

บทที่ 3

วิธีดำเนินการ

รูปแบบการวิจัย

เป็นการศึกษาที่จุดเวลาใดเวลาหนึ่ง (Cross-sectional study)

ระเบียบวิธีวิจัย

ประชากร (Population) ผู้ป่วยที่มีสารน้ำในช่องเยื่อหุ้มปอดแบบเอกซุเดทที่มีเซลล์
ลิมโฟไซต์เด่นรายใหม่ที่มารับการตรวจรักษาที่หน่วยโรคปอด โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ระหว่างวัน
ที่ 30 เมษายน พ.ศ. 2540 ถึง 20 มกราคม พ.ศ. 2541

เกณฑ์ในการคัดเลือกเข้ามาศึกษา (Inclusion Criteria)

1. ผู้ป่วยที่มีอายุตั้งแต่ 15 ปีขึ้นไป
2. ตรวจพบสารน้ำในช่องเยื่อหุ้มปอดจากการตรวจร่างกายและในภาพรังสีของปอด

เกณฑ์ในการตัดออกจากการศึกษา (Exclusion Criteria)

1. ทราบการวินิจฉัยโรคแล้วจากการเจาะน้ำในช่องเยื่อหุ้มปอดมาแล้ว
2. ได้รับการรักษาด้วยยาต้านวัณโรคมาแล้ว
3. มีข้อห้ามต่อการเจาะน้ำในช่องเยื่อหุ้มปอด
4. ไม่สามารถเจาะน้ำในช่องเยื่อหุ้มปอดได้สำเร็จหรือได้ปริมาณน้ำไม่พอเพียง

การเลือกตัวอย่าง ผู้ป่วยทุกรายที่เข้าเกณฑ์

ขนาดตัวอย่าง (Sample Size)

จากคำถามหลักคาดหวังว่าจะได้ Diagnostic Test ที่มีความไว (Sensitivity) 90% โดยมีความคลาดเคลื่อน (Error) ไม่เกิน 10% จึงจะเป็น test ที่มีประโยชน์

$$\text{สูตร} \quad n = \frac{Z^2 p(1-p)}{d^2}$$

โดย n เป็นจำนวนตัวอย่างในกลุ่มวัณโรคเยื่อหุ้มปอด

p คือความไว(0.9) d คือความคลาดเคลื่อน(0.1) $Z=1.96$

จะได้ $n = 35$ (จำนวนตัวอย่างในกลุ่มวัณโรคเยื่อหุ้มปอด)

ความชุกของวัณโรคเยื่อหุ้มปอดที่มีรายงานมาแล้ว = $44^{28} - 59\%$

จะต้องใช้จำนวนตัวอย่างทั้งหมด(รวมวัณโรคและไม่ใช้วัณโรค) $35/0.59 - 35/0.44 = 60-$

80 ราย

การรวบรวมข้อมูล

ผู้ป่วยที่ได้รับคัดเลือกเข้ามาศึกษาจะได้รับการ

1. ชักประวัติและตรวจร่างกาย

2. เจาะเลือด

3. เจาะน้ำในช่องเยื่อหุ้มปอดและตัดชิ้นเนื้อเยื่อหุ้มปอด

4. รับประทานยาในเบื้องต้นและนัดฟังผลการสืบค้นประมาณ 2 สัปดาห์

5. ให้ยารักษาวัณโรคในรายผลการตรวจที่เข้าได้กับวัณโรค หรือพิจารณาเจาะน้ำในช่องเยื่อหุ้มปอดซ้ำในรายที่ยังไม่ทราบการวินิจฉัยโรค ตรวจทางห้องปฏิบัติการอื่นๆ ในรายที่มีอาการ อาการแสดงหรือผลการตรวจทางห้องปฏิบัติการในเบื้องต้นบ่งชี้ว่าอาจมีสาเหตุของสารน้ำในช่องเยื่อหุ้มปอดจากโรคอื่นๆ นอกเหนือจากวัณโรคหรือมะเร็ง

6. ติดตามผลการรักษาและดูแลการตอบสนองต่อการรักษา โดยเฉพาะในรายที่ไม่ทราบการวินิจฉัยที่แน่นอนหรือรายที่ผลการตรวจเข้าเกณฑ์ที่จะต้องประเมินผลการรักษาเพื่อประกอบการวินิจฉัย

