ความไว ความจำเพาะ และการเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการวินิจฉัยเชื้อราที่เล็บ ระหว่างการตรวจด้วยเดอร์โมสโคปร่วมกับการตรวจด้วยโพแตสเซียมไฮดรอกไซด์เทียบกับการตัดเล็บย้อมด้วยพิริออดิกเอซิดซิฟฟ์

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาอายุรศาสตร์ ภาควิชาอายุรศาสตร์
คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปีการศึกษา 2559

ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของวิทยานิพนธ์ตั้งแต่ปีการศึกษา 2554 ที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของวิทยานิพนธ์ ที่ส่งผ่านทางบัณฑิตวิทยาลัย
The abstract and full text of theses from the academic year 2011 in Chulalongkorn University Intellectual Repository (CUIR)
are the thesis authors' files submitted through the University Graduate School.

The Sensitivity, Specificity and Comparison of Potassium Hydroxide Mounts Combined with Dermoscopic Examination and Nail Plate Biopsy Using Periodic Acid-Schiff in the Diagnosis of Onychomycosis

Mr. Chayapon Chatchavanich

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Science Program in Medicine
Department of Medicine
Faculty of Medicine
Chulalongkorn University
Academic Year 2016
Copyright of Chulalongkorn University

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

หัวข้อวิทยานิพนธ์	ความไว ความจำเพาะ และการเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการวินิจฉัยเชื้อราที่เล็บ ระหว่างการตรวจด้วยเดอร์โมสโคปร่วมกับการตรวจด้วยโพแตสเซียมไฮดรอกไซด์เทียบกับการตัดเล็บย้อมด้วยพิริออดิกเอซิดชิฟฟ์
โดย	นายชญานนท์ ชัชวาลวานิช
สาขาวิชา	อายุรศาสตร์
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ นายแพทย์เจตน์ วิทิตสุวรรณกุล
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม	รองศาสตราจารย์ ดร.อริยา จินดามพร

คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญามหาบัณฑิต

....คณบดีคณะแพทยศาสตร์

(ศาสตราจารย์ นายแพทย์สุทธิพงศ์ วัชรสินธุ)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

....ประธานกรรมการ

(รองศาสตราจารย์ นายแพทย์พิสุทธิ์ กตเวทิน)

....อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ นายแพทย์เจตน์ วิทิตสุวรรณกุล)

....อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

(รองศาสตราจารย์ ดร.อริยา จินดามพร)

....กรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ แพทย์หญิงอรอุมา ชุติเนตร)

....กรรมการภายนอกมหาวิทยาลัย

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ แพทย์หญิงเพ็ญวดี พัฒนปรีชากุล)

ชญานนท์ ชัชวาลวานิช : ความไว ความจำเพาะ และการเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการวินิจฉัยเชื้อราที่เล็บระหว่างการตรวจด้วยเดอร์โมสโคปร่วมกับการตรวจด้วยโพแตสเซียมไฮดรอกไซด์เทียบกับการตัดเล็บย้อมด้วยพิริออดิกเอซิดชิฟฟ์ (The Sensitivity, Specificity and Comparison of Potassium Hydroxide Mounts Combined with Dermoscopic Examination and Nail Plate Biopsy Using Periodic Acid-Schiff in the Diagnosis of Onychomycosis) อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก: ผศ. นพ.เจตน์ วิทิตสุวรรณกุล, อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม: รศ. ดร.อริยา จินดามพร, 64 หน้า.

ที่มา: เชื้อราที่เล็บเป็นสาเหตุถึงร้อยละ 50 ของเล็บที่ผิดรูป การวินิจฉัยที่ถูกต้องเป็นสิ่งสำคัญในการหลีกเลี่ยงการรักษาที่ไม่จำเป็นและอาจก่อให้เกิดภาวะแทรกซ้อนจากปฏิกิริยาระหว่างยา การตรวจด้วยโพแตสเซียมไฮดรอกไซด์และเดอร์โมสโคปเป็นการตรวจที่รวดเร็วและค่าใช้จ่ายต่ำ ยังไม่เคยมีการศึกษาที่นำการตรวจทั้งสองอย่างนี้มาใช้ร่วมกันในการวินิจฉัยเชื้อราที่เล็บ

วัตถุประสงค์: เพื่อศึกษาถึงความไวและความจำเพาะของการตรวจด้วยเดอร์โมสโคปร่วมกับการตรวจด้วยโพแตสเซียมไฮดรอกไซด์ และเปรียบเทียบกับการตัดเล็บย้อมด้วยพิริออดิกเอซิดชิฟฟ์ในการวินิจฉัยเชื้อราที่เล็บในผู้ป่วยที่มาด้วยเล็บผิดรูป

