

บทที่ 3

วิธีการวิจัย

รูปแบบการวิจัย (Research Design)

เป็นการวิจัยศึกษาเชิงพรรณนา (Descriptive study) แบบ cross-sectional ศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างระดับ HCV-RNA ในเลือดซึ่งวัดด้วยวิธี PCR และระดับความรุนแรงของตับอักเสบทางพยาธิวิทยาจากการทำ liver biopsy ซึ่งได้รับการประเมินด้วยคะแนนระบบของ Scheuer และระบบของ Knodell โดยพยาธิแพทย์ โดยการเจาะเลือดและการทำ liver biopsy ทำในช่วงเวลาเดียวกัน

ระเบียบวิธีวิจัย (Research Methodology)

การคัดเลือกผู้ป่วย

Inclusion criteria

1. ผู้ป่วยที่มีผลบวกต่อ anti-HCV และ HCV-RNA ที่มาตรวจวินิจฉัยในผู้ป่วยนอกและหน่วยโรคทางเดินอาหาร รพ.จุฬาลงกรณ์
2. ผู้ป่วยที่มีผลบวกต่อ anti-HCV และ HCV-RNA ที่ได้รับการเก็บเลือดในขณะที่ทำ liver biopsy หรือภายใน 3 เดือนก่อนหรือหลังทำ liver biopsy โดยขบวนการในการเก็บรักษาที่ได้มาตรฐานและปริมาณเลือดมากพอที่จะทำการศึกษา
3. ผู้ที่ยินยอมเข้าร่วมโครงการวิจัย

Exclusion criteria

1. ผู้ที่มีประวัติดื่มสุราจัด คือประมาณมากกว่า 60 กรัมต่อวัน
2. ผู้ป่วยที่มีผลบวกต่อ HBsAg หรือ HBV-DNA หรือ anti-HIV
3. ผู้ที่มีอาการและอาการแสดงทางคลินิกที่บ่งว่ากำลังมีภาวะตับอักเสบเฉียบพลัน

4. มีโรคตับเรื้อรังชนิดอื่น ๆ ร่วมด้วยนอกเหนือจากไวรัส HCV
5. มีประวัติเคยการได้รับการรักษาด้วยยาในกลุ่ม immunomodulator หรือยาต้านไวรัสอื่น ๆ ก่อนทำการเจาะเลือดและทำ liver biopsy
6. ผู้ที่มีข้อห้ามในการทำ liver biopsy เช่น มีภาวะการแข็งตัวของเลือดผิดปกติ
7. ผู้ที่มีโรคร้ายแรงและไม่อาจควบคุมอื่นร่วมด้วย เช่น ภาวะไตวายเฉียบพลัน ภาวะหัวใจวายรุนแรงหรือมะเร็งเป็นต้น

การคำนวณขนาดตัวอย่าง (Sample size)

ถ้าหากทราบค่าสัมประสิทธิ์ความสัมพันธ์ (correlation coefficient, r) จากการศึกษาก่อนหน้านี้หรือจาก การศึกษานำร่อง (pilot study) ก็จะสามารถคำนวณขนาดตัวอย่างได้จากสูตร

$$N = \left[\frac{2Z_{\alpha/2}}{Z_u - Z_l} \right]^2 + 3$$

โดยที่

$$Z = \frac{1}{2} \ln \left[\frac{1 + \rho}{1 - \rho} \right]$$

กำหนดให้

ρ = population correlation coefficient

u = upper limit

l = lower limit

แต่เนื่องจากยังไม่เคยมีการศึกษาเรื่องของความสัมพันธ์ระหว่างระดับของ HCV-RNA และระดับความรุนแรงของตับอักเสบทางพยาธิวิทยามาก่อนจึงไม่ทราบค่าสัมประสิทธิ์ความสัมพันธ์ดังกล่าว ดังนั้นจึงใช้จำนวนผู้ป่วยมากที่สุดเท่าที่มี โดยกำหนดว่าจำนวนผู้ป่วยต้องมากกว่า 30 รายเพื่อให้ครอบคลุมการกระจายของความรุนแรงระดับต่างๆได้พอเพียง

