

## บทที่ 3

### วิธีดำเนินการวิจัย

#### ระเบียบวิธีการวิจัย

##### 1. ประชากรที่ศึกษา (Population)

##### ประชากรเป้าหมาย (Target Population)

ทำการศึกษาในผู้ป่วยเด็กอายุต่ำกว่า 15 ปี ที่มารับการตรวจรักษาที่รพ.จุฬาลงกรณ์และ รพ. สวรรค์ประชารักษ์ จังหวัดนครสวรรค์ที่ได้รับการวินิจฉัยทางคลินิกว่าเป็นผู้ป่วยที่สงสัยการติดเชื้อไวรัสแดงกี

##### กฎเกณฑ์การคัดเลือกผู้เข้ารับการศึกษ (Inclusion Criteria)

1. อายุต่ำกว่า 15 ปี
2. เข้ารับการรักษาที่โรงพยาบาลด้วยอาการไข้
3. ได้รับการวินิจฉัยทางคลินิกว่าอาจมีการติดเชื้อไวรัสแดงกี

##### กฎเกณฑ์การคัดเลือกรอกจากการศึกษา (Exclusion Criteria)

1. สามารถอธิบายไข้ได้จากสาเหตุอื่น
2. ผู้ป่วยซึ่งได้รับการวินิจฉัยเบื้องต้นว่าเป็น DHF แต่ผลการตรวจทางภูมิคุ้มกันวิทยา ภายหลังยืนยันว่าไม่เป็นการติดเชื้อไวรัสแดงกี
3. ผู้ป่วยที่มีโรคที่อาจเป็นสาเหตุที่ทำให้ค่า lactate ในเลือดสูงอยู่ก่อน เช่น โรคหัวใจ, โรคผิดปกติทางเมตาบอลิซึม, โรคเบาหวาน เป็นต้น
4. ผู้ป่วยที่ปฏิเสธเข้าร่วมโครงการวิจัย

##### 2. การคำนวณขนาดตัวอย่าง (Sample size)

- การหาขนาดตัวอย่างสำหรับเปรียบเทียบ 2 กลุ่ม ในกรณีที่ไมทราบค่าความแปรปรวน
- เก็บตัวอย่างกลุ่มผู้ป่วยที่เป็น DF, DHF จำนวน 5 คน/กลุ่ม
- DF; 1.2, 1.9, 2.3, 2.9, 3.3  
;  $\mu_1 = 2.32, s_1 = 0.83$
- DHF ; 2.4, 2.7, 2.8, 3.5, 3.7  
;  $\mu_2 = 3.02, s_2 = 0.55$

$$\text{➤ แทนสูตร } n = \frac{2(Z_{\alpha/2} + Z_{\beta})^2 \delta^2}{(\mu_1 - \mu_2)^2}$$

$$\text{➤ } \delta^2 = \frac{(n_1 - 1)S_1^2 + (n_2 - 1)S_2^2}{n_1 + n_2 - 2}$$

$$\text{➤ กำหนดค่า } \alpha = 0.05, Z_{\alpha/2} = 1.96, \beta = 0.1, Z_{\beta} = 1.28$$

$$\begin{aligned} \text{➤ ได้ } n &= \frac{2(1.96 + 1.28)^2 \times 0.496}{0.49} \\ &= 21.19 \end{aligned}$$

