



บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

3.1 รูปแบบการวิจัย (Research design)

การวิจัยเชิงพรรณนาจากการสำรวจเพียงรอบเดียวโดยไม่มีการทดลองหรือเปรียบเทียบ (Single cross-sectional observational study)

3.2 ระเบียบวิธีการวิจัย (Research methodology)

ประชากร(population)และตัวอย่าง(sample)

กฎเกณฑ์ในการคัดเลือกเข้ามาศึกษา (Inclusion criteria)

1. ประชากรไทยอายุ 18 ปีขึ้นไปที่สามารถให้ความยินยอมได้

กฎเกณฑ์ในการคัดเลือกออกจากศึกษา (Exclusion criteria)

1. หญิงมีครรภ์

2. ผู้ไม่ให้ความยินยอมหรือไม่สามารถให้ความยินยอมได้

กลุ่มตัวอย่างทุกรายที่สามารถมารับการตรวจเลือดหรือตรวจสุขภาพได้ถือว่าเป็นผู้ยังไม่มีอาการตามคำจำกัดความในการศึกษานี้ถ้าไม่ระบุไว้อย่างอื่น เนื่องจากถือว่าผู้มีอาการควรต้องมาพบแพทย์ก่อนแล้วดังกล่าวในบทนำ ดังนั้นจะไม่ตัดผู้มีปัจจัยเสี่ยงหรือทราบว่าเม็ดเลือดขาวต่ำอยู่แล้วออกจากการศึกษาก่อนเพื่อหลีกเลี่ยงอคติจากการรายงานโรคประจำตัวหรืออาการจากกลุ่มตัวอย่าง (reporting bias หรือ recall bias)

เทคนิคในการสุ่มตัวอย่าง (Sampling techniques)

Target population ประชากรไทยอายุ 18 ปีขึ้นไป

Sample population ประชากรไทยอายุ 18 ปีขึ้นไป และอยู่ในกรุงเทพหรือจังหวัดที่

สามารถเดินทางไปกลับกรุงเทพได้ใน 1 วัน

ใช้การสุ่มตัวอย่างโดยวิธี Stratified sampling ตามเพศและอายุ

การสังเกตและการวัด (Observation and measurement)

การสังเกต : ใช้แบบสอบถาม

1. ข้อมูลพื้นฐานทั่วไป

2. โรคประจำตัว อาการ หรือปัจจัยเสี่ยงต่อการเกิดโรค

การวัด

1. ในกลุ่มตัวอย่างทุกราย

- Complete blood count (CBC) ส่งที่ห้องปฏิบัติการกลางของภาควิชาเวชศาสตร์
ชั้นสูง ร.พ.จุฬาลงกรณ์ โดยใช้เครื่อง automated hematology analyzer:
ADVIA120 เป็นมาตรฐานเดียวกันหมดภายในวันที่เก็บตัวอย่าง
- บันทึกน้ำหนัก, ส่วนสูง และรอบเอว เพื่อนำมาประเมิน nutritional status

2. ในกลุ่มตัวอย่างที่มีภาวะเม็ดเลือดขาวชนิดนิวโทรฟิลต่ำ

- ใช้ serum ที่เก็บไว้ตรวจหาปัจจัยเสี่ยงดังนี้
 - Exclude chronic disease: Creatinine, Liver function tests
 - Infectious marker: anti-HIV, HBs Ag, anti-HCV
 - Autoimmune disease: ANA, Rheumatoid factor
 - Thyroid disease: TSH, Free T3/T4 ถ้าผล TSH ผิดปกติ
 - Malnutrition: Ferritin, vitamin B12, folate, (albumin)
- ในกลุ่มที่ติดตามได้ ติดต่อกลับมาตรวจซ้ำหลัง 3 เดือน
 - ตรวจร่างกาย: มีม้ามโตหรือไม่, อาการแสดงของการติดเชื้อ โดยเฉพาะ
chronic gingivitis หรือ periodontitis
 - ตรวจ CBC ซ้ำยืนยันว่ามี persistent neutropenia ร่วมกับเก็บตัวอย่างเลือด
เพิ่มเพื่อตรวจ anti-neutrophil antibodies และเก็บไว้เพื่อปั่นแยก serum แขนง
แข็งไว้เผื่อต้องการตรวจเพิ่มเติมในอนาคตอีก 5 ลูกบาศก์เซนติเมตร
 - Bone marrow study: aspiration and biopsy, cytogenetic study ถ้ายังมี
ข้อบ่งชี้

ข้อตกลงเบื้องต้น (Assumption)

