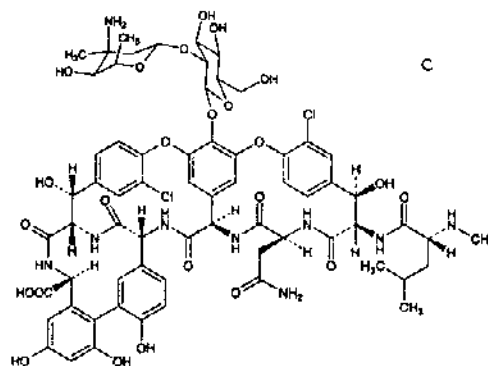
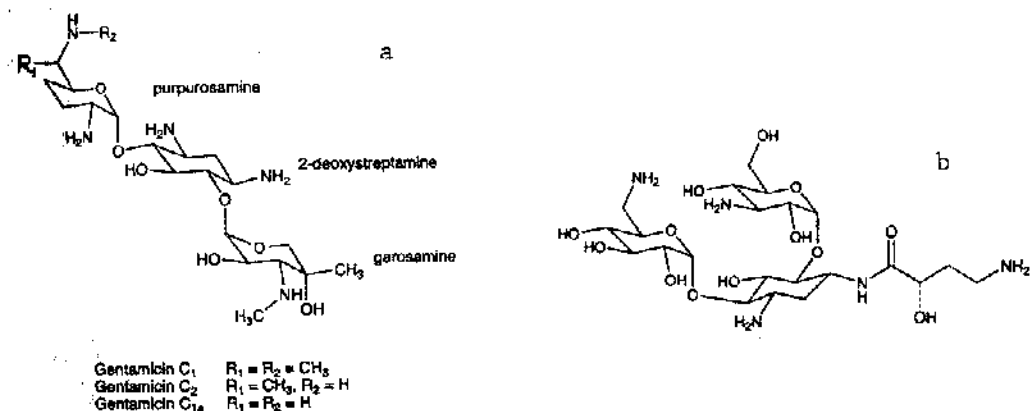


รายงานการวิจัย

เรื่อง ศึกษาการ inactivate ยาในกลุ่ม aminoglycosides โดยยาในกลุ่ม penicillins และ cephalosporins

บทนำ

Gentamicin และ Amikacin เป็นยาปฏิชีวนะในกลุ่ม aminoglycosides มีสูตรเคมีดังแสดงในรูปที่ 1 a และ b¹ ตามลำดับ



รูปที่ 1a Gentamicin, b Amikacin, c Vancomycin

gentamicin เป็น broad spectrum ใช้รักษาโรคติดเชื้อได้ดีทั้งที่เป็นแกรมบวกและแกรมลบ โดยเฉพาะ *Pseudomonas aeruginosa*² amikacin ใช้ได้ผลดีในโรคติดเชื้อพวกแกรมลบโดยเฉพาะสายพันธุ์ที่ดื้อต่อยา aminoglycosides ชนิดอื่น³ amikacin จะถูกเลือกให้แทน gentamicin เป็นอันดับแรกกรณีเชื้อดื้อยา⁴ ส่วน vancomycin เป็นยาปฏิชีวนะชนิด glycopeptide มีสูตรเคมีดังแสดงในรูปที่ 1 c¹ มีฤทธิ์ฆ่าเชื้อทั้งแกรมบวกและแกรมลบ โดยเฉพาะโรคติดเชื้อจาก *Staphylococcal* ซึ่งใช้ยากลุ่ม

penicillins หรือ cephalosporins ไม่ได้ผล⁵⁻⁷ ยาทั้งสามนี้จะมีค่า therapeutic index แคบ ทำให้การใช้ยาเป็นไปอย่างลำบากเพราะอาจเกิดพิษได้โดยเฉพาะระบบโสต (ototoxicity) จาก cranial nerve เส้นที่ 8⁸ และเป็นพิษต่อไต^{9,10} (nephrotoxicity) หากความเข้มข้นของ gentamicin, amikacin และ vancomycin มีระดับฟีกเกิน 10, 35 และ 90 มก./มล. ตามลำดับ^{8,9,10,11,12} จึงต้องมีการเฝ้าระวังการใช้ยาโดยการตรวจวัดระดับยาในเลือดอย่างสม่ำเสมอ¹⁵ พบว่าการคาดการณ์ concentration-time profile ของ gentamicin เป็นไปได้ยากทั้งในแง่ของระดับยาที่ฟีก และค่าครึ่งชีวิต¹³ นอกจากนี้คนไข้โรคไตยังต้องได้รับการดูแลเป็นพิเศษ เนื่องจากการขับถ่ายยาเป็นไปได้ช้าทำให้เกิดพิษได้ง่าย¹¹

การใช้ยาปฏิชีวนะกลุ่ม aminoglycosides นี้ พบว่าบางครั้งถ้าใช้ยาเดี่ยวอาจไม่ได้ผล เนื่องจากการดื้อยาของเชื้อ จึงนิยมใช้ร่วมกับยาปฏิชีวนะกลุ่มอื่นด้วย ที่นิยมใช้คือกลุ่ม penicillins¹⁶⁻²⁰ และ cephalosporins เพื่อเสริมฤทธิ์ในการฆ่าเชื้อ แม้ว่าจะเพิ่มความเสี่ยงในการเกิดพิษต่อไตก็ตาม²¹⁻²² อย่างไรก็ตามมีรายงานกล่าวว่ายาในกลุ่ม penicillins ที่มีความเข้มข้นสูง สามารถทำปฏิกิริยาทางเคมีกับยาในกลุ่ม aminoglycosides ได้สารไม่มีฤทธิ์ในการฆ่าเชื้อทั้งคู่^{16,19,23-26} อัตราส่วนที่เกิดปฏิกิริยาคือ 50:1 ของ penicillins : aminoglycosides^{17,19} ปรากฏการณ์นี้เกิดใน vitro แต่จะเกิดมากเพียงใดนั้นขึ้นกับชนิดของ aminoglycosides ชนิดและความเข้มข้นของ penicillins และวิธีการเก็บตัวอย่างด้วย^{19,25,26} การเกิดปฏิกิริยาเข้าใจว่าเป็นกลไกทางเคมีฟิสิกส์เกี่ยวข้องกับการที่ beta-lactam ring ของ penicillins ถูกเปิดออก โดยกลุ่มเมทิล อะมิโนของ aminoglycosides¹⁶ ดังนั้นหากต้องการใช้ยาทั้งสองนี้ร่วมกันจึงไม่แนะนำให้ผสมรวมกันแล้วตั้งทิ้งไว้ก่อนที่จะให้เข้าสู่ร่างกาย¹⁸