วิธีการเจาะน้ำในช่องเยื่อหุ้มปอด

ใช้ syringe พลาสติกที่ดูด Heparin ประมาณ 1 mL ไว้แล้ว ต่อกับเข็มเบอร์ 20 ยาว 1.5 นิ้ว เจาะน้ำในช่องเยื่อหุ้มปอดประมาณ 40 mL แล้วแบ่งเป็น 2 ส่วน

ส่วนที่ 1 แบ่งส่งตรวจหา Protein และ LDH ที่ห้องปฏิบัติการกลาง ภาควิชาเวชศาสตร์ชั้นสูตกร ส่งตรวจนับจำนวนเม็ดเลือดขาวและนับแยกชนิด (white blood cell count & differential) ย้อมสีแกรม (gram stain) และสีทนกรด (acid fast stain : Ziehl-Neelsen method) ที่ห้องปฏิบัติการของสาขาวิชาโรคระบบการหายใจและวัณโรค ภาควิชาอายุรศาสตร์ และ ส่งตรวจทางเซลล์วิทยา (cytology) ที่ภาควิชาพยาธิวิทยา

ส่วนที่ 2 ทำการปั่น (Centrifuge) ที่ 3,000 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 15 นาที แยกส่วน supernatant ไปเก็บโดยการแช่แข็งที่อุณหภูมิ -70°C จนกว่าจะทำการตรวจหาระดับ IFN- γ ส่วนของ sediment นำไปเพาะเชื้อวัณโรค

วิธีการเจาะเลือดเพื่อตรวจทางห้องปฏิบัติการ

เจาะเลือด จำนวน 5 mL ใส่หลอดที่ไม่มีสารกันเลือดแข็งตัว ส่งตรวจหาระดับ protein และ LDH ที่ห้องปฏิบัติการกลาง ภาควิชาเวชศาสตร์ชั้นสูตกร

วิธีการตัดชิ้นเนื้อเยื่อหุ้มปอด

ตัดชิ้นเนื้อจากเยื่อหุ้มปอด (Pleural Biopsy) ด้วยเข็ม Abram หรือ Cope ให้ได้ชิ้นเนื้อจำนวน 4 ชิ้น ใส่ในสารละลายฟอร์มาลินจำนวน 3 ชิ้นเพื่อส่งตรวจทางพยาธิวิทยา และอีก 1 ชิ้นใน 0.9% sodium chloride เพื่อนำไปเพาะเชื้อวัณโรค

วิธีการเพาะเชื้อวัณโรคจากน้ำในช่องเยื่อหุ้มปอดและชิ้นเนื้อเยื่อหุ้มปอด^{3,29,30}

การเพาะเชื้อทำในห้องปฏิบัติการของสาขาวิชาโรคระบบการหายใจและวัณโรค ภาควิชาอายุรศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย โดยเจ้าหน้าที่ที่ไม่ทราบผลการตรวจในส่วนอื่น

1. กรณีของตัวอย่างน้ำจากช่องเยื่อหุ้มปอด นำตัวอย่างดังกล่าวไปปั่นที่ 3,000 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 15 นาที แยกส่วนที่เป็น supernatant ออกไป decontaminate ส่วนที่เป็น sediment ด้วย 4% sodium hydroxide (4% NaOH) เป็นเวลา 15 นาที แล้วใช้ sterile cotton swab inoculate ลงบน Ogawa media จำนวน 2 หลอด

2. กรณีของชิ้นเนื้อเยื่อหุ้มปอด บดด้วยครกบด (mortar & pestle) ใน 0.9% sodium chloride แล้ว decontaminate ด้วย 4% NaOH เช่นเดียวกันก่อน inoculate ลงบน Ogawa media จำนวน 2 หลอด

3. นำหลอด Ogawa media ที่ inoculate เชื้อแล้ว ไป incubate ในตู้ Incubator ที่อุณหภูมิ $35\pm 2^{\circ}\text{C}$

4. อ่านผลทุกสัปดาห์หลังจาก inoculation เป็นเวลา 8 สัปดาห์ ลักษณะ colony ของ *M. tuberculosis* จะแห้ง หยิบ สีขาวแกมเทาหรือสีครีม มักใช้เวลาอย่างน้อย 2 สัปดาห์จึงจะมีขนาดเห็นได้ด้วยตาเปล่า

5. smear เชื้อที่เพาะได้ ย้อมด้วยสีทึนกรด (Ziehl-Neelsen stain) เพื่อยืนยันว่าเชื้อที่ได้เป็น Acid fast bacilli

