

บทที่ 3

วิธีการดำเนินการวิจัย

3.1 รูปแบบการวิจัย (research design)

เป็นการศึกษาไปข้างหน้า (Prospective study)

3.2 ระเบียบวิธีการวิจัย (research methodology)

ประชากร (population) และตัวอย่าง (sample)

- ประชากรเป้าหมาย คือ ผู้ป่วยที่มีน้ำในเยื่อหุ้มปอดแบบกึ่งเฉียบพลันและเรื้อรังชนิดที่เป็นหนองและมีเม็ดเลือดขาวลิมโฟไซต์สูง (exudative lymphocytic pleural effusion)
- ประชากรตัวอย่าง คือ ผู้ป่วยที่มีน้ำในช่องเยื่อหุ้มปอดแบบกึ่งเฉียบพลันและเรื้อรังชนิดที่เป็นหนองและมีเม็ดเลือดขาวลิมโฟไซต์สูง (exudative lymphocytic pleural effusion) ที่มีอายุมากกว่า 15 ปี ทั้งผู้ป่วยในและผู้ป่วยนอกของโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์สภากาชาดไทย ตั้งแต่เดือน กุมภาพันธ์ 2545 ถึง เดือนมกราคม 2547

เกณฑ์การคัดเลือกผู้ป่วยเข้าสู่การศึกษาวิจัย(inclusion criteria)

- เป็นผู้ป่วยที่มีน้ำในช่องเยื่อหุ้มปอดแบบกึ่งเฉียบพลันและเรื้อรังชนิดที่เป็นหนองและมีเม็ดเลือดขาวลิมโฟไซต์สูง(exudative lymphocytic pleural effusion) ที่มีอายุมากกว่า 15 ปีที่มารักษาโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ ทั้งผู้ป่วยในและผู้ป่วยตั้งแต่เดือน กุมภาพันธ์ 2545 ถึง เดือนมกราคม 2547

เกณฑ์การคัดเลือกผู้ป่วยออกจากการศึกษาวิจัย(exclusion criteria)

- 1.ผู้ป่วยที่มีน้ำในช่องเยื่อหุ้มปอดแบบกึ่งเฉียบพลันและเรื้อรังชนิดที่เป็นหนองและมีเม็ดเลือดขาวลิมโฟไซต์สูงที่มีข้อมูลน้ำเยื่อหุ้มปอดไม่ครบ
- 2.มีบาดแผลติดเชื้อบริเวณที่จะทำการเจาะน้ำจากช่องเยื่อหุ้มปอด
- 3.ไม่สามารถติดตามการรักษาจนครบ 3-6 เดือน

3.3 คำนิยามเชิงปฏิบัติการ (operational definition)

3.3.1 อาการและอาการแสดงของวัณโรคเยื่อหุ้มปอด

ผู้ป่วยจะมีอาการไข้กึ่งเฉียบพลันหรือเรื้อรัง ไอเรื้อรัง ซึ่งอาจมีเสมหะปนเลือด หรือไอเป็นเลือด หอบเหนื่อย เจ็บหน้าอกหรือเจ็บใต้ชายโครง โดยมีอาการไม่น้อยกว่า 7 วันและตรวจร่างกาย: เคาะที่บบริเวณชายโครง และฟังเสียงลมหายใจเบาลง (decrease breath sound) และ vocal resonance ลดลง และเอกซเรย์ปอด พบมีน้ำในเยื่อหุ้มปอด (pleural effusion)

3.3.2 น้ำในช่องเยื่อหุ้มปอดแบบกึ่งเฉียบพลันและเรื้อรังชนิดที่เป็นหนองและมีเม็ดเลือดขาวลิมโฟไซต์สูง (exudative lymphocytic pleural effusion) คือน้ำเยื่อหุ้มปอดที่มีคุณลักษณะใดลักษณะหนึ่งหรือหลายลักษณะ ดังนี้⁽²⁰⁾

- 1) มีระดับเอนไซม์ LDH ของน้ำเยื่อหุ้มปอดมากกว่า 2 ใน 3 ส่วนของระดับในซีรัม
- 2) อัตราส่วนของระดับโปรตีนในน้ำเยื่อหุ้มปอดต่อโปรตีนในซีรัม มากกว่า 0.5
- 3) อัตราส่วนของเอนไซม์ LDH ในน้ำเยื่อหุ้มปอดต่อโปรตีนในซีรัม มากกว่า 0.6

ร่วมกับการนับแยกเซลล์ (differential cell count) มีเม็ดเลือดขาวชนิด ลิมโฟไซต์ มากกว่าร้อยละ 50 โดยระดับน้ำตาลกลูโคสของน้ำเยื่อหุ้มปอดอาจต่ำหรือปกติก็ได้ เมื่อเทียบกับในซีรัม

3.3.3 หลักเกณฑ์การวินิจฉัยวัณโรคเยื่อหุ้มปอดคือ^(5,8,14) เป็นผู้ป่วยที่มีน้ำในช่องเยื่อหุ้มปอดแบบกึ่งเฉียบพลันและเรื้อรังชนิดที่เป็นหนองและมีเม็ดเลือดขาวลิมโฟไซต์สูง (exudative lymphocytic pleural effusion) ร่วมกับข้อใดข้อหนึ่งหรือหลายข้อ ดังนี้