การเกิดปฏิกิริยาของยาในกลุ่ม penicillins และ aminoglycosides นี้เกิดได้แม้ในกาย โดยเฉพาะค่าครึ่งชีวิตของ gentamicin ลดลงจาก 33 ถึง 50 ชั่วโมง เหลือเพียง 11 ถึง 22 ชั่วโมง เมื่อมี carbenicillin ความเข้มข้น 180 ถึง 200 มก./มล. อยู่¹⁹ อย่างไรก็ตามสำหรับผู้ป่วยไตปกติ อัตราการทำปฏิกิริยาของยาทั้งสองจะช้าจนไม่สามารถวัดความแตกต่างของระดับของ aminoglycosides เมื่อมี และไม่มียาในกลุ่ม penicillins อยู่²⁷

งานบริการทางวิชาการและวิจัย คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ได้ให้บริการในการตรวจวัดระดับยาในเลือดให้แก่ผู้ป่วย โดยทั่วไปให้ผลตีเคมีปัญหา คือ ไม่อาจให้บริการตลอด 24 ชั่วโมง ดังนั้นตัวอย่างเลือดบางครั้งจำเป็นต้องเก็บค้างไว้หลายชั่วโมงก่อนการตรวจวิเคราะห์หาปริมาณ และบางตัวอย่างเลือดในจำนวนนั้นคือ ต้องการให้วัดระดับของยาในกลุ่ม aminoglycosides ซึ่งมียาปฏิชีวนะกลุ่ม penicillins หรือ cephalosporins รวมอยู่ด้วย ทำให้ผู้ปฏิบัติการไม่แน่ใจผลการวิเคราะห์ว่าถูกต้องหรือไม่ แม้ว่าจากรายงานมีการศึกษาปฏิกิริยาของยาในกลุ่ม penicillins ที่มีต่อ

gentamicin, tabramycin และ amikacin¹⁹ แต่ยังไม่มีการศึกษาผลของ ampicillin สำหรับยาในกลุ่ม cephalosporins ซึ่งมีสูตรโครงสร้างใกล้เคียงกับยาในกลุ่ม penicillins ก็มีผู้ศึกษาไว้เพียงเล็กน้อยเท่านั้น²⁵

ดังนั้นในการศึกษาครั้งนี้จึงเลือกศึกษา ampicillin และ cefazolin เป็นตัวแทนกลุ่ม penicillins และ cephalosporins ตามลำดับให้ทำปฏิกิริยากับ gentamicin, amikacin และ vancomycin ซึ่งยาทั้ง 3 นี้ให้เป็นตัวแทนของยาในกลุ่ม aminoglycosides ทั้งนี้ใช้หลักเลือกยาที่มีการใช้ร่วมกันบ่อยทางคลินิก ศึกษาในแง่ปัจจัยของเวลา, อุณหภูมิ, ความเข้มข้นของยา inactivate ในเลือด (ที่น่าจะพบในการตรวจรักษา) และตัวกลางที่ทำปฏิกิริยา (เลือดและพลาสมา)

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. ทดสอบทฤษฎีที่ว่ายาปฏิชีวนะในกลุ่ม penicillins สามารถ inactivate ยาปฏิชีวนะในกลุ่ม aminoglycosides
2. ทดสอบผลของยาในกลุ่ม cephalosporins ซึ่งมีสูตรโครงสร้างใกล้เคียงกับยาในกลุ่ม penicillins ว่าสามารถ inactivate ยาในกลุ่ม aminoglycosides หรือไม่
3. ศึกษาปัจจัยของการ inactivate ยาปฏิชีวนะในกลุ่ม aminoglycosides โดยยาปฏิชีวนะในกลุ่ม penicillins และ cephalosporins

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

ทราบปัจจัยของการถูก inactivate ยาปฏิชีวนะในกลุ่ม aminoglycosides โดยยาปฏิชีวนะในกลุ่ม penicillins และ cephalosporins ผลนี้สามารถนำไปใช้สำหรับแนะนำวิธีการที่ถูกต้องในการเก็บรักษาตัวอย่างเลือด เพื่อการตรวจวัดหาระดับยาในกลุ่ม aminoglycosides อันเป็นประโยชน์ในด้าน Therapeutic Drug Monitoring สำหรับหน่วยงานในโรงพยาบาล ซึ่งให้บริการทางด้านนี้รวมทั้งงานบริการทางวิชาการและวิจัยของคณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น เป็นต้น

วิธีดำเนินการวิจัย

1. ขั้นตอนการเตรียมการทดลอง โดยการพิจารณาร่วมกับคณาจารย์ภาควิชาเภสัชกรรม คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ในแง่มุมต่าง ๆ ดังนี้คือ

1.1 การคัดเลือกชนิด และระดับความเข้มข้นของยาในกลุ่ม aminoglycosides ได้ผลดังนี้คือ

ตัวยา	ระดับความเข้มข้น (มก./มล.) ที่ใช้ศึกษา	
	peak	trough
Gentamicin	8	1
Amikacin	25	-
Vancomycin	35	-

1.2 การคัดเลือกชนิด และระดับความเข้มข้นของยาในกลุ่ม penicillins ได้ผลดังนี้คือ
ampicillin ใช้ความเข้มข้นที่ peak คือ 25 มก./มล.

1.3 การคัดเลือกชนิด และระดับความเข้มข้นของยาในกลุ่ม cephalosporins ได้ผลดังนี้คือ
Cefazolin ใช้ความเข้มข้นที่ peak คือ 70 มก./มล.