6. ทำ Niacin test เพื่อยืนยันว่าเชื้อที่เพาะได้เป็น *M. tuberculosis* ซึ่งจะให้ผลบวก การวัดระดับแกมมาอินเตอร์เฟอรอนในน้ำจากช่องเยื่อหุ้มปอด

ใช้วิธี Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) ทำในห้องปฏิบัติการของสาขาวิชาโรคมุมแพและภูมิคุ้มกันทางคลินิก ภาควิชาอายุรศาสตร์ โดยเจ้าหน้าที่ที่ไม่ทราบผลการตรวจในส่วนอื่นๆ

การตรวจระดับ IFN- γ ในการศึกษานี้ ใช้ commercial ELISA kit คือ PREDICTA[®] IFN- γ ELISA Kit ของบริษัท Genzyme Corp., U.S.A. (Lot: B7610) ซึ่งระดับ IFN- γ ต่ำสุดที่สามารถตรวจได้เท่ากับ 3 pg/mL

วิธีการ

1. เตรียม standard IFN- γ solution ที่ความเข้มข้นต่างๆ โดยเจือจาง stock solution (ซึ่งมีความเข้มข้น 14 ng/mL) ด้วย Diluent ให้ได้ standard solution ที่มีความเข้มข้น 0, 16, 32, 64, 128, 256, 512 และ 1024 pg/mL

2. นำตัวอย่างน้ำจากช่องเยื่อหุ้มปอดซึ่งแช่แข็งไว้ที่ -70°C มาละลาย (thaw) โดยทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องประมาณ 30 นาทีก่อนทำการตรวจ

3. เตรียม IFN- γ Microtiter Plate ซึ่งเคลือบ(coat)ด้วย antibody ต่อ human IFN- γ ไว้แล้ว (เรียก antibody ส่วนนี้ว่า immobilized anti-human IFN- γ)
4. ใส่ standard solution ลงใน plate โดยที่ความเข้มข้นหนึ่งๆจะใส่ 2 หลุม (duplication) และใส่ตัวอย่างน้ำจากช่องเยื่อหุ้มปอดลงใน plate โดยเจือจางด้วย diluent ในปริมาณเท่ากัน ใส่ตัวอย่างละ 2 หลุมเช่นเดียวกับ standard solution
5. ปิด plate ด้วยแผ่นพลาสติกแล้วใส่ตู้ incubator ที่อุณหภูมิ $37\pm 2^{\circ}\text{C}$ เป็นเวลา 120 ± 5 นาที เพื่อให้ IFN- γ ในตัวอย่างน้ำจากช่องเยื่อหุ้มปอดหรือสารละลาย standard จับกับ immobilized anti-human IFN- γ ที่ก้นหลุม
6. ล้างเอา IFN- γ ส่วนเกินออกด้วย wash reagent
7. ใส่ IFN- γ HRP-Conjugate (ซึ่งเป็น antibody ต่อ human IFN- γ ที่ conjugate กับ peroxidase) เพื่อจับกับ IFN- γ ที่ได้จับกับ immobilized anti-human IFN- γ แล้ว incubate ที่ $37\pm 2^{\circ}\text{C}$ เป็นเวลา 30 ± 2 นาที
8. ล้าง IFN- γ HRP-Conjugate ส่วนเกินออก
9. ใส่ substrate solution ลงในแต่ละหลุมแล้ว incubate ไว้ที่อุณหภูมิห้อง($18-24^{\circ}\text{C}$) เป็นเวลา 30 ± 2 นาที peroxidase จะทำให้ substrate เปลี่ยนเป็นสีน้ำเงิน
10. เมื่อครบเวลา ใส่ stop solution (ซึ่งเป็นสารละลายกรดซัลฟูริก) เพื่อหยุดปฏิกิริยาที่ทำให้เกิดสี สีของสารในหลุมจะเปลี่ยนเป็นสีเหลืองโดยที่ความเข้มของสีจะเป็นสัดส่วนกับปริมาณ IFN- γ
11. อ่านค่า absorbance ในแต่ละหลุม โดยใช้แสงความยาวคลื่น 450 nm ภายใน 30 นาที หลังใส่ stop solution
12. สร้าง standard curve โดย plot ค่า corrected absorbance ของ standard solution ในแกน y (corrected absorbance คำนวณโดยนำค่าเฉลี่ยของ zero standard หรือ diluent ไปลบออกจากค่า absorbance ของ standard หรือ ตัวอย่าง) และ plot ความเข้มข้นของแกมมาอินเตอร์เฟอรอนในแกน x ซึ่งขั้นตอนนี้ทำโดยโปรแกรมคอมพิวเตอร์ DELTA SOFT II TM version 4.1 (ของ บริษัท Biometallics, Inc. , U.S.A. ซึ่งเขียนโดย Dr. Evelyn Bechtold และ Greg Landweber)

