

บทที่ 3

วิธีการวิจัย

รูปแบบการวิจัย (research design)

เป็นการวิจัยโดยเก็บข้อมูลไปข้างหน้า (prospective study) ในช่วงที่ทำการศึกษา โดยแบ่งผู้ป่วยออกเป็นสองกลุ่มนำมาเปรียบเทียบกัน จึงเป็นการวิจัยแบบการวิจัย ณ จุดเวลาใดเวลาหนึ่ง (cross-sectional design) ที่มีกลุ่มเปรียบเทียบ.

ประชากร (population) และ ตัวอย่าง (sample)

หลักเกณฑ์ในการคัดเลือกประชากรและตัวอย่าง

กฎเกณฑ์ในการคัดเลือก (inclusion criteria)

ผู้ป่วยโรคติดเชื้อเอชไอวีที่มีอายุมากกว่าหรือเท่ากับ 15 ปี และเป็นผู้ป่วยในของภาควิชาอายุรศาสตร์ โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ เก็บรวบรวมข้อมูลแบบ consecutive cases ในช่วงที่ศึกษาวิจัย วันที่ 1 ตุลาคม 2546 ถึง 15 กุมภาพันธ์ 2547 โดยในกลุ่มผู้ป่วยในที่ทำการศึกษาเป็นผู้ป่วยที่มีอาการของโรคภูมิคุ้มกันบกพร่องชัดเจน (AIDS) ตาม Indicator Conditions in Case Definition of AIDS (Adults)-1997⁴⁵ ดังแสดงในตารางที่ 3.1 กลุ่มที่ไม่วิกฤตใช้เวลารวบรวมผู้ป่วยในช่วง 1 ตุลาคม 2546 ถึง 15 พฤศจิกายน 2546 และกลุ่มที่วิกฤตใช้เวลารวบรวมผู้ป่วยในช่วง 1 ตุลาคม 2546 ถึง 15 กุมภาพันธ์ 2547

กฎเกณฑ์ในการคัดผู้ป่วยออก (exclusion criteria)

1. ผู้ป่วยที่ติดเชื้อเอชไอวีที่มีประวัติได้รับหรือกำลังได้รับการรักษาด้วยยา corticosteroid
2. ผู้ป่วยที่มีประวัติผ่าตัดสมองบริเวณต่อมใต้สมอง

การแบ่งกลุ่มผู้ป่วยเอดส์เป็นกลุ่มวิกฤต และ กลุ่มไม่วิกฤต ยึดตาม APACHE II score ตามภาคผนวกท้ายเล่ม

ตารางที่ 3.1 แสดงภาวะที่บ่งถึงภาวะภูมิคุ้มกันบกพร่อง [Indicator Conditions in Case Definition of AIDS (Adults)-1997]⁴⁵

ภาวะติดเชื้อ	ภาวะไม่ติดเชื้อ
<ul style="list-style-type: none"> ● Pneumocystis carinii pneumonia ● Disseminated histoplasmosis and coccidioidomycosis ● Miliary/extrapulmonary TB ● Progressive multifocal leukoencephalopathy (PML) ● Toxoplasmosis of internal organ ● Cryptococcosis, extrapulmonary ● Cryptosporidiosis, chronic ● Isosporosis with diarrhea >1 month ● Microsporidiosis ● Candidal esophagus, trachea, bronchi, or lungs ● CMV of any organ other than liver, spleen, or lymph nodes;eye ● Herpes simplex with mucocutaneous ulcer>1 month or bronchitis, esophagitis ● <i>Mycobacterium avium</i> complex, disseminated ● Pneumonia, recurrent-bacterial (≥2 episodes in 12 months) ● <i>Salmonella</i> septicemia (nontyphoid), recurrent 	<ul style="list-style-type: none"> ● Peripheral neuropathy ● HIV-associated dementia ● Cardiomyopathy ● Vacuolar myelopathy ● Progressive polyradiculoneuropathy ● Lymphoma,Burkitt's, immunoblastic, primary CNS ● Central nervous system (CNS) lymphoma ● Cervical cancer, Invasive ● HIV-associated dementia ● HIV-associated wasting ● Kaposi's sarcoma in patient under 60 yrs (Or over 60 yrs)

การคำนวณตัวอย่าง⁴⁶ (sample size calculation)

ใช้การคำนวณขนาดตัวอย่างในการทดสอบสองกลุ่มที่ทราบค่าสัดส่วนของเหตุการณ์ที่เกิดขึ้น โดยใช้จำนวนตัวอย่างในกลุ่มที่ 1 ต่อกลุ่มที่ 2 เป็น 1 ต่อ 1

$$\text{สูตร} \quad n = \frac{[Z_\alpha \sqrt{2P_1(1-P_1)} + Z_\beta \sqrt{P_1(1-P_1) + P_2(1-P_2)}]^2}{D^2}$$

$P_1 =$ สัดส่วนที่เกิดเหตุการณ์ในกลุ่ม critically-ill (prevalence of adrenal insufficiency ในกลุ่ม critically-ill HIV patients) เป็น 0.75 ดังนั้น $P_1 = 0.75$