1.4 กำหนดระยะเวลาการ inactivate ของตัวยาได้ผลดังนี้คือ
สุผลทุก 0, 3, 6, 9, 12 และ 24 ชั่วโมง

1.5 กำหนดอุณหภูมิการ inactivate ของตัวยาได้ผลดังนี้คือ

1. อุณหภูมิในตู้เย็น (7°C)
2. อุณหภูมิห้อง (30°C)

1.6 กำหนดตัวกลางที่ใช้ในการ inactivate ของตัวยาได้ผลดังนี้คือ

1. พลาสมา
2. เลือด

2. ขั้นตอนการทดลอง

อุปกรณ์สำหรับทำการทดลอง

1. Fluorescence Polarization Immuno Assay ยี่ห้อ TDx บริษัท Abbott Laboratories
Diagnostics Division, Abbott Park, IL60064, U.S.A.
2. ปิเปตอัตโนมัติ
3. ตู้เย็น

4. เครื่องปั่นเหวี่ยง

5. Vortex mixer

6. เครื่องแก้ว

7. ตู้อบ

วัสดุสำหรับการทดลอง

1. Gentamicin Reagent Pack, Abbott Laboratories, U.S.A.

2. Gentamicin Controls, Abbott Laboratories, U.S.A.

3. Gentamicin Calibrators, Abbott Laboratories, U.S.A.

4. Amikacin Reagent Pack, Abbott Laboratories, U.S.A.

5. Amikacin Controls, Abbott Laboratories, U.S.A.

6. Amikacin Calibrators, Abbott Laboratories, U.S.A.

7. Vancomycin Reagent Pack, Abbott Laboratories, U.S.A.

8. Vancomycin Controls, Abbott Laboratories, U.S.A.

9. Vancomycin Calibrators, Abbott Laboratories, U.S.A.

10. Gentamicin SO_4

11. Amikacin SO_4

12. Vancomycin HCl

13. Sample cartridges

14. cuvettes

15. ถุงมือยาง

16. pipet tip

17. micro centrifuge tube

18. test tube

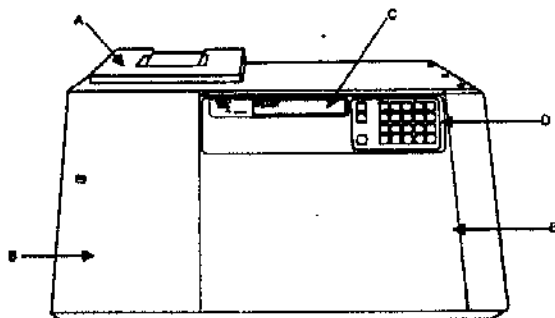
เครื่องตรวจวิเคราะห์ TDx

เครื่อง TDx และอุปกรณ์ประกอบในการทดลองวิเคราะห์ได้แสดงไว้ดังรูปที่ 2

The TD_x System requires the following components (unless otherwise specified) for each assay.

The TD_x analyzer (No. 9520-XX). The external features shown are:

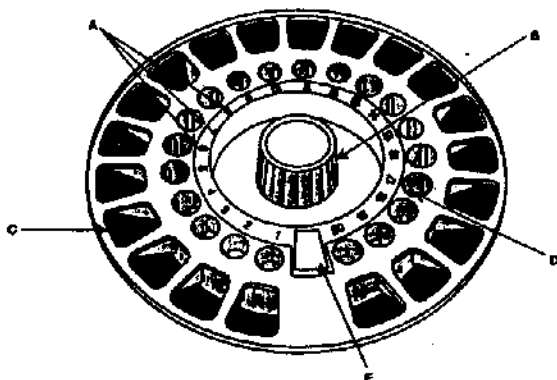
- A. printer
- B. buffer dispenser cover
- C. display
- D. control key pad
- E. access door



X SYSTEMS™ Carousel (No. 9518-11). The carousel is used for batch testing. The carousel contains:

- A. sample/cartridge position number
- B. carousel locking mechanism
- C. sample cartridge position
- D. cartridge position
- E. carousel barcode label position

Carousels are shipped with this instrument. Barcoded labels are included in the carousel box. The carousel accommodates up to 20 samples.

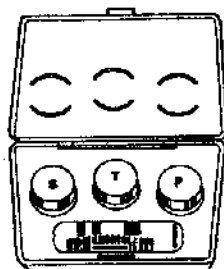


TD_x/TD_xFL_x™ Reagent Packs are used to run in the batch mode. Refer to the assay manual for details on the contents of each vial.

The 3-pot reagent pack consists of:

- "S" - vial
- "T" - vial
- "P" - vial

NOTE: Vials in the T-Upake reagent pack are in the order P - T - P.



The TD_x System

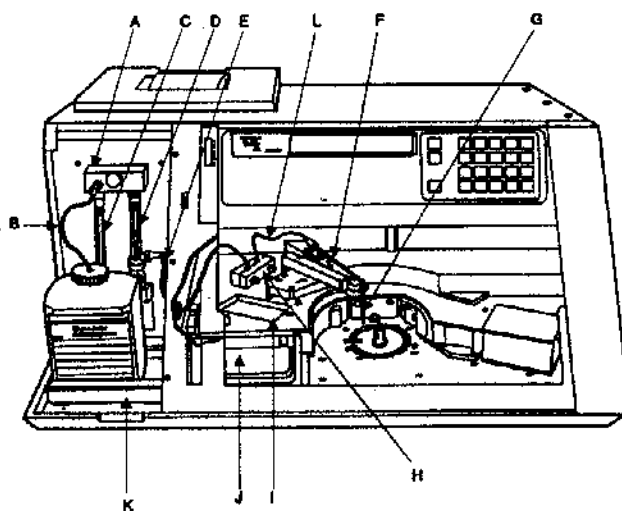
The internal components of the TD_x System consist of the:

- 1. dispenser assembly
- 2. optics assembly
- 3. sensors

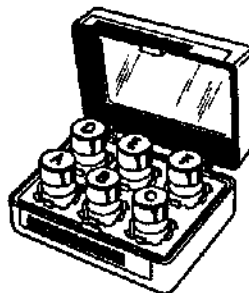
Dispenser Assembly

The features of the dispenser assembly are the:

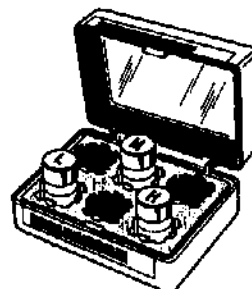
- A. valve block
- B. inlet tubing
- C. diluent syringe
- D. sample syringe
- E. interconnect tubing
- F. boom arm
- G. probe
- H. liquid holder block
- I. reagent pack position
- J. waste container
- K. buffer platform
- L. probe connector tubing



X SYSTEMS™ Calibrators. The calibrators consist of six vials, A through F. Refer to the appropriate assay section in the TD_x/TD_xFL_x™ Assays manual for more details.



X SYSTEMS Controls. The controls for most assays consist of three vials, Low, Medium, and High. Controls for some assays contain vial quantities other than three. For some assays there may be more than one type of control, for example, serum and urine controls. Refer to the appropriate assay section in the TD_x/TD_xFL_x™ Assays manual for more details.