วิธีการศึกษา: ทำการศึกษาในอาสาสมัครอายุ 18 ปีขึ้นไป จำนวน 68 คน ซึ่งมารับการตรวจรักษาเรื่องเล็บผิดรูปที่คลินิคโรคผิวหนัง อาสาสมัครจะได้รับการตรวจร่างกายโดยแพทย์ ตรวจเล็บและถ่ายรูปเล็บด้วยเดอร์โมสโคปเพื่อหารูปแบบจำเพาะทั้ง 4 ได้แก่ รอยหยัก (Jagged proximal edge with spikes), ออโรร่า (Aurora pattern), ซากปรักหักพัง (Ruin appearance) และ เล็บแหว่งส่วนปลาย (Distal irregular termination) ร่วมกับการเก็บตัวอย่างเล็บส่งตรวจทางห้องปฏิบัติการอีก 5 วิธี ได้แก่ โพแตสเซียมไฮดรอกไซด์ การเพาะเชื้อรา การตัดเล็บย้อมด้วยพิริออดิกเอซิดชิฟฟ์ การตัดเล็บย้อมด้วยโกโมริเมทานามีน และ พีซีอาร์ (PCR) ตัววัดมาตรฐานในการวินิจฉัยการติดเชื้อราที่เล็บในการศึกษานี้ คือ การพบเล็บผิดรูป ร่วมกับ ผลบวกจากการตัดเล็บย้อมด้วยพิริออดิกเอซิดชิฟฟ์หรือการตัดเล็บย้อมด้วยโกโมริเมทานามีนอย่างใดอย่างหนึ่ง

ผลการศึกษา: จากการศึกษาพบว่า การตรวจด้วยโพแตสเซียมไฮดรอกไซด์มีความไว 83.3%, ความจำเพาะ 56.8% และความถูกต้อง 66.2% ซากปรักหักพังเป็นรูปแบบที่มีความไวมากที่สุด (sensitivity 87.5%) เล็บแหว่งส่วนปลายเป็นรูปแบบที่มีความจำเพาะมากที่สุด (specificity 86.4%) และถูกต้องที่สุด (accuracy 67.6%). ‘การพบเดอร์โมสโคปทั้ง 4 รูปแบบ’ มีความจำเพาะ 100% ผลบวกจาก ‘การตรวจด้วยโพแตสเซียมไฮดรอกไซด์ หรือ รูปแบบซากปรักหักพัง อย่างใดอย่างหนึ่ง’ ‘การตรวจด้วยโพแตสเซียมไฮดรอกไซด์ หรือ การพบรูปแบบจากเดอร์โมสโคปอย่างน้อย 2 รูปแบบใดๆ อย่างใดอย่างหนึ่ง’ หรือ ‘การพบรูปแบบจากเดอร์โมสโคปตั้งแต่ 1 รูปแบบใดๆ ขึ้นไป’ มีความไว 100% การตัดเล็บย้อมด้วยพิริออดิกเอซิดชิฟฟ์มีความไว ความจำเพาะ และความถูกต้อง เท่ากับ 54.2%, 100%, 83.8% ตามลำดับ หิมะถล่ม (Avalanche) เป็นเดอร์โมสโคปรูปแบบใหม่ที่พบในการศึกษานี้ซึ่งช่วยเพิ่มความไวของการวินิจฉัยเชื้อราที่เล็บได้เมื่อใช้ร่วมกับการตรวจด้วยโพแตสเซียมไฮดรอกไซด์ (sensitivity 87.5%)

สรุปผล: การตรวจด้วยเดอร์โมสโคปร่วมกับการตรวจด้วยโพแตสเซียมไฮดรอกไซด์มีความไวและความจำเพาะไม่ด้อยกว่าการตัดเล็บย้อมด้วยพิริออดิกเอซิดชิฟฟ์ในการวินิจฉัยเชื้อราที่เล็บโดยขึ้นกับวิธีการเลือกใช้ และเป็นเครื่องมือที่สามารถให้ผลการวินิจฉัยเชื้อราที่เล็บได้ตั้งแต่ครั้งแรก

ภาควิชา	อายุรศาสตร์	ลายมือชื่อนิสิต	....
สาขาวิชา	อายุรศาสตร์	ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาหลัก	....
ปีการศึกษา	2559	ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาร่วม	....

5874014130 : MAJOR MEDICINE
KEYWORDS: ONYCHOMYCOSIS, DERMOSCOPY, KOH, PAS, GMS, NAIL CLIPPING, NAIL PLATE BIOPSY, PCR

CHAYANON CHATCHAVALVANICH: The Sensitivity, Specificity and Comparison of Potassium Hydroxide Mounts Combined with Dermoscopic Examination and Nail Plate Biopsy Using Periodic Acid-Schiff in the Diagnosis of Onychomycosis. ADVISOR: ASST. PROF. JADE WITITSUWANNAKUL, M.D., CO-ADVISOR: ASSOC. PROF.ARIYA CHINDAMPORN, Ph.D., 64 pp.