$P_2 =$ สัดส่วนที่เกิดเหตุการณ์ในกลุ่ม advanced HIV (prevalence of adrenal insufficiency in advanced HIV) เป็น 0.264 ดังนั้น $P_2 = 0.264$

$D =$ ความแตกต่างของเหตุการณ์ทั้งสอง $P_2 - P_1 = 0.75 - 0.264 = 0.486$ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % (ตัวเลข 0.75 ตามหนังสืออ้างอิงที่ 8 และตัวเลข 0.264 ตามหนังสืออ้างอิงที่ 6)

$\alpha =$ 0.05 (two-sided)

$\beta =$ 0.10

ได้ $Z_\alpha =$ 1.96

$Z_\beta =$ 1.28

แทนค่า

$$n = \frac{[1.96 \sqrt{2(0.75)(1-0.75)} + 1.28 \sqrt{(0.75)(1-0.75) + 0.264(1-0.264)}]^2}{(0.486)^2}$$

$$= 14$$

ดังนั้นใช้คนไข้กลุ่มละ 14 คน รวม 28 คน

การรวบรวมข้อมูล (data collection)

เก็บรวบรวมข้อมูลผู้ป่วยที่รับการตรวจแผนกผู้ป่วยในที่อยู่ในความดูแลของภาควิชาอายุรศาสตร์

โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ รวมทั้งประวัติเกาต่างๆจากเวชระเบียนผู้ป่วยนอกและเวชระเบียนผู้ป่วยใน ก่อนทำการทดสอบแพทย์จะมาดูแลผู้ป่วยมาเพื่อทำการเจาะเลือดในช่วงก่อน 9.00 น. ผู้ป่วยไม่vikฤตสามารถรับประทานอาหารและน้ำได้ตามปกติ เนื่องจากระดับคอร์ติซอลฮอร์โมนไม่มีส่วนเกี่ยวข้องกับการรับประทานอาหาร แต่จะมีระดับสูงสุดในช่วงเช้า สำหรับผู้ป่วยvikฤต แพทย์จะเจาะเลือดในช่วงที่เหมาะสมโดยไม่จำเป็นต้องเป็นช่วงเช้า เนื่องจากวงจรการควบคุมการหลั่งคอร์ติซอลฮอร์โมนได้เปลี่ยนแปลงไป ขั้นตอนการเจาะเลือดและทำการทดสอบมีดังต่อไปนี้

- ก. ทำความสะอาดบริเวณที่เจาะเลือด เจาะเลือดครั้งที่ 1 เป็น random plasma cortisol และเก็บเลือดไว้ประมาณ 10 ซีซี ใส่ท่อเล็กหล่อสารเฮปารินไว้เพื่อกันเลือดแข็งตัวหลอดละ 5 ซีซี
- ข. ฉีดสารเพื่อทำการทดสอบกระตุ้นการทำงานของต่อมหมวกไต สารนี้คือ synthetic ACTH 250 μg (cortrosyn, Organon Inc., West Orange, NJ, USA) มีลักษณะเหมือนคล้ายฮอร์โมนเอซีทีเอชที่หลั่งออกมาจากร่างกาย
- ค. ดูดเลือดจากท่อเล็กที่คาไว้ ณ เวลา 30 และ 60 นาทีถัดมา ดูดเลือดออก 10 ซีซี ดึงท่อเล็กที่หล่อเฮปารินออก ปิดพลาสติกปิดแผลไว้ ซึ่งผู้ป่วยสามารถกลับไปดื่งออกเองที่บ้านและทำความสะอาดร่างกายได้ตามปกติ

ผลข้างเคียงที่อาจเกิดขึ้นได้แก่ เจ็บบริเวณที่ทำการเจาะเลือด หรือมีการติดเชื้อบริเวณที่เจาะเลือดซึ่งเกิดขึ้นน้อยมาก โดยคณะผู้วิจัยได้ใช้วิธีปลอดเชื้อทำความสะอาดผิวหนังก่อนเจาะเลือดอยู่แล้ว สำหรับเรื่องการแพ้สารที่ทำการทดสอบ ยังไม่เคยมีรายงานว่าผู้ป่วยคนใดแพ้สารโคชินโทโรปีนอย่างรุนแรงมาก่อน

หลังทำการทดสอบ ส่งเลือดทั้งหมดไปห้องปฏิบัติการฮอร์โมน สังกัดคณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

การวินิจฉัยว่าผู้ป่วยติดเชื้อเอชไอวี

ผู้ป่วยที่ได้รับการวินิจฉัยว่าป่วยเป็นภาวะภูมิคุ้มกันบกพร่อง (AIDS) ทุกคนจะมีผลตรวจทางห้องปฏิบัติการยืนยันโดยวิธีตรวจแตกต่างกัน 3 วิธีคือ ELISA, IMMUNOELECTRODIFFUSION

และ LATEX AGGLUTINATION ส่งตรวจที่ห้องปฏิบัติการภาควิชาจุลชีววิทยา สังกัดคณะ
แพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

การวิเคราะห์ข้อมูล (data analysis)