ขั้นตอนการใช้น้ำยา TDx ในการหาระดับยาในตัวอย่าง

1. ขั้นตอนการ Calibrate น้ำยา

ในชุดน้ำยาจะประกอบด้วย Reagent pack, Control 3 levels (L, M,H) และ Calibrators 6 levels (A, B, C, D, E, F) ก่อนที่จะนำน้ำยาชุดใหม่มาใช้ตรวจตัวอย่าง เราต้องทำการ Calibrate น้ำยาก่อนทุกครั้ง ซึ่งจะมีวิธีดังต่อไปนี้

1.1 ใช้ Carousel ที่ Label ว่า “Cal”

1.2 นำชุดน้ำยาตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องอย่างน้อย 15 นาที (เนื่องจากน้ำยาเก็บไว้ในตู้เย็น)

1.3 ใส่ Sample cartridge และ Cuvette อย่างละ 9 อันลงใน Carousel

1.4 เปิด Calibrator A ถึง F ลงใน Sample Cartridge อย่างละ 200 มคล. (ต้องเรียง A ในช่อง 1 และ B ในช่อง 2 ตามลำดับห้ามสลับตำแหน่ง)

1.5 เปิด Control L, M, H เรียงต่อจาก Calibrator อย่างละ 200 มคล.

1.6 นำ Carousel วางในเครื่องแล้วล็อก carousel โดยหมุนแกนกลางตามเข็มนาฬิกา

1.7 นำกล่องน้ำยา (Reagent Pack) เข้าใส่ในช่องวางน้ำยาในเครื่อง TDx

1.8 ปิดฝาเครื่องแล้วกด “Run”

1.9 เมื่อน้ำยาถูก Calibrate แล้วเครื่องจะพิมพ์ผลออกจาก Printer

2. ขั้นตอนการตรวจตัวอย่าง

2.1 นำน้ำยา (Reagent Pack) มาตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องประมาณ 15 นาที (เนื่องจากน้ำยาเก็บไว้ในตู้เย็น)

2.2 ใช้ Carousel ที่ label ไว้ด้วยตัวเลข เช่น “1”, “2”

2.3 เตรียม Sample Cartridge และ Cuvette ให้เท่ากับจำนวนตัวอย่างที่จะตรวจ และเพิ่ม Cartridge และ Cuvette อีก 1 ชุด เพื่อตรวจ Controls เทียบไปด้วย

2.4 เปิดตัวอย่าง และ Controls อย่างละ 200 มคล. ใส่ลงใน Sample Cartridge ที่เตรียมไว้

2.5 นำ Carousel ที่เตรียมเสร็จแล้ววางในเครื่องแล้วล็อก carousel โดยหมุนแกนกลางตามเข็มนาฬิกา

2.6 นำกล่องน้ำยาใส่ในช่องวางน้ำยาในเครื่อง TDx

2.7 ปิดฝาเครื่องแล้วกด “Run”

2.8 เมื่อเครื่อง Run เสร็จ จะพิมพ์ผลออกจาก Printer

การทดลอง

การทดลองแบ่งได้เป็น 5 การทดลองดังนี้คือ

A การทดลอง inactivation ระหว่าง gentamicin กับ ampicillin และ gentamicin กับ cefazolin ในพลาสมาที่ระดับความเข้มข้นที่ peak ของคู่ inactivate

B การทดลอง inactivation ระหว่าง gentamicin กับ ampicillin และ gentamicin กับ cefazolin ในพลาสมาที่ระดับความเข้มข้นที่ trough ของ gentamicin และ peak ของตัว inactivate

C การทดลอง inactivation ระหว่าง gentamicin กับ ampicillin และ gentamicin กับ cefazolin ในเลือดที่ระดับความเข้มข้นที่ trough ของ gentamicin และ peak ของตัว inactivate

D การทดลอง inactivation ระหว่าง amikacin กับ ampicillin และ amikacin กับ cefazolin ในพลาสมาที่ระดับความเข้มข้นที่ peak ของคู่ activate

E การทดลอง inactivation ระหว่าง vancomycin กับ ampicillin และ vancomycin กับ cefazolin ในพลาสมาที่ระดับความเข้มข้นที่ peak ของคู่ inactivate

A. การทดลอง inactivation ระหว่าง gentamicin กับ ampicillin และ gentamicin กับ cefazolin ในพลาสมาที่ระดับความเข้มข้นที่ peak ของคู่ inactivate

วิธีทดลอง

1. เตรียม stock gentamicin ในพลาสมาให้ได้ความเข้มข้นประมาณ 16 มก./มล. จำนวน 20 มล. (G_{s1})
2. เตรียม stock ampicillin ในพลาสมาให้ได้ความเข้มข้นประมาณ 50 มก./มล. จำนวน 10 มล. (A_{s1})
3. เตรียม stock cefazolin ในพลาสมาให้ได้ความเข้มข้นประมาณ 140 มก./มล. จำนวน 10 มล. (C_{s1})
4. เติม 5 มล. พลาสมาลงไป 5 มล. ของ G_{s1} ผสมให้เข้ากัน (HPG)
5. เติม 5 มล. ของ G_{s1} ผสมเข้ากับ 5 มล. ของ A_{s1} (HPGA)
6. เติม 5 มล. ของ G_{s1} ผสมเข้ากับ 5 มล. ของ C_{s1} (HPGC)
7. นำตัวอย่าง HPG, HPGA และ HPGC ไปวัดหาความเข้มข้นของ gentamicin ด้วยเครื่อง TDx ทันทีที่เตรียมเสร็จได้ความเข้มข้นของ gentamicin ที่เวลา 0

8. นำตัวอย่าง HPG, HPGA และ HP GC ที่เหลือแต่ละอันมาแบ่งเป็นสองส่วนเท่า ๆ กัน ส่วนหนึ่งเก็บในตู้เย็นอุณหภูมิ 7°C และอีกส่วนหนึ่งเก็บไว้ในตู้อบอุณหภูมิ 30°C วัดหาความเข้มข้นของ gentamicin จากทั้ง 6 ตัวอย่าง ที่เวลา 3, 6, 9, 12 และ 24 ชั่วโมงจากเวลาเริ่มต้น โดยใช้เครื่อง TDx

B. การทดลอง inactivation ระหว่าง gentamicin กับ ampicillin และ gentamicin กับ cefazolin
ในพลาสมาที่ระดับความเข้มข้นที่ trough ของ gentamicin และ peak ของตัว inactivate
วิธีทดลอง

