

บทที่ 5

วัสดุและวิธีการ

วัสดุ

1. ประชากรและตัวอย่าง

1.1 หลักเกณฑ์ในการคัดเลือก

ก. เป็นผู้ป่วยไทยที่ติดเชื้อเอชไอวี โดยอาศัยเกณฑ์ในการวินิจฉัย คือ มีผลบวกต่อการตรวจหาเอชไอวีแอนติบอดี โดยเทคนิค ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay) และ latex agglutination assay

ข. ตรวจพบปริมาณโปรตีนในปัสสาวะมากกว่าหรือเท่ากับ 1.5 กรัมต่อวัน

ค. อายุ 15 ปีขึ้นไป

ง. ไม่มีข้อห้ามในการเจาะชิ้นเนื้อไต

1.2 เกณฑ์ในการคัดออก

เกณฑ์ในการคัดออกได้แก่ มีสาเหตุของการเกิดภาวะโปรตีนผิดปกติในปัสสาวะอื่น ๆ ที่ชัดเจน ดังต่อไปนี้

ก. ภาวะติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบี

ข. ภาวะติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบี

ค. เบาหวาน

ง. ภาวะติดเชื้อในกระแสเลือด

จ. ภาวะติดเชื้อของลิ้นหัวใจ

2. การคำนวณขนาดตัวอย่าง

ใช้การคำนวณขนาดตัวอย่างของข้อมูลเชิงปริมาณที่ได้จากการวัด quantitative data โดยอาศัยข้อมูลของรายงานในประเทศอเมริกา

$$\text{จากสูตร } N = \frac{S^2}{SE^2}$$

3. การสังเกตและการวัด

ดำเนินการสังเกตและวัดข้อมูลต่าง ๆ ดังต่อไปนี้

1. ประวัติส่วนตัว เช่น อายุ, เพศ, อาชีพ, ภูมิลำเนา
2. ประวัติของการติดเชื้อเอชไอวี ได้แก่ ปัจจัยเสี่ยง, ประวัติการติดเชื้อซึ่งสัมพันธ์กับการติดเชื้อเอชไอวี, ประวัติการได้ยา
3. ตรวจร่างกายอย่างละเอียด
4. ตรวจทางห้องปฏิบัติการ คือ
 - 24 hour urine protein
 - Bun, Cr, electrolyte, CBC, platelet count
 - ANA, HB_sAg, anti HCV, CD4 count
5. ข้อมูลทางพยาธิวิทยา

4. วิธีการ

ผู้ป่วยไทยที่ติดเชื้อเอชไอวี จะได้รับการตรวจปัสสาวะ เพื่อหาระดับโปรตีนในปัสสาวะ ในกรณีการตรวจปัสสาวะได้ protein มากกว่าหรือเท่ากับ 1⁺ จะทำการเก็บปัสสาวะ 24 ชั่วโมง เพื่อหาปริมาณโปรตีนในปัสสาวะต่อวัน ถ้าปริมาณโปรตีนในปัสสาวะต่อวันมากกว่า 1.5 กรัม จะทำการตรวจทางห้องปฏิบัติการต่อไปนี้ คือ