จำนวนเม็ดเลือดของประชากรไทยในแต่ละท้องถิ่นไม่แตกต่างกันในทางคลินิก (เนื่องจากสามารถใช้ reference range เดียวกันในการรักษาได้ไม่ว่ามาจากจังหวัดใด) จึงกำหนดให้ประชากรในจังหวัดที่เดินทางไปกลับกรุงเทพได้ใน 1 วันสามารถเป็นตัวแทนผลจำนวนเม็ดเลือดของประชากรไทยได้ (เพื่อให้สามารถส่งเลือดตรวจ CBC ในห้องปฏิบัติการเดียวกันได้เป็นมาตรฐาน)

กลุ่มตัวอย่างทุกรายที่สามารถมารับการตรวจเลือดหรือตรวจสุขภาพได้ถือเป็นผู้ยังไม่มีอาการ เนื่องจากถือว่าผู้มีอาการควรต้องมาพบแพทย์ก่อนแล้วดังกล่าวข้างต้นและในบทนำ

3.3 การให้คำนิยามเชิงปฏิบัติที่ใช้ในการวิจัย (Operative definition)

ภาวะเม็ดเลือดขาวชนิดนิวโทรฟิลต่ำ (Neutropenia): Absolute neutrophil count $< 1.5 \times 10^9/L$ [8, 14]

ภาวะเม็ดเลือดขาวชนิดนิวโทรฟิลต่ำโดยที่ไม่มีอาการ (Asymptomatic neutropenia): ในที่นี้ต้องการหมายถึง ผู้ที่มีภาวะเม็ดเลือดขาวชนิดนิวโทรฟิลต่ำโดยที่ไม่มีอาการคือไม่มีปัญหาอันเกิดจากภาวะเม็ดเลือดขาวต่ำ เช่น ไข้, การติดเชื้อ จนต้องไปพบแพทย์เพื่อหาทางรักษาด้วยปัญหานี้ (silent neutropenia) ผู้ป่วยอาจมีอาการเล็กน้อยจากภาวะนี้ได้แต่พบหลังจากการถามประวัตินำย้อนหลังไป อาจผู้ป่วยมีโรคประจำตัวที่ทราบอยู่แล้วได้ แต่ต้องไม่มีปัญหาที่ต้องได้รับการรักษาด้วยภาวะเม็ดเลือดขาวต่ำ

3.4 การคำนวณขนาดตัวอย่าง (Sample size determination)

ใช้สูตรหาค่าสัดส่วนจากกลุ่มตัวอย่างชุดเดียว (one-sample proportion)

$$N = Z_{\alpha/2}^2 PQ/d^2$$

โดย $Z_{\alpha/2}$ ($\alpha = 0.05$) = 1.96, P = Prevalence from previous studies, Q = 1-P

d = maximum error, ใ้ที่ 30% of P

P ที่ได้จากการศึกษาอื่น = 0.79% [14]; P = 0.0079, Q = 0.9921

d = 0.00237 (estimated p = 0.0055-0.0102), N = 5,360 คน

จึงกำหนดจำนวนศึกษาอยู่ที่ 5,400 คน ไม่ได้เผื่อ drop out เนื่องจากเป็นการศึกษาเบื้องต้น และเก็บตัวอย่างแบบ single cross-sectional โอกาสข้อมูลสูญหายจึงมีน้อย

แบ่งกลุ่มตัวอย่างตามเพศและอายุ เป็นกลุ่มชาย-หญิงและอายุมาก-อายุน้อย โดยแบ่งอายุเป็นตั้งแต่ 50 ปีขึ้นไปและต่ำกว่า 50 ปี ให้สอดคล้องไปกับระบบตรวจสุขภาพที่ทำร่วมกัน จากฐานข้อมูลประชากรไทย พ.ศ.2550 [24] สัดส่วนระหว่างประชากรที่อายุระหว่าง 18-49 : 50 ปี ขึ้นไป = 70 : 30, ชาย : หญิง = 50 : 50 จึงวางให้เก็บตัวอย่างในกลุ่มต่ำกว่า 50 ปี 3,780 คน (ชาย 1,890 คน, หญิง 1,890 คน) และกลุ่มอายุตั้งแต่ 50 ปี 1,620 คน (ชาย 810 คน, หญิง 810 คน)

3.5 การดำเนินการวิจัย

ขั้นตอนในการวิจัย

1. เก็บตัวอย่างเลือดจากกลุ่มประชากรศึกษา เพื่อตรวจ CBC และปั่นเก็บ serum ไว้เพื่อตรวจต่อถ้าพบว่าเม็ดเลือดขาวชนิดนิวโทรฟิลต่ำ
2. หลังพบว่าเม็ดเลือดขาวชนิดนิวโทรฟิลต่ำกว่าเกณฑ์แล้ว ติดตามกลุ่มตัวอย่างรายนั้น มาตรวจซ้ำ (ได้ระบุไว้ในใบให้ข้อมูลแล้ว)