13. การรายงานค่าระดับ IFN- γ ของตัวอย่าง ใช้ค่าเฉลี่ย (mean) ของการทำทั้ง 2 ครั้ง

การให้ยารักษาวัณโรค

ให้ยาด้านวัณโรคในสูตรยาระยะสั้น (short course) ซึ่งประกอบด้วยยา Isoniazid, Rifampicin, Ethambutol และ Pyrazinamide ในช่วง 2 เดือนแรก และ Isoniazid กับ Rifampicin ในช่วง 4 เดือนหลัง อย่างไรก็ตามผู้ป่วยที่มีความเสี่ยงต่อพิษของยาหรือผู้ที่แพ้ยาบางตัว แพทย์ผู้รักษาสามารถใช้สูตรยาที่แตกต่างไปจากนี้โดยเป็นไปตามมาตรฐานการรักษวัณโรคเชื้อหุ้มปอด (ซึ่งถือว่าเป็นวัณโรคนอกปอด)

การให้คำนิยามเชิงปฏิบัติที่จะใช้ในการวิจัย (Operational Definitions)

สารน้ำในช่องเยื่อหุ้มปอดแบบเอกซูด (Exudative Pleural Effusion)³¹ คือ สารน้ำในช่องเยื่อหุ้มปอดที่มีลักษณะเข้ากับข้อใดข้อหนึ่งดังนี้

1. pleural fluid protein / serum protein >0.5
2. pleural fluid LDH / serum LDH >0.6
3. pleural fluid LDH >2/3 upper normal limit in serum

สารน้ำในช่องเยื่อหุ้มปอดแบบเอกซูดที่มีเซลล์ลิมโฟไซต์เด่น (Lymphocytic Exudative Pleural Effusion)^{1,32} คือ Exudative Pleural Effusion ที่มี differential WBC count เป็นลิมโฟไซต์มากกว่าหรือเท่ากับ 50%

เกณฑ์การวินิจฉัยวัณโรคเชื้อหุ้มปอด (Tuberculous Pleural Effusion)^{1,3,5,33} วินิจฉัยจากข้อใดข้อหนึ่ง ดังนี้

1. แยกเชื้อ *M. tuberculosis* ได้จากน้ำในช่องเยื่อหุ้มปอด
2. แยกเชื้อ *M. tuberculosis* ได้จากตัวอย่างชิ้นเนื้อของเยื่อหุ้มปอด
3. การตรวจทางพยาธิวิทยาของตัวอย่างชิ้นเนื้อจากเยื่อหุ้มปอดพบ granulomatous inflammation และยอมพบ acid fast bacilli
4. การตรวจทางพยาธิวิทยาของตัวอย่างชิ้นเนื้อจากเยื่อหุ้มปอดพบ granulomatous inflammation และตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาด้านวัณโรค

5. ย้อมพบ acid fast bacilli จากน้ำในช่องเยื่อหุ้มปอด และตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาต้านวัณโรค

เกณฑ์การวินิจฉัยมะเร็งเยื่อหุ้มปอด (Malignant Pleural Effusion)³⁴ วินิจฉัยจากข้อใดข้อหนึ่ง ดังนี้

1. พบเซลล์มะเร็งในน้ำจากช่องเยื่อหุ้มปอดจากการตรวจทางเซลล์วิทยา
2. พบเซลล์มะเร็งในตัวอย่างชิ้นเนื้อของเยื่อหุ้มปอดจากการตรวจทางพยาธิวิทยา

การพิจารณาผลการรักษาด้วยยาด้านวัณโรค

ประเมินอาการทางคลินิกและภาพรังสีของปอด ที่เวลา 8 สัปดาห์หลังให้ยาด้านวัณโรค จะถือว่ามีการตอบสนองต่อการให้ยาเมื่อผู้ป่วยหายจากไข้ ไอ เหนื่อย มีน้ำหนักเพิ่มขึ้นในรายที่มีน้ำหนักลดลงก่อนการรักษา อาการเจ็บหน้าอกทุเลา(ผู้ป่วยบางรายอาจยังมีอาการเจ็บเสียดหน้าอกเวลาหายใจลึก หาว จามหรือสะอึก ซึ่งอาการดังกล่าวสัมพันธ์กับการมีเยื่อหุ้มปอดหนาและอาจมีได้หลังรักษาหายแล้วเป็นเวลานาน) และภาพรังสีของปอดมีปริมาณน้ำลดลงชัดเจน