### 3. การสังเกตและการวัด (Observation and Measurement)

#### การเก็บตัวอย่าง (Sample collection and storage)

- การเจาะเก็บเลือดทำโดยแพทย์ประจำหอผู้ป่วย
- เจาะเลือดทำการเจาะเลือดบริเวณมือ หรือ แขนบริเวณเส้นเลือดดำ เพื่อเก็บ clot blood จำนวน 2 ซี.ซี. ในวันรับเข้านอนโรงพยาบาล และในวันก่อนออกจากโรงพยาบาล เพื่อส่งตรวจยืนยันการติดเชื้อไวรัสเดงกี ทำการตรวจโดยสถาบันวิจัยแพทยทหาร Armed Forces Research Institute of Medical Sciences (AFRIMS) โดยใช้วิธีการตรวจวัดระดับภูมิคุ้มกันต่อโรคไข้เลือดออก (Dengue Antibody Titer) ด้วยวิธี ELISA ในกรณีที่ผู้ป่วยไม่มีผล ELISA ยืนยันชัดเจนสามารถใช้ผล positive PCR แทนได้
- กลุ่มตัวอย่างทุกคนจะได้รับการเจาะเลือดที่ปลายนิ้วตามปกติ อันเป็นส่วนหนึ่งของการดูแลรักษา (เพื่อปั่น hematocrit) แบ่งเลือดมาส่วนหนึ่งเพื่อใช้ในการหาค่า lactate ในเลือด
- ผู้ป่วยที่สงสัยเป็นโรคไข้เลือดออกทุกคนที่การดำเนินของโรคระยะแรก คือระยะที่มีไข้ จะได้รับการเจาะเลือดจากปลายนิ้วมือจำนวน 1 หยดลงบนเครื่องตรวจวัดค่า lactate ในเลือด
- ผู้ป่วยที่สงสัยเป็นโรคไข้เลือดออกทุกคนที่การดำเนินของโรคเข้าสู่ระยะที่ 2 คือระยะวิกฤต จะได้รับการเจาะเลือดจากปลายนิ้วมือพร้อมกับการตรวจหาค่าความเข้มข้นของเลือด (Hematocrit) ที่ต้องเจาะตามปกติอันเป็นส่วนหนึ่งของการรักษา โดยแบ่งเลือดจำนวน 1 หยดลงบนเครื่องตรวจวัดค่า lactate ในเลือด โดยเจาะภายใน 6 ชั่วโมงหลังจากเข้าระยะวิกฤต และ

หลังจากนั้น 12 ชั่วโมงอีกเป็นจำนวนอย่างน้อย 1 ครั้ง พร้อมเก็บเก็บข้อมูลการให้สารน้ำใน 12 ชั่วโมงหลังจากเข้าระยะวิกฤต

- ผู้ป่วยที่สงสัยเป็นโรคไข้เลือดออกทุกคนที่การดำเนินของโรคเข้าสู่ระยะที่ 3 คือระยะพักฟื้น จะได้รับการเจาะเลือดจากปลายนิ้วมือจำนวน 1 หยดลงบนเครื่องตรวจวัดค่า lactate ในเลือด และทำการตรวจ ultrasound เพื่อหาปริมาณน้ำในช่องเยื่อหุ้มปอด และวัดค่า pleural effusion index

หมายเหตุ-กลุ่มตัวอย่างทุกคนจะได้รับการการแบ่งเลือดปลายนิ้วมือจากการเจาะตามปกติอันเป็นส่วนหนึ่งของการรักษา แบ่งเลือดปริมาณ 1 หยด(15-50 ไมโครลิตร) เพื่อใช้ในการตรวจหาค่า lactate ในเลือด โดยใช้เครื่อง hand-held portable blood lactate analyzer (ในการศึกษานี้ใช้เครื่อง Accutrend Lactate (Accusport), Roche Diagnostics Ltd, Germany) ซึ่งหยดเลือดลงบน แผ่นทดสอบ BM-lactate เครื่องใช้เวลานานในการวิเคราะห์ประมาณ 60 วินาที เครื่องอ่านค่า lactate ในเลือดออกมาเป็นตัวเลข ช่วงการตรวจวัดในเลือด 0.8-22 mmol/L โดยค่า lactate ในเลือดที่  $\leq 2.2$  mmol/L ถือว่าปกติ<sup>(17)</sup>

-กลุ่มตัวอย่างทุกคนจะได้รับการเจาะเลือดจากปลายนิ้วเพื่อตรวจหาค่า lactate ในเลือดเป็นจำนวนทั้งหมด 4 ครั้ง โดยทำการตรวจในช่วงระยะไข้ 1 ครั้ง, ระยะวิกฤต 2 ครั้ง (เจาะภายใน 6 ชั่วโมงหลังจากที่เข้าระยะวิกฤต และเจาะห่างจากครั้งแรก 12 ชั่วโมง), ระยะพักฟื้น 1 ครั้ง

-ค่า Pleural effusion index

วัดจาก ความกว้างที่มากที่สุดของน้ำในช่องเยื่อหุ้มปอดข้างขวา

X 100 (%)

ความกว้างที่มากที่สุดของทรวงอกข้างขวา

#### เครื่องมือที่ใช้ในการวัด

- แบบสอบถามข้อมูลพื้นฐาน

- อุปกรณ์การเก็บเลือด

- เครื่องมือที่ใช้ในการหาค่า lactate ในเลือดโดยเจาะเลือดจากปลายนิ้วมือ

(Hand-held portable blood lactate analyzer)