วิธีการวิจัย

1. ผู้ป่วยที่มีผลบวกต่อ anti-HCV และ HCV-RNA จากการตรวจยืนยัน และยินยอมเข้าร่วมโครงการวิจัยจะเข้าสู่การวิจัย
2. ผู้ป่วยจะได้รับการซักประวัติและตรวจร่างกายตามแบบการบันทึกข้อมูลลงในภาคผนวก
3. ผู้ป่วยจะได้รับการเจาะเลือดเพื่อส่งตรวจทางห้องปฏิบัติการอันประกอบด้วย complete blood count (CBC), plasma glucose, blood urea nitrogen (BUN), creatinine (CR), electrolytes, liver function test ซึ่งรวมถึงระดับเอนไซม์ transaminases, serum protein, serum albumin, prothrombin time, HBsAg, alphafetoprotein และส่งเลือด clotted blood 10 มล. ไปยังห้องปฏิบัติการภูมิคุ้มกันวิทยาเพื่อปั่นแยกซีรัมและทำการตรวจหาระดับ HCV-RNA ด้วยวิธี competitive quantitative PCR และตรวจหา HBV-DNA ด้วย
4. ผู้ป่วยจะได้รับการส่งตรวจ ultrasound ของช่องท้องส่วนบน
5. รับผู้ป่วยไว้ในหอผู้ป่วยอายุรกรรม โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์
6. ผู้ป่วยทุกรายจะได้รับการทำ liver biopsy หลังจากงดอาหาร 6-8 ชั่วโมง
7. ผู้ป่วยจะได้รับการดูแลอยู่ในหอผู้ป่วยต่อเป็นเวลาประมาณ 1 วันและจะได้รับการตรวจบันทึกอาการหลังการทำ liver biopsy
8. ระดับ HCV-RNA ในเลือดจะทำการตรวจในห้องปฏิบัติการของหน่วยภูมิคุ้มกันวิทยาภาค วิชาจุลชีววิทยา คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
9. ชิ้นเนื้อจะได้รับการอ่านผลโดยพยาธิแพทย์ที่ปรึกษาโครงการท่านเดียวตลอด และให้คะแนนตามลักษณะทางพยาธิวิทยาด้วยระบบ Scheuer score ดังแสดงในตารางที่ 3 (16) และ Knodell score ดังตารางที่ 4 (30)

การรวบรวมข้อมูล (Data Collection)

เก็บรวบรวมลงในแบบบันทึกข้อมูล (case record form) ดังแสดงในภาคผนวก โดยแพทย์ผู้วิจัยหรือแพทย์ประจำบ้านหน่วยโรคทางเดินอาหาร แผนกอายุรศาสตร์ โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์

การวิเคราะห์ข้อมูล (Data Analysis)

1. วิเคราะห์ข้อมูลพื้นฐาน เช่น อายุ เพศ อาการและอาการแสดง ประวัติการได้รับเลือด ผลการตรวจทางห้องปฏิบัติการเบื้องต้น ระดับ transaminases ระดับของ HCV-RNA ระดับความรุนแรงของตับอักเสบและภาวะตับแข็งที่พบจากการตรวจทางพยาธิวิทยา (histologic score) อาการและภาวะแทรกซ้อนที่เกิดจากการทำ liver biopsy ใช้วิธีการทางสถิติคือ ค่าร้อยละ ค่าเฉลี่ย ค่าความเบี่ยงเบนมาตรฐาน
2. วิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างระดับ transaminases กับ histologic score ใช้วิธีการทางสถิติคือ การทำกราฟการกระจาย การหาความสัมพันธ์โดยวิธีของ Spearman rank correlation test
3. วิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างระดับของ HCV-RNA ที่ได้จากการหาด้วยวิธีการวัดโดย quantitative PCR กับ histologic score ใช้วิธีการทางสถิติคือ การทำกราฟการกระจาย การหาความสัมพันธ์โดยวิธีของ Spearman rank correlation test
4. วิเคราะห์ความแตกต่างของระดับความรุนแรงของตับอักเสบทางพยาธิวิทยา ระหว่างกลุ่มผู้ป่วยที่มีประวัติการได้รับเลือดหรือองค์ประกอบของเลือดกับกลุ่มผู้ป่วยที่ไม่มีประวัติดังกล่าว ใช้วิธีการทางสถิติคือ Wilcoxon rank sum test

สรุปแนวทางการดำเนินการวิจัย

ดังแสดงในภาพที่ 8