1. เตรียม stock gentamicin ในพลาสมาให้ได้ความเข้มข้นประมาณ 2 มก./มล. จำนวน 20 มล. (G_{s2})
2. เตรียม stock ampicillin ในพลาสมาให้ได้ความเข้มข้นประมาณ 50 มก./มล. จำนวน 10 มล. (A_{s1})
3. เตรียม stock cefazolin ในพลาสมาให้ได้ความเข้มข้นประมาณ 140 มก./มล. จำนวน 10 มล. (C_{s1})
4. เติม 5 มล. พลาสมาลงใน 5 มล. ของ G_{s2} ผสมให้เข้ากัน (LPG)
5. เติม 5 มล. ของ G_{s2} ผสมเข้ากับ 5 มล. ของ A_{s1} (LPGA)
6. เติม 5 มล. ของ G_{s2} ผสมเข้ากับ 5 มล. ของ C_{s1} (LPGC)
7. นำตัวอย่าง LPG, LPGA และ LPGC ไปวัดหาความเข้มข้นของ gentamicin ด้วยเครื่อง TDx พื้นที่ที่เตรียมเสร็จได้ความเข้มข้นของ gentamicin ที่เวลา 0
8. นำตัวอย่าง, LPG, LPGA และ LPGC ที่เหลือแต่ละอันมาแบ่งเป็นสองส่วนเท่า ๆ กัน ส่วนหนึ่งเก็บเข้าตู้เย็นอุณหภูมิ 7°C และอีกส่วนหนึ่งเก็บไว้ในตู้อบอุณหภูมิ 30°C วัดหาความเข้มข้นของ gentamicin จากทั้ง 6 ตัวอย่างที่เวลา 6, 12 และ 24 ชั่วโมงจากเวลาเริ่มต้น โดยใช้เครื่อง TDx

C. การทดลอง inactivation ระหว่าง gentamicin กับ ampicillin และ gentamicin กับ cefazolin ในเลือดที่ระดับความเข้มข้นที่ trough ของ gentamicin และ peak ของตัว inactivate

วิธีทดลอง

1. เตรียม stock gentamicin ในเลือดให้ได้ความเข้มข้นประมาณ 2 มกก./มล. จำนวน 40 มล. (G_{s3})
2. เตรียม stock ampicillin ในเลือดให้ได้ความเข้มข้นประมาณ 50 มกก./มล. จำนวน 20 มล. (A_{s2})
3. เตรียม stock cefazolin ในเลือดให้ได้ความเข้มข้นประมาณ 140 มกก./มล. จำนวน 20 มล. (C_{s2})
4. เติม 10 มล. เลือดลงใน 10 มล. ของ G_{s3} ผสมให้เข้ากัน (LWG)
5. เติม 10 มล. ของ G_{s3} ผสมเข้ากับ 10 มล. ของ A_{s2} (LWGA)
6. เติม 10 มล. ของ G_{s3} ผสมเข้ากับ 10 มล. ของ C_{s2} (LWGC)
7. นำตัวอย่าง LWG, LWGA และ LWGC อย่างละ 1 มล. ไปปั่นเหวี่ยงที่ 3500 รอบต่อนาที นำชั้นพลาสมาไปวัดหาความเข้มข้นของ gentamicin ด้วยเครื่อง TDx ทันทีที่เตรียมเสร็จได้ความเข้มข้นของ gentamicin ที่เวลา 0
8. นำตัวอย่าง LWG, LWGA และ LWGC ที่เหลือแต่ละอันมาแบ่งเป็นสองส่วนเท่า ๆ กัน ส่วนหนึ่งเก็บในตู้เย็นอุณหภูมิ 7°C และอีกส่วนหนึ่งเก็บในตู้เย็นอุณหภูมิ 30°C วัดหาความเข้มข้นของ gentamicin ในชั้นพลาสมาจากทั้ง 6 ตัวอย่างที่เวลา 6, 12, และ 24 ชั่วโมงจากเวลาเริ่มต้น โดยใช้เครื่อง TDx (ก่อนการวัดความเข้มข้นให้นำตัวอย่างมา 1 มล. ไปปั่นเหวี่ยงที่ 3500 รอบต่อนาที ใช้ชั้นพลาสมา)

D. การทดลอง inactivation ระหว่าง amikacin กับ ampicillin และ amikacin กับ cefazolin ในพลาสมาที่ระดับความเข้มข้นที่ peak ของตัว inactivate

วิธีทดลอง

1. เตรียม stock amikacin ในพลาสมาให้ได้ความเข้มข้นประมาณ 50 มกก./มล. จำนวน 20 มล. (AM_{s1})
2. เตรียม stock ampicillin ในพลาสมาให้ได้ความเข้มข้นประมาณ 50 มกก./มล. จำนวน 10 มล. (A_{s1})

3. เตรียม stock cefazolin ในพลาสติกทำให้ได้ความเข้มข้นประมาณ 140 มก./มล. จำนวน 10 มล. (C_{s1})
4. เติม 5 มล. พลาสมาลงใน 5 มล. ของ Am_{s1} ผสมให้เข้ากัน (HPA)
5. เติม 5 มล. ของ AM_{s1} ผสมเข้ากับ 5 มล. ของ A_{s1} (HPAA)
6. เติม 5 มล. ของ AM_{s1} ผสมเข้ากับ 5 มล. ของ C_{s1} (HPAC)
7. นำตัวอย่าง HPA, HPAA และ HPAC ไปวัดหาความเข้มข้นของ amikacin ด้วยเครื่อง TDx ทันทีที่เตรียมเสร็จได้ความเข้มข้นของ amikacin ที่เวลา 0
8. นำตัวอย่าง HPA, HPAA และ HPAC ที่เหลือแต่ละอันมาแบ่งเป็นสองส่วนเท่า ๆ กัน ส่วนหนึ่งเก็บในตู้เย็นอุณหภูมิ 7°C และอีกส่วนหนึ่งเก็บไว้ในตู้อบอุณหภูมิ 30°C วัดหาความเข้มข้นของ amikacin จากทั้ง 6 ตัวอย่าง ที่เวลา 3, 6, 9, 12 และ 24 ชั่วโมงจากเวลาเริ่มต้น โดยใช้เครื่อง TDx