การวินิจฉัยในรายที่ผลการสืบค้นในช่องเยื่อหุ้มปอดให้ผลลบ

ผู้ป่วยที่ผลการสืบค้นในช่องเยื่อหุ้มปอดให้ผลลบ ไม่เข้าเกณฑ์การวินิจฉัยวัณโรคเยื่อหุ้มปอดหรือมะเร็งเยื่อหุ้มปอด

1. ผู้ป่วยที่อาการทางคลินิกบ่งว่าน่าจะเป็นวัณโรคเยื่อหุ้มปอด ประเมินผลการรักษาว่าตอบสนองต่อการให้ยาด้านวัณโรค และไม่มีหลักฐานอื่นที่บ่งว่ามีสาเหตุอื่น ให้การวินิจฉัยผู้ป่วยในกลุ่มนี้ว่า “น่าจะเป็นวัณโรคเยื่อหุ้มปอด”
2. ผู้ป่วยที่อาการทางคลินิกและผลการสืบค้นอื่นๆบ่งว่าน้ำในช่องเยื่อหุ้มปอดน่าจะมีสาเหตุจากมะเร็ง โดยสามารถยืนยันได้ว่ามีโรคมะเร็งจริงในระบบอวัยวะอื่น และสามารถอธิบายการเกิดน้ำในช่องเยื่อหุ้มปอดได้จากพยาธิสภาพที่ตรวจพบ และไม่พบโรคอื่นๆที่จะเป็นสาเหตุได้ จะให้การวินิจฉัยผู้ป่วยในกลุ่มนี้ว่า “น้ำในช่องเยื่อหุ้มปอดที่เกี่ยวข้องกับมะเร็ง”
3. การวินิจฉัยว่ามีสาเหตุจากโรคอื่น เมื่อพบโรคที่อธิบายสาเหตุของน้ำในช่องเยื่อหุ้มปอดนั้นได้ และมีลักษณะทางคลินิก การตอบสนองต่อการรักษาและองค์ประกอบของน้ำในช่องเยื่อหุ้มปอดเข้าได้กับโรคนั้นๆ

ปริมาณน้ำในช่องเยื่อหุ้มปอดจากภาพรังสีปอด

ปริมาณเล็กน้อย (mild) คือ ปริมาณน้อยกว่าหนึ่งในสามของทรวงอกหนึ่งข้าง

ปริมาณปานกลาง (moderate) คือ ปริมาณหนึ่งในสามถึงสองในสามของทรวงอกหนึ่งข้าง

ปริมาณมาก (massive) คือ มากกว่าสองในสามของทรวงอกหนึ่งข้าง

การวิเคราะห์ข้อมูล

1. แบ่งผู้ป่วยเป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่มวัณโรคเยื่อหุ้มปอด และกลุ่มที่ไม่ใช่วัณโรคเยื่อหุ้มปอด
2. เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของระดับ IFN- γ ในน้ำจากช่องเยื่อหุ้มปอดระหว่างกลุ่มต่างๆ และความไว ความจำเพาะในการวินิจฉัยของวิธีการต่างๆ โดยใช้ Unpaired *t*-test³⁵
3. กำหนดจุดตัดต่างๆที่จะใช้ในการวินิจฉัยวัณโรคเยื่อหุ้มปอด สร้างตาราง 2x2 คำนวณค่า Sensitivity, Specificity และ Likelihood ratio for positive test ที่จุดตัดนั้นๆโดยใช้สูตร²⁶ ดังนี้

$$\text{Sensitivity} = \text{true positive} / (\text{true positive} + \text{false negative})$$

$$\text{Specificity} = \text{true negative} / (\text{true negative} + \text{false positive})$$

$$\text{Likelihood ratio for positive test (LR+)} = \text{sensitivity} / (1 - \text{specificity}) \text{ หรือ } \text{true positive} / \text{false positive}$$

4. นำค่า sensitivity และ 1-specificity ของจุดตัดต่างๆมาสร้าง Receiver Operating Characteristic (ROC) Curve โดย plot sensitivity ในแกน y และ 1-specificity ในแกน x เพื่อวิเคราะห์ว่าจุดตัดใดเป็นจุดตัดที่เหมาะสมที่สุดที่จะใช้ในการวินิจฉัยวัณโรคเยื่อหุ้มปอด³⁶