- เครื่อง Ultrasound ที่ใช้หาปริมาณน้ำในช่องเยื่อหุ้มปอด และวัดค่า Pleural effusion index ในระยะพักฟื้น

#### 4. การเก็บรวบรวมข้อมูล

- ผู้ป่วยและ/หรือผู้ปกครองจะได้รับคำชี้แจงถึงความสำคัญและที่มาของการวิจัยและยินยอมให้ผู้ป่วยเข้าร่วมในการศึกษาวิจัยครั้งนี้
- บันทึกข้อมูลพื้นฐานของผู้ป่วยเมื่อแรกรับ โดยผู้วิจัยสอบถามจากผู้ป่วย บิดามารดา และข้อมูลจากเวชระเบียนผู้ป่วย บันทึกอาการทางคลินิก รวมทั้งผลการตรวจทางห้องปฏิบัติการ
- แบ่งเลือดจากตัวอย่างเลือดทุกวันที่มีการเก็บตัวอย่างเลือดเพื่อใช้ในการตรวจหาค่า lactate ในเลือด
- เก็บรวบรวมข้อมูลและบันทึกการให้สารน้ำทางหลอดเลือดดำทุกครั้งที่จะเจาะเลือด
- เก็บตัวอย่างเลือดเพื่อส่งตรวจยืนยันการติดเชื้อไวรัสเดงกีในวันแรกรับ และวันที่จำหน่ายออกจากโรงพยาบาล
- ทำการตรวจ Ultrasound เพื่อหาปริมาณน้ำในช่องเยื่อหุ้มปอด และวัดค่า Pleural effusion index ในระยะพักฟื้น
- บันทึกการวินิจฉัยสุดท้ายโดยแบ่งตามความรุนแรงของโรคตาม WHO criteria 1997 ดังตารางที่ 1
- ข้อมูลที่ได้จากผู้ป่วยจะถูกบันทึกลงในแบบฟอร์มและทำการเก็บข้อมูลทั้งหมดลง
- ในคอมพิวเตอร์เพื่อนำมาตรวจสอบและวิเคราะห์ทางสถิติต่อไป

#### 5. การวิเคราะห์ข้อมูล

- การวิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้สถิติเชิงพรรณนา (descriptive statistics) ใช้ในการวิเคราะห์ข้อมูลทางระบาดวิทยาโดยใช้ค่าเฉลี่ย (mean), ร้อยละ (percent), ค่าสูงสุด (maximum), ค่าต่ำสุด (minimum)
- การเปรียบเทียบความแตกต่างของค่า lactate ในเลือดของผู้ป่วยกลุ่ม DF, DHF ที่ไม่ช็อก และ DSS โดยใช้วิธี one-way ANOVA
- การหาความสัมพันธ์ระหว่างค่า lactate ในเลือดที่เจาะช่วงระยะวิกฤต กับปริมาณสารน้ำที่ให้ทางเส้นเลือดดำ และปริมาณน้ำในช่องเยื่อหุ้มปอด โดยใช้วิธี linear regression
- การวิเคราะห์ทางสถิติจะเสร็จสมบูรณ์โดยใช้โปรแกรม SPSS 13.5 ค่า P ทั้งหมดที่  $\leq 0.05$  จะสันนิษฐานว่ามีนัยสำคัญทางสถิติ

## 6. งบประมาณ

- ค่าเครื่องมือที่ใช้ในการหาค่า lactate ในเลือดโดยใช้เลือดจากปลายนิ้วมือ (Hand-held portable blood lactate analyzer) ราคาเครื่องละ 20,000 บาท จำนวน 2 เครื่อง คิดเป็นจำนวนเงิน 40,000 บาท
- ค่า Test strip ที่ใช้ในการตรวจหาค่า lactate ในเลือด ราคา 40 บาทต่อครั้ง
- ประมาณการเจาะเลือดจากปลายนิ้วมือเพื่อใช้ตรวจค่า lactate ในเลือด 4 ครั้งต่อคน คิดเป็นจำนวนเงิน 160 บาทต่อคน
- จำนวนประชากรที่ใช้ในการศึกษาประมาณ 30 คน
- ดังนั้น ค่าใช้จ่ายโดยรวม ประมาณ 44,800 บาท  
(40,000 + <4 ครั้ง/ คน x 40 บาท/ ครั้ง x 30 คน>)