3. ถ้าสามารถติดตามผู้ป่วยได้ ให้มาประเมินห่างจากตรวจเลือดครั้งแรกอย่างน้อย 3 เดือน เพื่อตรวจร่างกาย, ตรวจ CBC ซ้ำและเจาะไขกระดูก
4. ผู้ป่วยที่ติดตามไม่ได้ ตรวจหาสาเหตุหรือปัจจัยเสี่ยงจาก serum ที่เก็บไว้อย่างเดียว
5. นำส่วน serum ของผู้ป่วยทุกคนตรวจเพิ่มตามที่ระบุไว้
6. สรุปความชุกของผู้ที่มีภาวะเม็ดเลือดขาวชนิดนิวโทรฟิลต่ำและสาเหตุหรือปัจจัยเสี่ยงที่ตรวจพบในผู้ป่วยแต่ละราย

3.6 การรวบรวมข้อมูล (Data collection)

ข้อมูลที่เก็บรวบรวม ได้แก่

1. ข้อมูลทั่วไป:

- ชื่อ ที่อยู่ เบอร์โทรศัพท์ (ที่สามารถติดต่อได้ แยกเก็บไว้เป็นความลับอีกส่วน ไม่ได้นำมาวิเคราะห์)
- วันที่สัมภาษณ์ วันเดือนปีเกิด (อายุ)
- เพศ
- สถานที่หน่วยตรวจเลือด ภูมิลำเนา
- อาชีพ ระยะเวลาในการทำงาน

2. โรคประจำตัว(รวมถึงโรคทางโลหิตวิทยาและมะเร็ง) การใช้ยา การใช้สมุนไพรและอาหารเสริม การมีประวัติได้รับรังสีรักษา
3. โรคตับและประวัติการติดเชื้ออื่นๆ
4. ประวัติครอบครัว(รวมถึงโรคทางโลหิตวิทยาและมะเร็ง)
5. ประวัติการสูบบุหรี่และดื่มสุรา รวมถึงการใช้สารเสพติดอื่นๆ
6. ประวัติการสัมผัสสารเคมีเป็นประจำ ยาฆ่าอมมม ยาทาเล็บ ยาฆ่าแมลงและกำจัดศัตรูพืช และการอาศัยอยู่ใกล้โรงงานที่ใช้สารเคมี
7. ผลการตรวจทางห้องปฏิบัติการ: CBC และผลการตรวจเพิ่มเติมในกรณีที่มี neutropenia

เก็บข้อมูลจากประชากร 2 กลุ่มใหญ่ คือ

ประชากรในชุมชน : จากออกสำรวจชุมชนในชานเมืองกรุงเทพฯและจังหวัดใกล้เคียงที่สามารถเดินทางไปกลับได้ใน 1 วัน เช่น ชลบุรี สระบุรี นครราชสีมา สมุทรปราการ

ประชากรในเมือง : จากประชากรกรุงเทพฯที่หน่วยงานรับการตรวจสุขภาพประจำปีจากหน่วยตรวจสุขภาพของภาควิชาเวชศาสตร์ป้องกันฯ (ไปยังหน่วยงาน ไม่ใช่ผู้ป่วยที่มายังร.พ. จุฬาลงกรณ์)

ผู้เก็บข้อมูล

ประวัติ: ผู้เข้าร่วมโครงการตอบแบบสอบถาม และผู้วิจัย, ทีมแพทย์หรือบุคคลากรทางการแพทย์(พยาบาล, ผู้ช่วยพยาบาล)ที่มีแพทย์คอยดูแล ตรวจสอบความถูกต้องซ้ำก่อนเก็บการตรวจร่างกายและผลการตรวจอื่นหลังจากพบว่ามีภาวะเม็ดเลือดขาวชนิดนิวโทรฟิลต่ำ:

ผู้วิจัย

การบันทึกข้อมูล

ประวัติ: หลังผู้เข้าร่วมโครงการกรอกแบบสอบถาม ทีมวิจัยตรวจสอบซ้ำ รวบรวมส่งให้เจ้าหน้าที่พิมพ์ข้อมูลลงในฐานข้อมูล access ที่เตรียมไว้แล้ว ผู้วิจัยตรวจสอบซ้ำหลังลงข้อมูล

ผลทางห้องปฏิบัติการ: ผล CBC รายงานจากห้องปฏิบัติการกลาง รวบรวมใบรายงานผลให้เจ้าหน้าที่พิมพ์ข้อมูลลงในฐานข้อมูล ส่วนที่ตรวจจากหน่วยตรวจสุขภาพของร.พ. สามารถใช้ electronic files ถ่ายโอนข้อมูลผลเลือดได้โดยตรง มีผู้วิจัยตรวจสอบซ้ำหลังลงข้อมูลอีกครั้งและเลือกผู้ที่มี ANC < $1.5 \times 10^9/L$ ขึ้นมาทำการศึกษาต่อ