E. การทดลอง inactivation ระหว่าง vancomycin กับ ampicillin และ vancomycin กับ

cefazolin ในพลาสติกที่ระดับความเข้มข้นที่ peak ของ inactivate

วิธีทดลอง

1. เตรียม stock vancomycin ในพลาสติกทำให้ได้ความเข้มข้นประมาณ 70 มก./มล. จำนวน 20 มล. (V_{s1})
2. เตรียม stock ampicillin ในพลาสติกทำให้ได้ความเข้มข้นประมาณ 50 มก./มล. จำนวน 10 มล. (A_{s1})
3. เตรียม stock cefazolin ในพลาสติกทำให้ได้ความเข้มข้นประมาณ 140 มก./มล. จำนวน 10 มล. (C_{s1})
4. เติม 5 มล. พลาสมาลงใน 5 มล. ของ V_{s1} ผสมให้เข้ากัน (HPV)
5. เติม 5 มล. ของ V_{s1} ผสมเข้ากับ 5 มล. ของ A_{s1} (HPVA)
6. เติม 5 มล. ของ V_{s1} ผสมเข้ากับ 5 มล. ของ C_{s1} (HPVC)
7. นำตัวอย่าง HPV, HPVA และ HPVC ไปวัดหาความเข้มข้นของ vancomycin ด้วยเครื่อง TDx ทันทีที่เตรียมเสร็จได้ความเข้มข้นของ vancomycin ที่เวลา 0

8. นำตัวอย่าง HPV, HPVA และ HPVC ที่เหลือแต่ละอันมาแบ่งเป็นสองส่วนเท่า ๆ กัน ส่วนหนึ่งเก็บไว้ในตู้เย็นอุณหภูมิ 7°C และอีกส่วนหนึ่งเก็บไว้ในตู้อบอุณหภูมิ 30°C วัดหาความเข้มข้นของ vancomycin จากทั้ง 6 ตัวอย่างที่เวลา 3, 6, 9, 12 และ 24 ชั่วโมงจากเวลาเริ่มต้น โดยใช้เครื่อง TDx

ผลการทดลอง

A. การทดลอง inactivation ระหว่าง gentamicin กับ ampicillin และ gentamicin กับ cefazolin ในพลาสมาที่ระดับความเข้มข้นที่พิกของคู่ inactivate ได้ผลดังแสดงในตารางที่ 1

		ความเข้มข้น (µg/ml)									
อุณหภูมิ		ตู้เย็น (7°C)					อุณหภูมิห้อง (30°C)				
เวลา(ชม.)	0	3	6	9	12	24	3	6	9	12	24
ตัวอย่าง											
HPG	9.32	9.46	9.19	9.53	9.51	9.17	9.35	9.25	9.39	9.18	9.10
HPGA	8.80	8.87	9.00	9.16	9.01	9.00	8.85	9.00	8.85	8.81	8.73
HPGC	8.88	8.86	9.03	9.10	8.86	8.84	8.73	9.09	8.66	8.80	8.82

ตารางที่ 1 แสดงผลการทดลอง inactivation ระหว่าง gentamicin กับ ampicillin (HPGA) และ gentamicin กับ cefazolin (HPGC) โดยใช้ความเข้มข้นที่ระดับพิกของคู่ inactivate มี gentamicin (HPG) เป็น control; ปฏิบัติการนี้ทำในตัวอย่างกลางของพลาสมา (SD within run = ± 0.12 , SD between day = ± 0.08)

จากการทดลองพบว่า

1. ความเข้มข้นของ gentamicin ที่อยู่ตัวเดียว และ gentamicin ที่อยู่ร่วมกับ ampicillin หรือ cefazolin ไม่ได้แสดงว่าจะลดตามเวลาที่เพิ่มขึ้นใน 12 ชั่วโมง แต่ลดลงเล็กน้อยที่เวลา 24 ชั่วโมง
2. ทั้ง ampicillin และ cefazolin สามารถ inactivate gentamicin ได้ในขนาดที่พอ ๆ กัน ในความเข้มข้นที่ทำการทดลองคือเป็นระดับความเข้มข้นที่พิกของคู่ inactivate
3. ปฏิบัติการ inactivation ระหว่าง gentamicin กับ ampicillin และ gentamicin กับ cefazolin เกิดทันที และไม่ได้แสดงว่าจะเพิ่มขึ้นเนื่องจากเวลาหรืออุณหภูมิที่เพิ่มขึ้น

4. ที่อุณหภูมิห้องความเข้มข้นของ gentamicin ทั้งที่อยู่ตัวเดียว และที่อยู่ร่วมกับ ampicillin หรือ cefazolin จะน้อยกว่าที่อุณหภูมิในตู้เย็นในเกือบทุกตัวอย่าง

B. การทดลอง inactivation ระหว่าง gentamicin กับ ampicillin และ gentamicin กับ cefazoline ในพลาสมาที่ระดับความเข้มข้นที่ trough ของ gentamicin และ peak ของตัว inactivate ได้ผลดังแสดงในตารางที่ 2

		ความเข้มข้น (µg/ml)					
อุณหภูมิ		ตู้เย็น (7°C)			อุณหภูมิห้อง (30°C)		
เวลา(ชม.)	0	6	12	24	6	12	24
ตัวอย่าง							
LPG	1.32	1.42	1.35	1.32	1.26	1.23	1.23
LPGA	1.20	1.22	1.19	1.20	1.22	1.29	1.22
LPGC	1.18	1.24	1.19	1.19	1.21	1.16	1.22

ตารางที่ 2 แสดงผลการทดลอง inactivation ระหว่าง gentamicin กับ ampicillin (LPGA) และ gentamicin กับ cefazolin (LPGC) โดยใช้ความเข้มข้นที่ระดับ trough ของ gentamicin และพีคของตัว inactivate มี gentamicin (LPG) เป็น control; ปฏิกริยานี้ทำในตัวอย่างกลางของพลาสมา (SD within run = ± 0.12 , SD between day = ± 0.08)

จากการทดลองพบว่า

1. ความเข้มข้นของ gentamicin ที่อยู่ตัวเดียว และ gentamicin ที่อยู่ร่วมกับ ampicillin หรือ cefazolin ไม่ได้ลดตามเวลาที่เพิ่มขึ้นภายใน 24 ชั่วโมง
2. ทั้ง ampicillin และ cefazolin สามารถ inactivate gentamicin ได้ในขนาดที่พอ ๆ กับในความเข้มข้นของการทดลองคือเป็นระดับความเข้มข้นที่ trough ของ gentamicin และระดับความเข้มข้นที่ peak ของตัว inactivate
3. ปฏิกริยา inactivation ระหว่าง gentamicin กับ ampicillin และ gentamicin กับ cefazolin เกิดทันที และไม่ได้แสดงว่าจะเพิ่มขึ้นเนื่องจากเวลาหรืออุณหภูมิที่เพิ่มขึ้น