เนื่องจากเป็นข้อมูลเชิงปริมาณ (quantitative data)

1. ใช้วิธีวัด
2. ลักษณะข้อมูลที่ได้เป็นค่าต่อเนื่อง (continuous variables)
3. การสรุปข้อมูลเป็นค่าเฉลี่ย (mean) , ค่ามัธยฐาน (median) , พิสัย (range) และ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (standard deviation)
4. การนำเสนอข้อมูล เป็นตารางแสดงผลต่าง ๆ
5. สถิติที่ใช้ทดสอบ unpaired t-test และ Chi-square เปรียบเทียบความแตกต่างของ ผู้ป่วยทั้งสองกลุ่ม

การคำนวณทางสถิติใช้โปรแกรมสำเร็จรูป

การให้คำนิยามเชิงปฏิบัติที่ใช้ในการวิจัย (operation definition)

primary adrenal insufficiency เกิดจากการทำงานที่ลดลงของต่อมหมวกไต อันเนื่องมาจากตัวต่อมหมวกไตเอง โดยต่อมหมวกไตถูกทำลายหรือมีการทำงานที่ผิดปกติจากตัวโรคที่ต่อมหมวกไตเอง secondary adrenal insufficiency เกิดจากการที่ต่อมใต้สมองหลังฮอร์โมน ACTH ไม่เพียงพอและส่งผลให้ต่อมหมวกไตหลั่งฮอร์โมน cortisol ไม่เพียงพอด้วย

tertiary adrenal insufficiency เกิดจากการหลั่งฮอร์โมน CRH หรือ ฮอร์โมน hypothalamic secretagogues ไม่เพียงพอ และ secondary hyposecretion of pituitary ACTH

acute illness ในงานวิจัยนี้ให้ถือว่าเป็นอาการป่วยที่เป็นมาไม่เกิน 2 สัปดาห์

chronic illness ในงานวิจัยนี้ให้ถือว่าเป็นอาการป่วยที่เป็นมามากกว่า 2 สัปดาห์

Laboratory diagnosis of adrenal insufficiency

ทำการทดสอบโดยใช้ high dose 250 μg ACTH stimulation test โดยมี normal response วัดจากระดับ plasma cortisol ที่ 30 และ 60 นาทีหลังจากทำการทดสอบ

การแปลผล ตามหนังสือมาตรฐานทั่วไป (standard textbook) ¹⁷ ผู้ป่วยที่มีอาการและอาการแสดงเข้าได้กับภาวะต่อมหมวกไตทำงานน้อยลง ควรจะส่งตรวจระดับ baseline plasma cortisol, ระดับ ACTH และทำการกระตุ้นโดย ACTH หลังจากนั้น 30 นาทีและ 60 นาที วัดระดับ cortisol ซ้ำ ซึ่งระดับ cortisol ต้องสูงกว่า 18-20 ไมโครกรัมต่อเดซิลิตร (450-500 นาโนโมลต่อลิตร) หรือระดับ cortisol ต้องสูงเพิ่มขึ้นอย่างน้อย 7 ไมโครกรัมต่อเดซิลิตร (175 นาโนโมลต่อลิตร) ถ้าการตอบสนองดังกล่าวน้อยกว่านี้ ร่วมกับมีระดับ ACTH ที่สูงขึ้น ก็แปลได้ว่าผู้ป่วยเป็น primary adrenal insufficiency จะมีค่ามากกว่าหรือเท่ากับ 18 $\mu\text{g}/\text{dl}$ ถ้าพบว่าการระดับ plasma cortisol ตอบสนองน้อยกว่านี้ ให้ถือว่ามี adrenal insufficiency

เราอาจแปลผลได้อีกแบบตามหนังสืออ้างอิงที่ 8

1. เจาะระดับคอร์ติซอลที่ขณะใดก็ได้ (randomly timed measurement of cortisol level) น้อยกว่า 15 ไมโครกรัมต่อเดซิลิตร
2. ถ้าระดับคอร์ติซอลที่ขณะใดก็ได้อยู่ระหว่าง 15 ถึง 34 ไมโครกรัมต่อเดซิลิตรให้ทำ ACTH stimulation test ถ้าระดับคอร์ติซอลหลังการกระตุ้นเพิ่มขึ้นน้อยกว่า 9 ไมโครกรัมต่อเดซิลิตร ก็ให้ถือว่ามี hypoadrenalism ตามรูปที่ 2

การแปลผลที่ถือว่าการทำงานของต่อมหมวกไตอยู่ในเกณฑ์ปกติ

3. ระดับคอร์ติซอลที่ขณะใดก็ได้มากกว่า 34 ไมโครกรัมต่อเดซิลิตร
4. ระดับคอร์ติซอลที่ขณะใดก็ได้อยู่ระหว่าง 15 ถึง 34 ไมโครกรัมต่อเดซิลิตรให้ทำ ACTH stimulation test ถ้าระดับคอร์ติซอลหลังการกระตุ้นเพิ่มขึ้นมากกว่า 9 ไมโครกรัมต่อเดซิลิตร