บทที่ 3

วิธีการดำเนินการวิจัย

เป็นการศึกษาวิจัยเชิงวิเคราะห์ (Analytical research) แบบเก็บข้อมูลไปข้างหน้า (prospective study) ในผู้ป่วยระยะติดตามผลรูปแบบผู้ป่วยใน ผู้ป่วยนอกและกาย จิต สังคมบำบัด จำนวน 45 ราย โดยคัดเลือกทั้งชายและหญิง โดยทำการเก็บข้อมูลและวิเคราะห์ตัวอย่างระหว่างวันที่ 1 เมษายน 2554 ถึง 31 สิงหาคม 2554

1. กลุ่มตัวอย่างและขั้นตอนการดำเนินการ

1.1 เกณฑ์การคัดเลือกอาสาสมัครเข้าร่วมโครงการ

- เป็นผู้ป่วยใน ผู้ป่วยนอกและกาย จิต สังคมบำบัด
- ให้ความร่วมมือในการทำวิจัย รวมทั้งการตอบแบบสอบถาม
- ผมยาวมากกว่า 3 เซนติเมตร

1.2 กลุ่มตัวอย่างที่ทำการตรวจตัวอย่างจากปัสสาวะด้วยชุดตรวจสำเร็จรูป

- อาสาสมัครผู้เข้าร่วมโครงการวิจัยได้รับการอธิบายโดยละเอียด เกี่ยวกับการศึกษาวิจัยจากผู้วิจัยตามเอกสารแนะนำโครงการ พร้อมลงนามในใบยินยอมให้ทำการวิจัย (ภาคผนวก ก)
- อาสาสมัครผู้เข้าร่วมโครงการวิจัยได้รับการสัมภาษณ์ตามแบบสอบถาม ข้อมูลทั่วไป ประวัติการใช้แอมเฟตามีน ประวัติการรักษาและรายละเอียดอื่นๆ (ภาคผนวก ข)
- อาสาสมัครผู้เข้าร่วมโครงการวิจัยเก็บตัวอย่างปัสสาวะปริมาณอย่างน้อย 60 มิลลิลิตร
- ทดสอบด้วยชุดตรวจสำเร็จรูป

1.3 กลุ่มตัวอย่างที่ทำการตรวจตัวอย่างจากเส้นผมด้วยเครื่อง Gas Chromatograph

- ขออนุญาตเก็บเส้นผมจากกลุ่มตัวอย่าง โดยการอธิบายและให้ความยินยอมเป็นผู้ร่วมวิจัยด้วยวาจา (Verbal informed consent)
- ซักถามประวัติการใช้สารเสพติดในระยะเวลาที่ผ่านมาตามแบบสัมภาษณ์ ซึ่งจะไม่มีการระบุชื่อผู้ถูกสัมภาษณ์

- ใช้กรรไกรสะอาดตัดเส้นผมประมาณ 50 มิลลิกรัม (ยาวประมาณ 3 เซนติเมตร) จากบริเวณกระหม่อมด้านหลังของศีรษะ (posterior vertex) โดยตัดให้ชิดโคนผมยาวออกมาประมาณ 3 เซนติเมตร และทำเครื่องหมายติดไว้ที่ปลายส่วนของเส้นผม เก็บเส้นผมใส่ไว้ในซองพลาสติกใสที่สะอาด
- วิเคราะห์ด้วยเทคนิค Gas Chromatography

2. วัสดุอุปกรณ์และสารเคมี

- Gas Chromatograph / Nitrogen phosphorus detector (Shimadzu, model 2010), AOC 5000 autosampler with Solid Phase Microextraction (SPME) mode
- SPME : Polydimethylsiloxane/divinylbenzene (PDMS/DVB) fiber (Supelco)
- Column: HP-5, 30 m.0.25 mm, 0.25 um.
- สารมาตรฐานจาก Alltech : Methamphetamine hydrochloride, Amphetamine Hydrochloride
- Benzaldehyde (Internal standard, IS), HCl, K_2CO_3 (Merck)
- Acetone (JT Baker)

3. การวิเคราะห์สารกลุ่มแอมเฟตามีนในเส้นผม

การวิเคราะห์จะแบ่งเส้นผมเป็นช่วงๆ โดยนำเส้นผมตัด 3 เซนติเมตรจากด้านชิดโคนผมมาตัดแบ่งเป็นท่อนๆ ละ 1 เซนติเมตร ท่อนที่ 1 คือ ส่วนที่ชิดโคน ท่อนที่ 2 คือ ส่วนที่ถัดมา และท่อนที่ 3 คือ ส่วนที่ห่างจากโคน 2 เซนติเมตร ซึ่งแต่ละท่อนจะสัมพันธ์กับประวัติการใช้สารในแต่ละเดือนที่ผ่านมา การวิเคราะห์หาสารเมทแอมเฟตามีนในเส้นผมดำเนินการตามขั้นตอนดังนี้

3.1 การล้างเส้นผม

นำเส้นผมแต่ละท่อนที่ตัดแยกใส่หลอดแก้วทดลอง ทำการล้างด้วยน้ำกลั่น 5 มิลลิลิตร และเขย่าวน (Vortex) 1 นาที และเทน้ำทิ้งทำทั้งหมด 3 ครั้ง หลังจากนั้นทำการล้างด้วย Acetone 5 มิลลิลิตรเขย่าวน (Vortex) 1 นาทีและเทน้ำทิ้ง ก่อนนำเส้นผมไปทำให้แห้งโดยทำการอบที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง จากนั้นเก็บเส้นผมไว้ที่อุณหภูมิห้องเพื่อนำไปสกัดต่อไป

3.2 การสกัดสารเมทแอเฟตามีนจากเส้นผม

นำเส้นผมมาตัดให้มีความยาวประมาณ 1-2 มิลลิเมตร และชั่งให้ได้น้ำหนักประมาณ 15 มิลลิกรัม ทำการเติมสารสกัด คือ 1 M. HCl ปริมาตร 200 ul. และนำไป Incubate ที่ 60°C เป็นเวลา 1 ชั่วโมง หลังจากทำการ incubate ปล่อยให้เย็น ดูดสารสกัด 200 ul. ใส่ Headspace vial ขวดใหม่ ขนาด 10 ml. ผสมกับ 1 M K_2CO_3 ปริมาตร 1650 ul. และสารมาตรฐานภายใน (IS) 150 ul. วางใน Auto sampler tray เพื่อนำไปตรวจวิเคราะห์ด้วย SPME-GC-NPD

3.3 การสกัดและวิเคราะห์ด้วย SPME-GC-NPD

SPME program: Incubation 90 c (5 min), absorption time 10 min, desorption time 5 min

GC-NPD program: Inlet temperature 250 c

Oven temperature 60 c (2 นาที), 20 c/นาที, 280 c

Detector temperature 290 c

Carrier gas: Helium 1 ml/min.

3.4 การรายงานผล

- เปอร์เซ็นต์ของผู้เสพสารเมทแอมฟตามีนที่ตรวจพบในเส้นผม

- เปอร์เซ็นต์ของผู้เสพสารเมทแอมเฟตามีนที่ตรวจพบในเส้นผมต่อปัสสาวะจากการตรวจด้วยวิธีตรวจคัดกรอง