4. ที่อุณหภูมิห้องความเข้มข้นของ gentamicin ที่อยู่ตัวเดียวจะน้อยกว่าที่อุณหภูมิในตู้เย็นในทุกตัวอย่าง ในขณะที่ความเข้มข้นของ gentamicin ที่มี ampicillin และ cefazolin อยู่ร่วมด้วยไม่ได้แสดงความแตกต่างระหว่างตัวอย่างที่เก็บในตู้เย็นในและอุณหภูมิห้อง

C. การทดลอง inactivation ระหว่าง gentamicin กับ ampicillin และ gentamicin กับ cefazolin ในเลือดที่ระดับความเข้มข้นที่ trough ของ gentamicin และ peak ของตัว inactivate ได้ผลดังแสดงในตารางที่ 3

		ความเข้มข้น (µg/ml)					
อุณหภูมิ		ตู้เย็น (7°C)			อุณหภูมิห้อง (30°C)		
เวลา(ชม.)	0	6	12	24	6	12	24
ตัวอย่าง							
LWG	1.68	1.54	1.50	1.50	1.55	1.54	1.52
LWGA	1.54	1.53	1.48	1.50	1.55	1.52	1.53
LWGC	1.54	1.51	1.46	1.51	1.52	1.52	1.50

ตารางที่ 3 แสดงผลการทดลอง inactivation ระหว่าง gentamicin กับ ampicillin (LWGA) และ gentamicin กับ cefazolin (LWGC) โดยใช้ความเข้มข้นที่ระดับ trough ของ gentamicin และ peak ของตัว inactivate มี gentamicin (LWG) เป็น control; ปฏิกริยานี้ทำในตัวอย่างกลางของเลือด (SD within run = ± 0.12 , SD between day = ± 0.08)

จากการทดลองพบว่า

1. ความเข้มข้นของ gentamicin ที่อยู่ตัวเดียว จะลดลงตามเวลาที่เพิ่มขึ้นในเวลา 24 ชั่วโมง ทั้งที่อุณหภูมิตู้เย็นและอุณหภูมิห้อง
2. ทั้ง ampicillin และ cefazolin สามารถ inactivate gentamicin ได้ในขนาดที่พอ ๆ กัน ในความเข้มข้นของการทดลองถือเป็นระดับความเข้มข้นที่ trough ของ gentamicin และระดับความเข้มข้นที่พีคของตัว inactivate
3. ปฏิกริยา inactivation ระหว่าง gentamicin กับ ampicillin และ gentamicin กับ cefazolin เกิดทันที และไม่ได้แสดงว่าจะเพิ่มขึ้นตามเวลาหรืออุณหภูมิที่เพิ่มขึ้น



4. ความเข้มข้นของ gentamicin ที่อยู่ร่วมกับ ampicillin หรือ cefazolin ไม่ได้ลดลงตามเวลาที่เพิ่มขึ้นภายในเวลา 24 ชั่วโมง ทั้งที่อุณหภูมิห้อง และอุณหภูมิตู้เย็น

5. ความเข้มข้นของ gentamicin ที่หาได้จากการทดลองนี้คือใช้เลือดเป็นตัวกลางจะสูงกว่าความเข้มข้นของ gentamicin ที่หาได้จากการทดลอง B ที่ใช้ตัวกลางที่เป็นพลาสมา แม้ว่าจะเตรียมจาก stock เดียวกับ ด้วยความเข้มข้นเท่ากันก็ตาม

D. การทดลอง inactivation ระหว่าง amikacin กับ ampicillin และ amikacin กับ cefazolin ในพลาสมาที่ระดับความเข้มข้นที่พิษของ μ inactivate ได้ผลดังแสดงในตารางที่ 4

		ความเข้มข้น (μ g/ml)									
อุณหภูมิ		ตู้เย็น (7°C)					อุณหภูมิห้อง (30°C)				
เวลา(ชม.)	0	3	6	9	12	24	3	6	9	12	24
ตัวอย่าง											
HPA	23.86	25.47	25.55	25.40	25.55	24.73	24.80	24.96	25.37	25.09	24.71
HPAA	24.08	25.21	25.39	25.39	25.09	25.58	24.97	25.72	25.10	25.37	24.99
HPAC	23.98	24.99	25.19	25.26	25.77	25.11	24.94	25.28	25.72	25.35	24.89

ตารางที่ 4 แสดงผลการทดลอง inactivation ระหว่าง amikacin กับ ampicillin (HPAA) และ amikacin กับ cefazolin (HPAC) โดยใช้ความเข้มข้นที่ระดับพิษของ μ inactivate มี amikacin (HPA) เป็น control; ปฏิกริยานี้ทำในตัวอย่างของพลาสมา (SD within run = ± 0.40 , SD between day = ± 0.40)

จากการทดลองพบว่า

1. ความเข้มข้นของ amikacin ทั้งที่อยู่ตัวเดียว และที่อยู่ร่วมกับ ampicillin หรือ cefazolin จะไม่ลดลงตามเวลาที่เพิ่มขึ้นใน 24 ชั่วโมง ทั้งในอุณหภูมิของตู้เย็น และอุณหภูมิห้อง
2. ไม่พบว่า ampicillin และ cefazolin จะสามารถ inactivate amikacin ในระดับความเข้มข้นที่พิษของ μ inactivate
3. ที่อุณหภูมิห้อง ความเข้มข้นของ amikacin ที่อยู่ตัวเดียวจะน้อยกว่าที่อุณหภูมิในตู้เย็นในทุกตัวอย่าง แม้ว่าจะเพียงเล็กน้อยก็ตาม แต่หากมี ampicillin หรือ cefazolin อยู่ด้วย ความเข้มข้นของ amikacin จะไม่แสดงความแตกต่างระหว่างตัวอย่างที่อยู่ในอุณหภูมิห้อง และในตู้เย็น

E. การทดลอง inactivation ระหว่าง vancomycin กับ ampicillin และ vancomycin กับ cefazolin ในพลาสมาที่ระดับความเข้มข้นที่ peak ของคู่ inactivate ได้ผลดังแสดงในตารางที่ 5

		ความเข้มข้น (µg/ml)									
อุณหภูมิ		ตู้เย็น (7°C)					อุณหภูมิห้อง (30°C)				
เวลา(ชม.)	0	3	6	9	12	24	3	6	9	12	24
ตัวอย่าง											
HPV	39.74	39.74	38.82	38.26	39.47	37.31	39.06	39.32	38.05	38.01	37.13
HPVA	39.89	40.49	39.57	40.12	39.19	39.44	40.56	39.53	39.25	38.67	37.97
HPVC	39.49	40.53	40.04	39.26	39.81	38.99	41.15	40.44	39.87	39.90	38.51