ผลการตรวจร่างกายและผลการตรวจอื่นหลังจากพบว่ามีภาวะเม็ดเลือดขาวชนิดนิวโทรฟิลต่ำ: ผู้วิจัย

3.7 การวิเคราะห์ข้อมูล (Data analysis)

โดยโปรแกรม SPSS 16.0 ผลสัดส่วนทั้งหมดวิเคราะห์ตาม intention to treat analysis

การกระจายของข้อมูล ใช้ Kolmogorov-Smirnov test of normality

การบรรยายลักษณะข้อมูล ที่มีการกระจายเป็น normal distribution ใช้ mean, SD และ 95% confident interval เป็นตัวแทน ข้อมูลที่มีการกระจายไม่เป็น normal distribution ใช้ median และ interquartile range (Q_1 - Q_3)เป็นตัวแทนข้อมูล และแจกแจงโดยละเอียดด้วยการแสดง box plot และค่า outlier

การเปรียบเทียบข้อมูลที่เป็น ratio ใช้ Chi square หรือ Fisher exact test การเปรียบเทียบค่ากลางของข้อมูลที่เป็น 2 ชุดไม่เกี่ยวข้อง ใช้ unpair t-test ถ้าข้อมูลมีการแจกแจงแบบปรกติและ Man-Whitney U test ถ้าไม่เป็นการแจกแจงแบบปรกติ

การทดสอบความสัมพันธ์ ใช้ Chi square ในการทดสอบข้อมูลที่เป็น ratio ใช้ Pearson's correlation ในการทดสอบข้อมูลที่เป็น interval และมีการแจกแจงปรกติ ส่วนข้อมูลที่เป็น interval

แต่การแจกแจงไม่เป็นปกติใช้ Spearman's rank correlation ข้อมูลที่เป็น interval คู่กับ dichotomous ใช้การประมาณค่า point-biserial correlation จากโปรแกรม SPSS ด้วย Pearson product moment correlation[25]

ปัจจัยที่นำมาวิเคราะห์ความสัมพันธ์ ได้แก่

- เพศ
- อายุ กลุ่มอายุ(< 50 ปี, ≥ 50 ปี)
- กลุ่มตัวอย่างจากพื้นที่สำรวจในกรุงเทพฯกับต่างจังหวัด กลุ่มตัวอย่างจากพื้นที่สำรวจในเมืองกับในชุมชน ภูมิภาคต่างๆจากภูมิภาคต่าง(กรุงเทพฯและปริมณฑล, ภาคเหนือ, ภาคกลาง, ภาคอีสาน, ภาคใต้) ช่วงเวลาที่สำรวจ(เดือน, ฤดูหนาว/ฤดูร้อน)
- การมีโรคประจำตัว โรคเบาหวาน โรคความดันโลหิตสูง โรคไขมันในเลือดสูง โรคตับ โรคหลอดเลือดดำอุดตัน โรคเส้นเลือดหัวใจตีบ โรคเส้นเลือดสมองตีบ โรคหลอดเลือดแดงส่วนปลาย โรคทางโลหิตวิทยา โรคมะเร็ง โรคอื่น การติดเชื้อ ยา สมุนไพร อาหารเสริม การได้รับรังสีรักษา ประวัติครอบครัว
- การดื่มแอลกอฮอล์ สูบบุหรี่ การใช้สารเสพติดอื่นๆ
- การมีประวัติสัมผัสสารเคมีเป็นประจำ การย้อมผม การใช้สีทาเล็บ การอาศัยอยู่ใกล้โรงงานหรือแหล่งที่ใช้สารเคมี การใช้ยาฆ่าแมลงหรือสารเคมีทางการเกษตร สัมผัสสารเคมีในชีวิตประจำวัน
- น้ำหนัก ส่วนสูง รอบเอว(นิ้ว) ดัชนีมวลกาย การมีน้ำหนักต่ำกว่าประชากร การมีส่วนสูงต่ำกว่าประชากร การมีรอบเอวต่ำกว่าประชากร การมีดัชนีมวลกายต่ำกว่าประชากร การมีดัชนีมวลกายต่ำกว่าเกณฑ์

การทดสอบความถดถอย ใช้ binary logistic regression สำหรับ outcome ที่เป็น binary outcome ใช้ multiple linear regression ในกรณีที่ outcome เป็น interval และมีการแจกแจงปกติ ในกรณีที่ outcome เป็น interval แต่การแจกแจงไม่เป็นปกติ ทำให้เป็น normal distribution ด้วยการเปลี่ยนเป็นค่า log หรือเปลี่ยนให้เป็น binary outcome แทนแล้ววิเคราะห์ตาม 2 วิธีแรกที่กล่าวมา