

บทที่ 3

วิธีการวิจัย (Methodology)

ค่าอ้างอิง (reference value) เป็นสิ่งสำคัญที่แพทย์ใช้ในการแปลผลทางห้องปฏิบัติการคลินิก ปัจจุบันมีการใช้ลิเทียมเฮปารินพลาสมาแทนซีรัมมากขึ้น สำหรับการตรวจวิเคราะห์กลูโคสในเลือด ในงานประจำวัน โดยเฉพาะอย่างยิ่งในกรณีเร่งด่วน การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์ที่จะกำหนดค่าอ้างอิงของ creatinine และ blood urea nitrogen (BUN) ที่ใช้ในการทดสอบการทำงานของไต โดยใช้ลิเทียมเฮปารินพลาสมา นอกจากนี้คณะผู้วิจัยนำค่าอ้างอิงดังกล่าวมาเปรียบเทียบกับค่าอ้างอิงที่วิเคราะห์โดยบริษัทผู้ผลิตว่าแตกต่างกันอย่างไร และมีข้อเสนอแนะให้ใช้ค่าอ้างอิงของลิเทียมเฮปารินพลาสมาใช้เองในแต่ละห้องปฏิบัติการหรือไม่ การดำเนินการวิจัยแบ่งออกเป็นข้อๆ ได้ดังนี้

3.1 กลุ่มตัวอย่าง (Subjects)

อาสาสมัครได้มาจากผู้ที่มีสุขภาพดีจำนวน 120 คน (ประกอบด้วยชายและหญิงจำนวน 60 คน) โดยทราบจากข้อมูลส่วนตัวด้านสุขภาพ ประวัติการเจ็บป่วย และการตรวจร่างกาย อาสาสมัครได้เซ็นเพื่อยินยอมเข้าร่วมการวิจัยครั้งนี้ โดยใช้เกณฑ์ต่อไปนี้

- เกณฑ์ที่อาสาสมัครต้องมี (inclusion criteria)

เป็นอาสาสมัครที่มีสุขภาพดี อายุระหว่าง 20-50 ปี

มีสัญญาณชีพปกติ (normal vital signs) ความดันโลหิตปกติ ผลการตรวจร่างกายปกติ

(normal physical examination) (Horowitz, 2008)

- เกณฑ์ที่ต้องคัดออกจากงานวิจัย (exclusion criteria)

มีการใช้ยา (drug use)

พักฟื้นหลังการผ่าตัด (recent surgery)

ตั้งครรภ์ (pregnancy)

สูบบุหรี่ หรือดื่มสุรา

มีการออกกำลังกายก่อนมาเจาะเลือด

โรคอ้วน (obesity)

ติดเชื้อชนิดต่างๆ ทางเลือด (blood borne infection) เช่น ไวรัสตับอักเสบบี หรือซี เอ็ดส์

ซิฟิลิส เป็นต้น

ทั้งนี้ขั้นตอนการยินยอมของอาสาสมัครในการทำการวิจัยครั้งนี้ ผ่านการรับรองโดยคณะกรรมการจริยธรรมการวิจัยในคน (Research Ethics Committees) แล้ว

3.2 การเตรียมตัวอย่าง (Specimen collection and handling)

หลังจากให้อาสาสมัครแต่ละคนอดอาหารเป็นเวลา 8-12 ชั่วโมง เจาะเลือดจากหลอดเลือดดำจำนวน 8 ml นำเลือด 4 ml ใส่หลอดเก็บเลือดสำหรับซีรัม ส่วนอีก 4 ml ใส่หลอดเก็บเลือดสำหรับลิเทียมเฮปารินพลาสมา (lithium heparin 12-30 IU/ml of blood) จากบริษัท Greiner Bio-One (Greiner Bio-One, 2002)

3.3 เครื่องมือและน้ำยาสำหรับวิเคราะห์ (Instrument and reagents)

วิเคราะห์สารชีวเคมีโดยเครื่องวิเคราะห์อัตโนมัติ Cobas c111 (Roche Diagnostic GmbH, Germany) และชุดน้ำยาวิเคราะห์ (*in vitro* test kits) จาก Roche Diagnostics (Thailand) Ltd. สำหรับตรวจวิเคราะห์ creatinine (CRE) และ blood urea nitrogen (BUN) โดยใช้สารปรับความพร้อมของเครื่องวิเคราะห์ (calibrator) คือ calibrator for automated system หรือ calibrator f.a.s. และควบคุมคุณภาพโดยใช้ตัวอย่างควบคุมคุณภาพ คือ precinorm universal plus control (PNU) และ precipath universal plus control (PPU) ข้อมูลของหลักการการวิเคราะห์ creatinine และ blood urea nitrogen ตลอดจน calibrator และ controls ของสารชีวเคมีดังกล่าวได้แสดงไว้ที่ภาคผนวก

3.4 วิธีการทดลอง (Methods)

ปั่นแยกพลาสมาทันที (3,000 rpm/5 min) พลาสมา ส่วนซีรัมตั้งทิ้งไว้จนเลือดแข็งตัวสมบูรณ์ แล้วจึงแยกซีรัมออกมา พลาสมาและซีรัมที่แยกได้นำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่องวิเคราะห์สารชีวเคมีในเลือดอัตโนมัติ Cobas c111 (Roche Diagnostic, Switzerland) โดยวิเคราะห์ควบคู่ไปกับตัวอย่างควบคุมคุณภาพ (control materials) ในระดับต่ำ และสูง ขั้นตอนวิเคราะห์ทำตามวิธีการของบริษัทผู้ผลิต

3.5 การวิเคราะห์ข้อมูล (Data analysis)

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติใช้โปรแกรม SPSS computer program version 11.0 (SPSS, Chicago, IL) ค่าเฉลี่ย (Means) ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (Standard deviations, SD) และ เปอร์เซ็นต์ความแตกต่าง (%CV) แสดงค่าสถิติเป็นเชิงพรรณนา ส่วนการเปรียบเทียบค่าปกติของ blood urea nitrogen (BUN) และ creatinine ระหว่างลิเทียมเฮปารินพลาสมาและบริษัทผู้ผลิตโดยใช้สถิติ the paired *t*-test ความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่างกลุ่มตัวอย่างใช้ $\alpha < 0.05$ (two-tailed) หรือ $p < 0.05$