Background: Onychomycosis accounts for up to 50% of dystrophic nails with increasing prevalence among the elderly. The accurate diagnosis is needed to diminish unnecessary treatment as well as its complications from the drug interaction. Dermoscopic examination and potassium hydroxide (KOH) mount, which are both convenient and inexpensive tools, can give prompt results on the first visit, but have never been studied in combination as diagnostic tools.

Objectives: To identify and compare the sensitivity, specificity and accuracy of 4 specific dermoscopic patterns combined with KOH mount to nail plate biopsy using Periodic Acid-Schiff staining in the diagnosis of onychomycosis.

Methods: 68 adult patients with dystrophic nails who visited the dermatology clinic were consecutively enrolled. After physical and nail examination, dermoscopic pictures were taken from all patients for later evaluation of 4 specific patterns (jagged proximal edge with spikes, aurora pattern, ruin appearance, distal irregular termination.) Nail specimens were collected by standard methods then sent for the KOH mount, fungal culture, histopathological examination using PAS stain (HPE-PAS), histopathological examination using GMS stain (HPE-GMS) and PCR. In this study, the gold standard for the diagnosis of onychomycosis was defined as clinically suggestive findings of onychomycosis plus at least 1 positive result from either HPE-PAS or HPE-GMS.

Results: KOH mount had the sensitivity, specificity and accuracy of 83.3%, 56.8% and 66.2%, respectively. For dermoscopic patterns, ruin appearance gave the highest sensitivity of 87.5% while distal irregular termination provided the highest specificity of 86.4% and accuracy of 67.6%. Interestingly, a positive result from 'all 4 of the 4 patterns' gave 100% specificity and 100% PPV. Moreover, positive results from either 'KOH or ruin appearance', 'KOH or at least any 2 of the 4 patterns' or 'at least any 1 of the 4 patterns' yielded 100% sensitivity and 100% NPV. HPE-PAS had the sensitivity, specificity and accuracy of 54.2%, 100% and 83.8%, respectively. Avalanche, a newly discovered dermoscopic pattern, used in combination with KOH mount extended the sensitivity to 87.5%.

Conclusions: Dermoscopic examination combined with potassium hydroxide mount has the non-inferior sensitivity and specificity to HPE-PAS in diagnosis of onychomycosis depending on the methods of combination and has shown promising value as single-visit tests.

Department:	Medicine	Student's Signature	....
Field of Study:	Medicine	Advisor's Signature	....
Academic Year:	2016	Co-Advisor's Signature	....

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์วิจัยชิ้นนี้จะไม่สามารถเกิดขึ้นและสำเร็จลุล่วงไปได้หากปราศจากความช่วยเหลือและความอนุเคราะห์จากบุคคลต่างๆ เหล่านี้

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ นายแพทย์ เจตน์ วิทิตสุวรรณกุล อาจารย์ประจำ หน่วยตจวิทยา ภาควิชาอายุรศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ซึ่งให้เกียรติ์เป็นอาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก กรุณาให้คำปรึกษาคำแนะนำและความช่วยเหลือในข้อขัดข้องต่างๆ รวมทั้งประเมินผลการศึกษาและตรวจแก้ไขวิทยานิพนธ์ครั้งนี้จนสำเร็จลุล่วงอย่างสมบูรณ์

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ แพทย์หญิง เพ็ญวดี พัฒนปรีชากุล อาจารย์ประจำ ภาควิชาวิชาตจวิทยา คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล มหาวิทยาลัยมหิดล พันตรีหฺญิง แพทย์หญิง ชุติกา ศรีสุทธิยากร อาจารย์ประจำ หน่วยตจวิทยา กองอายุรกรรม โรงพยาบาลพระมงกุฎเกล้า และรองศาสตราจารย์ ดร. อริยา จินดามพร อาจารย์ประจำภาควิชาจุลชีววิทยา คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่กรุณาเป็นอาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม ช่วยประเมินผลการศึกษาและให้คำแนะนำเป็นอย่างดีมาก

นางสาว นวพร วรศิลป์ชัย นิสิตปริญญาเอก สหสาขาจุลชีววิทยาทางการแพทย์ ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่คอยให้คำแนะนำในเรื่องเทคนิคการเพาะเชื้อราและเทคนิคการทำพีซีอาร์และติดต่อประสานงาน

นาย ทินกร ศรีอร่าม นักเทคนิคการแพทย์ประจำคลินิกโรคผิวหนัง ที่ช่วยตรวจหาเชื้อราด้วยวิธีโพแตสเซียมไฮดรอกไซด์อย่างชำนาญ

นางสาว พรเทพินทร์ จำปาพันธุ์ นักเทคนิคการแพทย์ และ นางสาว เรืองรอง กลิ่นหอม นักวิทยาศาสตร์การแพทย์ ประจำหน่วยตจวิทยา ภาควิชาอายุรศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ทำหน้าที่ดำเนินการเตรียมตัวอย่างเล็บสำหรับการตรวจหาเชื้อราด้วยวิธีการตัดเล็บย้อมด้วยพิริออดิกเอซิดซิฟฟ์และโกโมริเมทานามีน