5. ค่า 95% Confident Interval (95% CI) ของความไวและความจำเพาะ คำนวณจาก

$$\text{sensitivity} \pm 1.96\text{SEM} \quad \text{และ} \quad \text{specificity} \pm 1.96\text{SEM}$$

โดย SEM คือ Standard error of the mean คำนวณโดยใช้สูตร $\text{SEM} = \sqrt{p(1-p)/n}$

โดย $p = \text{sensitivity}$ หรือ specificity และ $n = \text{จำนวนตัวอย่าง}$ ³⁵

การนำเสนอข้อมูล

นำเสนอในรูปแบบตาราง แผนภูมิและกราฟ

ตารางการปฏิบัติงาน (Time Schedule)

เตรียมโครงการ	มกราคม - กุมภาพันธ์ พ.ศ. 2540
เสนอโครงร่าง	มีนาคม พ.ศ. 2540
เก็บรวบรวมข้อมูล	เมษายน พ.ศ. 2540 - มกราคม พ.ศ. 2541
วิเคราะห์ข้อมูล	กุมภาพันธ์ - มีนาคม พ.ศ. 2541
นำเสนอ	เมษายน พ.ศ. 2541

ปัญหาทางจริยธรรม (Ethical Considerations)

การเจาะน้ำในช่องเยื่อหุ้มปอดและการตัดชิ้นเนื้อจากเยื่อหุ้มปอดถือเป็นการตรวจที่มีโอกาสทำให้เกิดอันตรายได้ (invasive) ในการกำหนดเกณฑ์การเลือกผู้ป่วยเข้ามาทำการศึกษาและเกณฑ์การตัดออกได้กำหนดให้ผู้ที่ได้รับเลือกเป็นผู้ที่มีความจำเป็นจะได้รับการตรวจรักษาโดยการเจาะน้ำในช่องเยื่อหุ้มปอดและตัดชิ้นเนื้อเยื่อหุ้มปอดตามมาตรฐานการตรวจรักษาอยู่แล้ว อย่างไรก็ตามผู้ป่วยจะได้รับคำอธิบายถึงวัตถุประสงค์ของการเจาะ วิธีการที่ใช้ ประโยชน์ที่จะได้รับ อันตรายที่อาจจะเกิดขึ้นรวมทั้งผลข้างเคียงต่างๆก่อนการเจาะ และจะทำกรเจาะเมื่อได้รับความยินยอมจากผู้ป่วยแล้ว โครงการนี้ได้ผ่านการพิจารณาจากคณะกรรมการจริยธรรมแล้ว

กรณีที่มีการสับสนในช่องเยื่อหุ้มปอดในครั้งแรกไม่สามารถให้การวินิจฉัยโรคได้ เมื่อติดตามผู้ป่วยมารับการตรวจรักษาเพิ่มเติม ผู้ป่วยจะได้รับคำอธิบายถึงเหตุผลของการที่การเจาะในครั้งแรกไม่ได้ผล ความจำเป็นในการเจาะซ้ำ และผู้ป่วยจะเป็นผู้เลือกว่าจะให้ทำการเจาะซ้ำหรือจะขอติดตามดูอาการทางคลินิกภายหลังรับการรักษา

งบประมาณ (Budget)

งบประมาณในส่วนที่นอกเหนือจากการตรวจตามปกติ ได้รับการสนับสนุนดังนี้
การเพาะเชื้อไวรัสโรคไข้วัดคูปกรณ์ที่มีในสาขาวิชาโรคระบบการหายใจและไวรัสโรค ภาค
วิชาอายุรศาสตร์

การเก็บตัวอย่างน้ำในช่องเยื่อหุ้มปอดในตู้เย็น -70°C ของสาขาวิชาทางเดินอาหาร ภาค
วิชาอายุรศาสตร์

ค่าใช้จ่ายในการซื้อชุดตรวจแกมมาอินเตอร์เฟียร์อน (85,800 บาท) หลอดพลาสติกที่ใช้
เก็บน้ำจากช่องเยื่อหุ้มปอด (2,970 บาท) และค่าตรวจ protein และ LDH ในเลือดและน้ำจากช่อง
เยื่อหุ้มปอด (16,000บาท) ได้รับการสนับสนุนจาก ทุนวิจัยรัชดาภิเษกสมโภช คณะแพทยศาสตร์
ปี พ.ศ. 2540