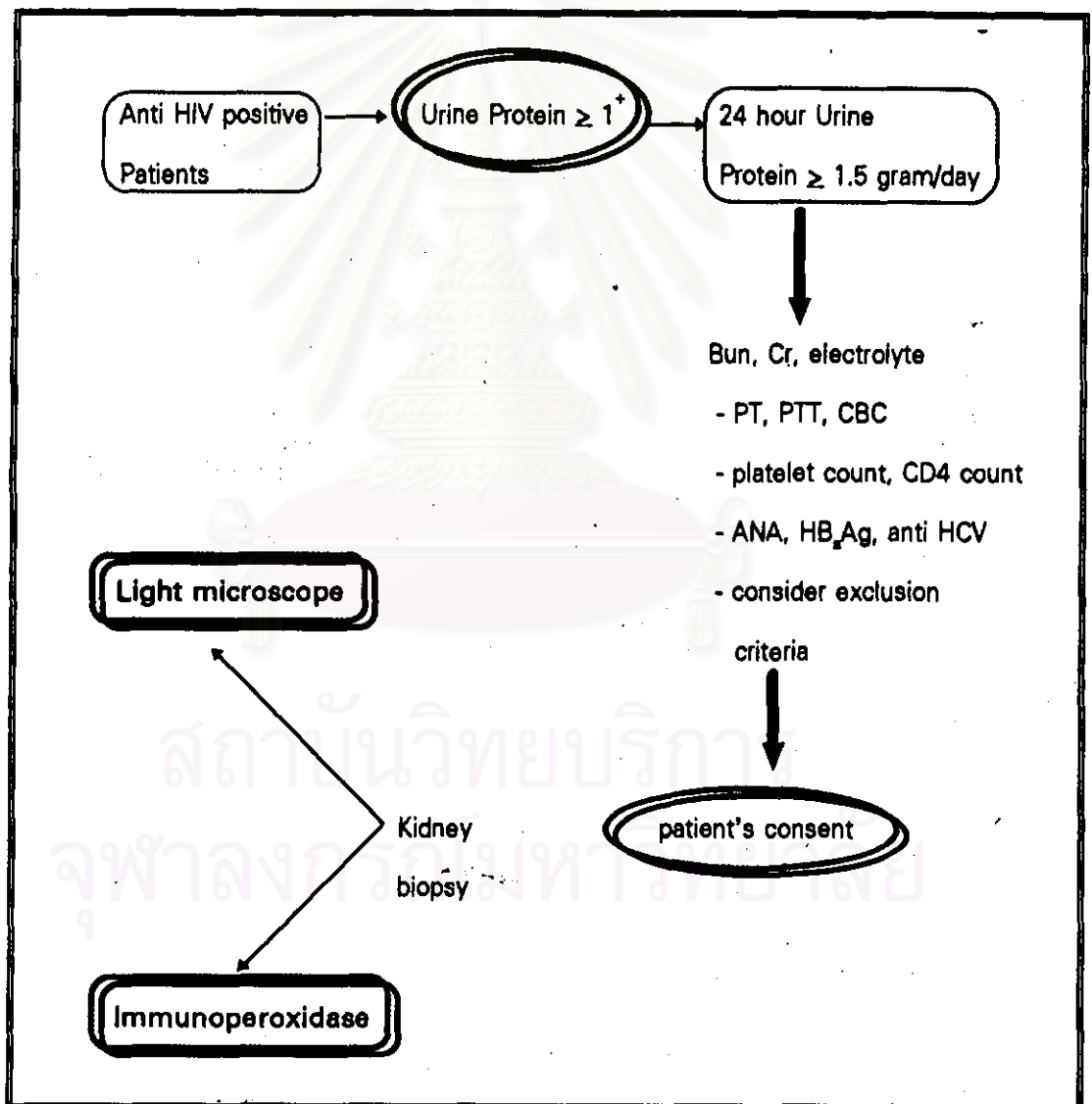
1. Bun
2. Cr
3. Electrolyte
4. Coagulogram
5. CBC, platelet count, CD4 count
6. ANA
7. HB_sAg
8. Anti HCV
9. Hemoculture ถ้าผู้ป่วยมีไข้มากกว่า 38°C
10. ทำ Echocardiogram ถ้าผู้ป่วยมีอาการหรืออาการแสดงของการติดเชื้อที่ลิ้น

หัวใจ เช่น Embolic phenomenon, Cardiac murmur

ผู้ป่วยที่ผล ANA, HB_{Ag}, anti HCV , Hemo culture และ Echo cardiogram ได้ผลลบ จะทำการเจาะชิ้นเนื้อไต เพื่อส่งตรวจทางพยาธิวิทยาโดยตรง

1. Light microscopy โดย fixed ชิ้นเนื้อใน 10 % Neutral formalin solution นำไปผ่าน ขบวนการเตรียมชิ้นเนื้อและ embedded ใน parafin block ย้อมชิ้นเนื้อด้วย Hematoxylin-eosin, periodic acid-Schiff, Jones periodic acid silver methenamine และ masson's trichrome

2. Indirect Immunoperoxidase โดยใช้ชิ้นเนื้อที่ fixed ใน formalin ย้อม ตรวจสอบการ ติด human Immunoglobulin ต่าง ๆ คือ IgG, IgA, IgM, รวมทั้ง Complement คือ C3, C1q และ fibrinogen (F)



รูปที่ 2 สรุปแนวทางการวิจัย

ตารางที่ 3 ระยะการติดเชื้อเอชไอวี

Stage and Clinical features	CD4 Count (cell/mm ³)
Acute primary HIV infection	1000 - 500
Asymptomatic (No symptoms or signs other than lymphadenopathy)	750 - 500
Early symptomatic (Non life threatening infection; or chronic or intermittent symptom)	500 - 100
Late symptomatic (Increasingly severe symptoms, life threatening infections or cancer)	200 - 50
Advanced (Increasing hazard of death, and serious opportunistic infections)	50 - 0

5. การรวบรวมข้อมูล (Data Collection)

แพทย์ผู้ทำวิจัย จะบันทึกข้อมูลต่าง ๆ เหล่านี้ ได้แก่

- อายุ
- เพศ
- ปัจจัยเสี่ยงของการติดเชื้อเอชไอวี
- ระดับ serum Cr
- ระดับ CD4 count
- ชนิดของการติดเชื้อฉวยโอกาส
- ระยะของการติดเชื้อเอชไอวี โดยแบ่งจากอาการทางคลินิก และระดับ CD4

โดยแบ่งออกเป็น Acute primary infection, Asymptomatic, Early symptomatic, Late symptomatic และ Advanced HIV infection

- พยาธิสภาพของไตทาง light microscope โดยแบ่งออกเป็นพยาธิสภาพของโครงสร้าง glomerulus, tubulointerstitium และ vessel
- พยาธิสภาพของไตจากการย้อม Immunoperoxidase