บิดา มารดา และแพทย์หญิง จารุวรรณ สตางค์ทอง ที่คอยช่วยเป็นกำลังใจให้ตลอดเวลาจนกระทั่งวิทยานิพนธ์นี้สำเร็จลุล่วงไปได้

หากวิทยานิพนธ์ครั้งนี้สามารถเป็นประโยชน์ต่อผู้ที่สนใจ ผู้วิจัยขอยกความดีทั้งหมดให้แด่ทุกท่านที่กล่าวมา ถ้าหากมีข้อผิดพลาดประการใด ทางผู้วิจัยต้องขออภัยไว้ ณ ที่นี้และขอน้อมรับความผิดพลาดทั้งหมดไว้เพียงผู้เดียวโดยจะนำไปเพื่อปรับปรุงการศึกษาวิจัยในครั้งต่อๆ ไป

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย....ง

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.... จ

กิตติกรรมประกาศ.... ฉ

สารบัญ.... ช

สารบัญตาราง....ฏ

สารบัญรูปภาพ....ฑ

คำอธิบายสัญลักษณ์ และคำย่อ .... ฒ

บทที่ 1 1

บทนำ.... 1

ความสำคัญและที่มาของการวิจัย.... 1

การติดเชื้อราที่เล็บ (Onychomycosis).... 1

เกณฑ์การวินิจฉัยเชื้อรา (Diagnostic criteria) 2

เดอร์โมสโคป (Dermoscopy) หรือ กล้องส่องตรวจผิวหนัง 2

คำถามของการวิจัย (RESEARCH QUESTION).... 2

คำถามหลัก (PRIMARY RESEARCH QUESTION).... 2

คำถามรอง (SECONDARY RESEARCH QUESTION).... 3

วัตถุประสงค์ของการวิจัย (OBJECTIVE).... 3

สมมุติฐาน (HYPOTHESIS).... 4

Null Hypothesis (วัตถุประสงค์รอง) 4

Alternative Hypothesis (วัตถุประสงค์รอง) 4

กรอบแนวความคิดในการวิจัย (CONCEPTUAL FRAMEWORK).... 5

ข้อตกลงเบื้องต้น (ASSUMPTION).... 6

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

หน้า

คำนิยามเชิงปฏิบัติที่ใช้ในการวิจัย (OPERATIONAL DEFINITION) 6
Dystrophic nails 6
Gold standard 6
Onychomycosis 6
Specimen Collection 6
Dermoscopy 7
Direct Microscopy (KOH Preparation) 7
Fungal Culture 7
Histopathological examination of nail clippings using Periodic acid-Schiff staining (HPE-PAS) 7
Histopathological examination of nail clippings using Gomori Methenamine-Silver staining (HPE-GMS) 7
Polymerase Chain Reaction (PCR) 8
รูปแบบการวิจัย (RESEARCH DESIGN) 8
วิธีดำเนินการวิจัยโดยย่อ 8
ข้อพิจารณาทางจริยธรรม (ETHICAL CONSIDERATIONS) 9
หลักความเคารพในบุคคล (Respect for person) 9
หลักผลประโยชน์ (Beneficence/Non-maleficence) 9
หลักความยุติธรรม (Justice) 9
ข้อจำกัดทางการวิจัย (LIMITATION) 9
ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากงานวิจัย (EXPECTED BENEFIT AND APPLICATION) 9
อุปสรรคที่อาจเกิดขึ้นและมาตรการแก้ไข (OBSTACLES AND STRATEGIES TO SOLVE THE PROBLEMS) 10
บทที่ 2 11

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

หน้า

ทบทวนวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง (REVIEW OF RELATED LITERATURES)....... 11
เครื่องมือที่ใช้ในการวินิจฉัยเชื้อราที่เล็บ (Diagnostic tools in onychomycosis)....... 11
รูปแบบจากเดอร์โมสโคป (Dermoscopic pattern)....... 16
การตรวจด้วยวิธีพีซีอาร์ (PCR) 18
บทที่ 3 21
วิธีดำเนินการวิจัย 21
ระเบียบวิธีการวิจัย (RESEARCH METHODOLOGY)....... 21
ประชากร (POPULATION) และตัวอย่าง (SAMPLE)....... 21
เกณฑ์การคัดเลือกกลุ่มตัวอย่างเข้าร่วมโครงการวิจัย (Inclusion Criteria)....... 21
เกณฑ์การคัดเลือกกลุ่มตัวอย่างออกจากโครงการวิจัย (Exclusion Criteria)....... 21
เทคนิคในการสุ่มตัวอย่าง (Sample Techniques) 21
ขนาดตัวอย่าง (Sample Size Calculation)....... 22
การสังเกตและการวัด (OBSERVATION AND MEASUREMENT)....... 22
รูปแบบจากเดอร์โมสโคป (Dermoscopic Patterns)....... 22
การตรวจด้วยโพแตสเซียมไฮดรอกไซด์ (Direct Microscopy or KOH Preparation)....... 23
การเพาะเชื้อรา (Fungal Culture)....... 23
การตัดเล็บย้อมด้วยพิริออดิกเอซิดซิฟฟ์ (HPE-PAS)....... 23
การตัดเล็บย้อมด้วยโกโมริเมทานามีนซิลเวอร์ (HPE-GMS)....... 23
พีซีอาร์ (PCR)....... 23
ขั้นตอนในการดำเนินการวิจัย 23
การรวบรวมข้อมูล (DATA COLLECTION)....... 25
การวิเคราะห์ข้อมูล (DATA ANALYSIS) 25