ตารางที่ 5 แสดงผลการทดลอง inactivation ระหว่าง vancomycin กับ ampicillins (HPVA) และ vancomycin กับ cefazolin (HPVC) โดยใช้ความเข้มข้นที่ระดับพีคของคู่ inactivate มี vancomycin (HPV) เป็น control; ปฏิกริยานี้ทำในตัวอย่างของพลาสมา (Sd within run = ± 0.73 , SD between day = ± 0.88)

จากการทดลองพบว่า

1. ความเข้มข้นของ vancomycin ทั้งที่อยู่ตัวเดียว และที่อยู่ร่วมกับ ampicillin หรือ cefazolin จะไม่ลดลงตามเวลาที่เพิ่มขึ้นใน 24 ชั่วโมง ในอุณหภูมิของตู้เย็น แม้ว่าจะแสดงแนวโน้มว่าลดลงเล็กน้อยในอุณหภูมิห้องภายใน 12 ชั่วโมงก็ตาม
2. ไม่พบว่า ampicillin และ cefazolin จะสามารถ inactivate vancomycin ในระดับความเข้มข้นที่พีคของคู่ inactivate
3. ไม่พบความแตกต่างของความเข้มข้นของ vancomycin ระหว่างอุณหภูมิห้อง และ อุณหภูมิตู้เย็น

วิจารณ์และสรุปผลการทดลอง

จากผลการทดลองพอสรุปได้ดังนี้คือ

1. ปฏิกริยา inactivation ระหว่าง gentamicin กับ ampicillin และ gentamicin กับ cefazolin เกิดขึ้นทันที และไม่ได้แสดงว่าจะเพิ่มขึ้น เนื่องจากเวลาหรืออุณหภูมิที่เพิ่มขึ้น

2. ampicillin ความเข้มข้น 25 มกก./มล. และ cefazolin ความเข้มข้น 70 มกก./มล. สามารถ inactivate gentamicin ความเข้มข้น 8 มกก./มล. และ gentamicin ความเข้มข้น 1 มกก./มล. ได้ในขนาดพอ ๆ กัน แต่จะลดความเข้มข้นของ gentamicin ความเข้มข้น 8 มกก./มล. ได้มากกว่า gentamicin ความเข้มข้น 1 มกก./มล.

3. เป็นที่สังเกตว่าที่อุณหภูมิห้องความเข้มข้นของ gentamicin จะน้อยกว่าที่เก็บในอุณหภูมิ ต่ำ

4. ความเข้มข้นของ gentamicin ในชั้น plasma ของตัวอย่างที่ใช้เลือดเป็นตัวอย่างจะสูงกว่าความเข้มข้นที่ได้จากการทดลองที่ใช้พลาสมาเป็นตัวอย่างทั้งนี้อาจเนื่องมาจาก gentamicin ไม่ได้แทรกซึมเข้าไปในเม็ดเลือดแดงให้มีความเข้มข้นเท่ากับที่อยู่ในพลาสมา นี่เป็นสาเหตุที่อาจอธิบายว่า การเก็บสารตัวอย่างก่อนวิเคราะห์นั้นควรระวังอย่าให้เม็ดเลือดแดงแตก เพราะอาจทำให้ความเข้มข้นของ gentamicin ที่หาได้น้อยกว่าที่ควรจะเป็นในพลาสมา ความจริงข้อนี้จะเกิดได้เฉพาะกรณีว่า gentamicin ไม่สะสมในเม็ดเลือดแดง ดังนั้นข้อเสนอแนะนำในคู่มือเครื่องมือ TDx²⁸ ที่แนะนำให้วิเคราะห์ตัวอย่างทันทีหรือเก็บแช่แข็งก่อนการส่งวิเคราะห์นั้น จึงควรพิจารณาว่าควรแยกชั้นพลาสมา ก่อนเก็บแช่แข็งไม่ใช่เก็บทั้งเลือด เพราะจะทำให้เม็ดเลือดแดงแตก

5. ไม่พบว่า ampicillin และ cefazolin จะสามารถ inactivate amikacin หรือ vancomycin ในระดับความเข้มข้นที่พิกของคู่ inactivate คือ ampicillin ความเข้มข้น 25 มกก./มล., cefazolin ความเข้มข้น 25 มกก./มล. และ vancomycin ความเข้มข้น 40 มกก./มล. ทั้งนี้เนื่องจากกว่าทั้ง amikacin และ vancomycin มีความคงตัว ซึ่งได้ปรากฏในรายงานว่า amikacin เป็นยาที่มีความคงตัวที่สุดในกลุ่ม aminoglycosides²⁹⁻³⁰

การทดลองในครั้งนี้แม้ว่าจะไม่แสดงผลอย่างเด่นชัดในปฏิกิริยา inactivation ดังเช่นปรากฏในรายงานครั้งก่อน ๆ²⁶⁻²⁷ ทั้งนี้เนื่องจากว่าสภาวะในการทดลองนั้นแตกต่างกัน ในการทดลองที่ผ่านมาล้วนใช้ความเข้มข้นของยาในกลุ่ม penicillins ในความเข้มข้นที่สูงมาก ซึ่งไม่คาดว่าจะพบในความเป็นจริงของการใช้ยาทั่วไป และความเข้มข้นของ aminoglycosides ที่ใช้ในการทดลองดังกล่าวก็มักใช้ความเข้มข้นที่ค่อนข้างต่ำ นอกจากนี้เวลาที่ใช้ทดสอบปฏิกิริยาก็ยาวนานถึง 72 ชั่วโมง และอุณหภูมิที่ใช้ทดสอบนั้นต่ำถึงระดับ -70°C ซึ่งไม่สอดคล้องกับความเป็นจริงของการส่งตรวจตัวอย่างเลือดในห้องปฏิบัติการโดยทั่ว ๆ สำหรับการทดลองในครั้งนี้ขอแนะนำได้ว่า หากมีตัวอย่างเลือดซึ่งมียาในกลุ่ม aminoglycosides และกลุ่ม penicillins หรือกลุ่ม cephalosporins อยู่ร่วมด้วยควรส่งตรวจทันที หรืออาจเก็บไว้ในตู้เย็นช่องธรรมดาจนกว่าจะถึงเวลาตรวจ หากต้องการเก็บไว้นานอาจต้องปั่นเหวี่ยงแยกเก็บไว้เฉพาะส่วนพลาสมาแช่แข็งรอเวลาการตรวจวิเคราะห์