- 1) Definite tuberculous pleuritis คือ
 - 1.1) สามารถเพาะเชื้อวัณโรค(tuberculous mycobacterium) ได้จากน้ำเยื่อหุ้มปอด
หรือ
 - 1.2) การย้อมAcid Fast Bacilli (AFB) น้ำเยื่อหุ้มปอดหรือเนื้อเยื่อหุ้มปอดให้ผลบวก
- 2) Probable tuberculous pleuritis คือ ไม่เข้าเกณฑ์ในการวินิจฉัยข้อ 1) และผลการตรวจทางเนื้อเยื่อวิทยา (Tissue pathology) ของเนื้อเยื่อหุ้มปอดพบ ลักษณะการอักเสบแบบ granulomatous และตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาต้านวัณโรค
- 3) Possible tuberculous pleuritis คือ ไม่เข้าเกณฑ์ในการวินิจฉัยข้อ 1) และผลการตรวจทางเนื้อเยื่อวิทยา(Tissue pathology) ของเนื้อเยื่อหุ้มปอดพบลักษณะการอักเสบแบบไม่จำเพาะ (Nonspecific inflammation) และตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาต้านวัณโรค

3.4 การคำนวณขนาดตัวอย่าง

$$\text{จากสูตร } n = \frac{Z^2 1-\alpha/2 \pi (1-\pi)}{e^2}$$

$$Z^2 1-\alpha/2 = 1.96$$

$$\pi = 98 \% \text{ หรือ } 0.98 \text{ (เป็นค่าความไวของการทดสอบ}$$

สิ่งส่งตรวจจากทางเดินหายใจด้วยBDProbeTecETโดย Pfyffer และคณะ⁽²²⁾จากการทบทวนวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง)

$$e = \text{ค่าความคลาดเคลื่อน } 5 \% \text{ หรือ } 0.05$$

$$\text{แทนค่า } n = \frac{(1.96)^2 0.98 \times 0.02}{(0.05)^2}$$

n คือผู้ป่วยวัณโรคเยื่อหุ้มปอด = 30 ราย (คิดเป็น 40 %ของผู้ป่วยที่มีน้ำในช่องเยื่อหุ้มปอดทั้งหมดทุกสาเหตุ)

$$\text{ผู้ป่วยที่มีน้ำในช่องเยื่อหุ้มปอดที่ไม่ใช่วัณโรคเยื่อหุ้มปอด} = \frac{60 \times 30}{40}$$

$$= 45 \text{ ราย}$$

$$\text{ต้องใช้ผู้ป่วยกลุ่มตัวอย่างทั้งสิ้น } 45 + 30 = 75 \text{ ราย}$$

3.5 การดำเนินการวิจัย

- ขั้นตอนและวิธีการเก็บตัวอย่างส่งตรวจ

1. เก็บน้ำเยื่อหุ้มปอดโดยใช้เข็มเจาะดูดน้ำ 100 มิลลิลิตร แบ่งเป็น 3 ส่วน

ส่วนแรก 40 มิลลิลิตร ส่งย้อม acid fast bacilli , เพาะเชื้อวัณโรค และ ส่งตรวจวิธี

BD ProbeTecET System

ส่วนที่สอง 50 มิลลิลิตร ส่งตรวจ cytology เพื่อหาเซลล์มะเร็ง

ส่วนที่สาม 10 มิลลิลิตร ส่งนับจำนวนเซลล์ (cell count), ตรวจระดับโปรตีน และ

เอนไซม์ LDH

2. เก็บชิ้นเนื้อเยื่อหุ้มปอด (pleural biopsy) โดยใช้ Abrams' needle ให้ได้เนื้อเยื่อหุ้มปอด (pleural tissue) อย่างน้อย 2 ชิ้น โดยแยกชิ้นเนื้อเพื่อศึกษาทางเนื้อเยื่อวิทยา (histology)

3. เจาะเลือดส่งตรวจหาระดับโปรตีนและเอนไซม์ lactate dehydrogenase(LDH) ในเวลาใกล้เคียงกับการเจาะน้ำเยื่อหุ้มปอด

การเพาะเชื้อน้ำเยื่อหุ้มปอดโดยใช้ โดยวิธี MGIT 960 automated system ที่อุณหภูมิ 35-37 องศาเซลเซียส อ่านผลบวกที่ 15-17 วันและผลเพาะเชื้อให้ผลลบที่ 45 วัน กรณีเพาะเชื้อ MGIT 960 automated system ให้ผลบวก จะส่งเพาะเชื้อต่อด้วย solid media ชนิด Ogawa ที่อุณหภูมิ 35-37 องศาเซลเซียส และอ่านผลลบที่ 60 วัน

3.6 การรวบรวมข้อมูล (data collection)

1. จากการซักประวัติ, ตรวจร่างกาย, และเวชระเบียน
2. จากการติดตามผลการรักษา
3. ผลการวินิจฉัยน้ำเยื่อหุ้มปอด และเนื้อเยื่อปอดจากใบรายงานผลที่เป็นทางการของ ภาควิชาจุลชีววิทยา และภาควิชาพยาธิวิทยา

3.7 การวิเคราะห์ข้อมูล (data analysis)

วิเคราะห์ข้อมูลด้วยโปรแกรม SPSS version 10.0

1. ข้อมูลทั่วไปของผู้ป่วย เช่น อายุ เพศ ระยะเวลาเจ็บป่วย โรคประจำตัว ภูมิลำเนา อาการและอาการแสดง ลักษณะน้ำเยื่อหุ้มปอด และผลการวินิจฉัย วิเคราะห์ข้อมูลด้วยสถิติ Frequency, Percentage and Mean

2. เปรียบเทียบผลการวินิจฉัยน้ำเยื่อหุ้มปอดของวิธี BDProbeTec ET System เมื่อเทียบกับวิธีวินิจฉัยมาตรฐานคือการย้อม AFB, culture and tissue pathology โดยใช้ Sensitivity, specificity, positive predictive value and negative predictive value