หน้า

บทที่ 4 26
ผลการวิจัย 26
คุณลักษณะของประชากรในการศึกษา 26
ผลการศึกษาจำแนกออกเป็น 7 กลุ่ม ตามการให้ผลบวก ดังนี้ 29
รูปแบบหิมะถล่ม (Avalanche pattern).......... 38
การเพาะเชื้อรา (Fungal culture).......... 40
การตรวจด้วยวิธีพีซีอาร์ (PCR) 40
การรักษาการติดเชื้อราที่เล็บของผู้ป่วยที่เข้าร่วมการศึกษา.......... 43
บทที่ 5 45
อภิปราย สรุปผลการวิจัย และข้อเสนอแนะ 45
อภิปรายผล.......... 45
การวินิจฉัยการติดเชื้อราที่เล็บ (Definite case of onychomycosis) 46
การตรวจด้วยโพแตสเซียมไฮดรอกไซด์.......... 46
การเพาะเชื้อรา.......... 46
การตัดเล็บย้อมด้วยพีริออดิกเอซิดชิฟฟ์.......... 47
การตัดเล็บย้อมด้วยโกโมริเมทานามีนซิลเวอร์ 47
การตรวจด้วยวิธีพีซีอาร์ (PCR) 47
รูปแบบจากเดอร์โมสโคปทั้ง 4 รูปแบบ 48
รูปแบบรอยหยัก (Jagged proximal edge with spikes of the onycholytic area)...... 48
รูปแบบออโรร่า (Aurora pattern).......... 48
รูปแบบซากปรักหักพัง (“Ruin appearance” subungual keratosis).......... 48
รูปแบบเล็บแหว่งส่วนปลาย (Distal irregular termination).......... 49
รูปแบบหิมะถล่ม (Avalanche pattern) 50

หน้า

การนำไปประยุกต์ใช้ทางคลินิก........ 51
จุดแข็งของการวิจัย........ 53
ข้อจำกัดในการวิจัย........ 53
สรุปผล........ 54
ข้อเสนอแนะ........ 55
รายการอ้างอิง........ 56
ภาคผนวก ก........ 62
แบบบันทึกข้อมูล........ 62
ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์........ 64

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

สารบัญตาราง

ตารางที่ 1 ตารางแสดงจำนวนและร้อยละของคุณลักษณะของประชากรในการศึกษา..................... 27

ตารางที่ 2 ตารางแสดงการวิเคราะห์เปรียบเทียบการทดสอบชนิดเดี่ยวในการวินิจฉัยการติดเชื้อราที่เล็บเมื่อเทียบกับตัววัดมาตรฐาน (Gold standard).. 30

ตารางที่ 3 ตารางแสดงการวิเคราะห์เปรียบเทียบรูปแบบเดอร์โมสโคปชนิดเดี่ยวในการวินิจฉัยการติดเชื้อราที่เล็บเมื่อเทียบกับตัววัดมาตรฐาน (Gold standard)... 31

ตารางที่ 4 ตารางแสดงการวิเคราะห์เปรียบเทียบจำนวนการพบรูปแบบเดอร์โมสโคปแบบสะสมในการวินิจฉัยการติดเชื้อราที่เล็บเมื่อเทียบกับตัววัดมาตรฐาน (Gold standard)........................... 32

ตารางที่ 5 ตารางแสดงการวิเคราะห์เปรียบเทียบผลบวกจาก 'การตรวจด้วยโพแตสเซียมไฮดรอกไซด์ หรือ รูปแบบเดอร์โมสโคปชนิดเดี่ยว อย่างใดอย่างหนึ่ง' ในการวินิจฉัยการติดเชื้อราที่เล็บเมื่อเทียบกับตัววัดมาตรฐาน (Gold standard)... 33

ตารางที่ 6 ตารางแสดงการวิเคราะห์เปรียบเทียบผลบวกจาก 'การตรวจด้วยโพแตสเซียมไฮดรอกไซด์ หรือ จำนวนการพบรูปแบบเดอร์โมสโคปแบบสะสม อย่างใดอย่างหนึ่ง' ในการวินิจฉัยการติดเชื้อราที่เล็บเมื่อเทียบกับตัววัดมาตรฐาน (Gold standard) 35

ตารางที่ 7 ตารางแสดงการวิเคราะห์เปรียบเทียบผลบวกจากทั้ง 'การตรวจด้วยโพแตสเซียมไฮดรอกไซด์ และ รูปแบบเดอร์โมสโคปชนิดเดี่ยว พร้อมกัน' ในการวินิจฉัยการติดเชื้อราที่เล็บเมื่อเทียบกับตัววัดมาตรฐาน (Gold standard)... 36

ตารางที่ 8 ตารางแสดงการวิเคราะห์เปรียบเทียบผลบวกจากทั้ง 'การตรวจด้วยโพแตสเซียมไฮดรอกไซด์ และ จำนวนการพบรูปแบบเดอร์โมสโคปแบบสะสม พร้อมกัน' ในการวินิจฉัยการติดเชื้อราที่เล็บเมื่อเทียบกับตัววัดมาตรฐาน (Gold standard).. 37

ตารางที่ 9 ตารางแสดงผลการเพาะเชื้อรา และผลการตรวจด้วยวิธีพีซีอาร์ ในผู้ป่วยที่ได้รับการวินิจฉัยเชื้อราที่เล็บทั้งหมด 24 รายในการศึกษานี้... 40

ตารางที่ 10 ตารางแสดงรูปแบบของเดอร์โมสโคปที่พบในผู้ป่วยที่ได้รับการวินิจฉัยเชื้อราที่เล็บทั้งหมด 24 ราย จำแนกตามประเภทของเชื้อราจากการตรวจด้วยวิธีพีซีอาร์.................................. 42

ตารางที่ 11 ตารางแสดงการวิเคราะห์เปรียบเทียบผลบวกจากการตรวจด้วยโพแตสเซียมไฮดรอกไซด์ ร่วมกับการเพาะเชื้อราในการวินิจฉัยการติดเชื้อราที่เล็บเมื่อเทียบกับตัววัดมาตรฐาน (Gold standard).. 43

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

สารบัญรูปภาพ

รูปภาพที่ 1 แสดงรูปแบบจากเดอร์โมสโคปที่จำเพาะทั้ง 4 รูปแบบ (a) รูปแบบรอยหยัก[34] (b) รูปแบบออโรร่า[34] (c) รูปแบบซากปรักหักพัง[3] (d) รูปแบบเล็บแหว่งส่วนปลาย[36] (รูปภาพได้รับการดัดแปลงมาจากรูปภาพในการศึกษาก่อนหน้านี้) 18

รูปภาพที่ 2 แสดงรูปแบบจากเดอร์โมสโคปที่จำเพาะทั้ง 4 รูปแบบที่พบจากการศึกษานี้ (a) รูปแบบรอยหยัก (b) รูปแบบออโรร่า (c) รูปแบบซากปรักหักพัง (d) รูปแบบเล็บแหว่งส่วนปลาย .. 31

รูปภาพที่ 3 แสดงตัวอย่างรูปแบบจากเดอร์โมสโคปรูปแบบหิมะถล่ม (Avalanche pattern) ที่ค้นพบใหม่จากการศึกษานี้ และ รูปภาพหิมะถล่ม a อ้างอิงจาก Scientif38. (2007). Powder snow avalanche [Online image]. 39

รูปภาพที่ 4 แสดงรูปแบบจากเดอร์โมสโคปแบบซากปรักหักพังก่อนและหลังทำความสะอาดเล็บด้วยแอลกอฮอล์ 49

รูปภาพที่ 5 แสดงรูปแบบจากเดอร์โมสโคปแบบซากปรักหักพังก่อนและหลังการตัดเล็บ..... 49

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

คำอธิบายสัญลักษณ์ และคำย่อ

DLSO	Distal lateral subungual onychomycosis
PSO	Proximal subungual onychomycosis
WSO	White superficial onychomycosis
TDO	Total dystrophic onychomycosis
KOH	Potassium hydroxide
Culture	Nail plate culture on Sabouraud’s dextrose agar
HPE-PAS	Histopathological examination of nail clippings using PAS staining
HPE-GMS	Histopathological examination of nail clippings using GMS staining
PCR	Polymerase chain reaction
ELM	Epiluminescence microscopy or Dermoscopy
DMSO	Di-methyl-sulphoxide
SDA	Sabouraud’s Dextrose Agar

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

บทที่ 1

บทนำ

ความสำคัญและที่มาของการวิจัย

การติดเชื้อราที่เล็บ (Onychomycosis)

เชื้อราที่เล็บพบได้ประมาณร้อยละ 14 ของประชากรทั่วไป โดยความชุกเพิ่มมากขึ้นในกลุ่มประชากรที่สูงอายุ และเป็นสาเหตุถึงร้อยละ 50 ของเล็บที่ผิดรูป[1-3] (Dystrophic nail) โดยแบ่งเป็น 4 กลุ่มย่อย ได้แก่

1. Distal Lateral Subungual Onychomycosis (DLSO)
2. Proximal Subungual Onychomycosis (PSO)
3. White Superficial Onychomycosis (WSO)
4. Total Dystrophic Onychomycosis (TDO)

เชื้อราที่เล็บสามารถทำให้เกิดการติดเชื้อของผิวหนังและเนื้อเยื่อ (Cellulitis) โดยเฉพาะในกลุ่มผู้ป่วยเบาหวานและผู้ที่มีภูมิคุ้มกันบกพร่อง วิธีการตรวจยืนยันทางห้องปฏิบัติการเพื่อวินิจฉัยเชื้อราที่เล็บมีความสำคัญในการวินิจฉัยแยกโรคและหลีกเลี่ยงการรักษาที่ไม่จำเป็น เนื่องจากยารักษาเชื้อรากลุ่ม -เอโซล (-Azole) มีอันตรกิริยาระหว่างยา (Drug interaction) กับยาหลายชนิด เช่น ยาลดไขมันกลุ่มสเตติน (Statin) โดยสามารถทำให้เกิดภาวะกล้ามเนื้อสลายตัว (Rhabdomyolysis) และตับอักเสบ (Hepatitis) การวินิจฉัยที่ถูกต้องยังมีความสำคัญในการประเมินประสิทธิภาพของยาและวิธีการต่างๆ ในการรักษาเชื้อราที่เล็บอีกด้วย

ปัจจุบันการตรวจทางห้องปฏิบัติการเพื่อวินิจฉัยเชื้อราที่เล็บสามารถทำได้หลายวิธี เช่น

1. การตรวจด้วยโพแตสเซียมไฮดรอกไซด์ (KOH preparation หรือ Direct microscopy)
2. การเพาะเชื้อรา (Nail plate culture on Sabouraud’s dextrose agar)
3. การตัดเล็บย้อมด้วยพิริออดิกเอซิดซิฟฟ์ (Histopathological examination of nail clippings using PAS staining หรือ HPE-PAS)
4. การตัดเล็บย้อมด้วยโกโมริเมทานามีนซิลเวอร์ (Histopathological examination of nail clippings using GMS staining หรือ HPE-GMS)
5. พีซีอาร์ (Polymerase chain reaction หรือ PCR)

เกณฑ์การวินิจฉัยเชื้อรา (Diagnostic criteria)

เกณฑ์การวินิจฉัยเชื้อราที่เล็บที่ได้รับการยอมรับมากที่สุด คือ ลักษณะทางคลินิกที่เข้าได้กับการติดเชื้อราที่เล็บ ร่วมกับผลบวกจากการตรวจทางห้องปฏิบัติการอย่างน้อย 1 วิธี[4] โดยตัววัดมาตรฐาน (gold standard) ดั้งเดิมในการวินิจฉัยเชื้อราที่เล็บเป็นการตรวจด้วยโพแตสเซียมไฮดรอกไซด์ (KOH preparation) ร่วมกับการเพาะเชื้อรา (Fungal culture) บน Sabouraud's dextrose agar (SDA)[5] ซึ่งพบว่ามีความไวต่ำ การตรวจโดยการใช้หลายวิธีร่วมกันจะให้ผลที่ดีกว่า[6, 7] ภายหลังมีหลายการศึกษาพบว่าการตรวจด้วยวิธีการตัดเล็บย้อมด้วยพิริออดิกเอซิดซิฟฟ์ (Histopathological examination of nail clippings using PAS staining) เพียง 1 วิธี เป็นการตรวจที่มีความไวมากที่สุดและมีความไวมากกว่าการตรวจด้วยโพแตสเซียมไฮดรอกไซด์ร่วมกับการเพาะเชื้อรา และสามารถเป็นตัววัดมาตรฐาน (gold standard) สำหรับการวินิจฉัยเชื้อราที่เล็บ[4, 5, 7-14] อย่างไรก็ตาม การตรวจด้วยวิธีการตัดเล็บย้อมด้วยพิริออดิกเอซิดซิฟฟ์ มีค่าใช้จ่ายที่สูงกว่า จำเป็นต้องใช้บุคลากรที่ได้รับการฝึกมาพิเศษ และที่สำคัญต้องใช้เวลาในการตรวจ 1-2 วัน ไม่สามารถให้การวินิจฉัยและการรักษาที่ห้องตรวจโรคผู้ป่วยนอกได้ทันที

เดอร์โมสโคป (Dermoscopy) หรือ กล้องส่องตรวจผิวหนัง

เดอร์โมสโคป (Dermoscopy) หรือ Epiluminescence microscopy (ELM) เป็นเครื่องมือพกพาของตจแพทย์ที่สะดวก รวดเร็ว สามารถทำได้ทันที และไม่คุกคามผู้ป่วย (non-invasive) ทั้งยังเป็นเครื่องมือการตรวจวินิจฉัยที่ไม่มีค่าใช้จ่ายเพิ่มเติม ทางผู้วิจัยจึงมีความสนใจศึกษาการใช้วิธีการตรวจด้วยเดอร์โมสโคปร่วมกับการตรวจด้วยโพแตสเซียมไฮดรอกไซด์ในการวินิจฉัยเชื้อราที่เล็บในผู้ป่วยที่มาด้วยเล็บผิดรูป โดยเทียบกับวิธีการตัดเล็บย้อมด้วยพิริออดิกเอซิดซิฟฟ์ซึ่งเป็นวิธีที่มีความไวมากที่สุด

คำถามของการวิจัย (RESEARCH QUESTION)

คำถามหลัก (PRIMARY RESEARCH QUESTION)

การตรวจด้วยเดอร์โมสโคปร่วมกับการตรวจด้วยโพแตสเซียมไฮดรอกไซด์มีความไวและความจำเพาะในการวินิจฉัยเชื้อราที่เล็บในผู้ป่วยที่มาด้วยเล็บผิดรูปมากน้อยเพียงใด

การตัดเล็บย้อมด้วยพิริออดิกเอซิดซิฟฟ์มีความไวและความจำเพาะในการวินิจฉัยเชื้อราที่เล็บในผู้ป่วยที่มาด้วยเล็บผิดรูปมากน้อยเพียงใด

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

คำถามรอง (SECONDARY RESEARCH QUESTION)

การตรวจด้วยเดอร์โมสโคปร่วมกับการตรวจด้วยโพแตสเซียมไฮดรอกไซด์มีความไวและความจำเพาะในการวินิจฉัยเชื้อราที่เล็บแตกต่างจากการตัดเล็บย้อมด้วยพิริออดิกเอซิดชิฟฟ์ในผู้ป่วยที่มาด้วยเล็บผิดรูปใช่หรือไม่

การตรวจพีซีอาร์ (PCR) มีความไวและความจำเพาะในการวินิจฉัยเชื้อราที่เล็บแตกต่างจากการตัดเล็บย้อมด้วยพิริออดิกเอซิดชิฟฟ์ในผู้ป่วยที่มาด้วยเล็บผิดรูปใช่หรือไม่

การตรวจด้วยเดอร์โมสโคปมีความไวและความจำเพาะในการวินิจฉัยเชื้อราที่เล็บในผู้ป่วยที่มาด้วยเล็บผิดรูปมากน้อยเพียงใด

การตรวจด้วยโพแตสเซียมไฮดรอกไซด์มีความไวและความจำเพาะในการวินิจฉัยเชื้อราที่เล็บในผู้ป่วยที่มาด้วยเล็บผิดรูปมากน้อยเพียงใด

การตรวจด้วยการเพาะเชื้อรามีความไวและความจำเพาะในการวินิจฉัยเชื้อราที่เล็บในผู้ป่วยที่มาด้วยเล็บผิดรูปมากน้อยเพียงใด

การตรวจด้วยการตัดเล็บย้อมด้วยโกโมริเมทานามีนซิลเวอร์มีความไวและความจำเพาะในการวินิจฉัยเชื้อราที่เล็บในผู้ป่วยที่มาด้วยเล็บผิดรูปมากน้อยเพียงใด

การตรวจด้วยวิธีพีซีอาร์มีความไวและความจำเพาะในการวินิจฉัยเชื้อราที่เล็บในผู้ป่วยที่มาด้วยเล็บผิดรูปมากน้อยเพียงใด

วัตถุประสงค์ของการวิจัย (OBJECTIVE)

1.2.1 เพื่อศึกษาถึงความไวและความจำเพาะของการตรวจด้วยเดอร์โมสโคปร่วมกับการตรวจด้วยโพแตสเซียมไฮดรอกไซด์ในการวินิจฉัยเชื้อราที่เล็บในผู้ป่วยที่มาด้วยเล็บผิดรูป

1.2.2 เพื่อศึกษาถึงความไวและความจำเพาะของการตรวจด้วยเดอร์โมสโคปในการวินิจฉัยเชื้อราที่เล็บในผู้ป่วยที่มาด้วยเล็บผิดรูป

1.2.3 เพื่อศึกษาถึงความไวและความจำเพาะของการตรวจด้วยโพแตสเซียมไฮดรอกไซด์ในการวินิจฉัยเชื้อราที่เล็บในผู้ป่วยที่มาด้วยเล็บผิดรูป

1.2.4 เพื่อศึกษาถึงความไวและความจำเพาะของการเพาะเชื้อราในการวินิจฉัยเชื้อราที่เล็บในผู้ป่วยที่มาด้วยเล็บผิดรูป

1.2.5 เพื่อศึกษาถึงความไวและความจำเพาะของการตัดเล็บย้อมด้วยพิริออดิกเอซิดชิฟฟ์ในการวินิจฉัยเชื้อราที่เล็บในผู้ป่วยที่มาด้วยเล็บผิดรูป

1.2.6 เพื่อศึกษาถึงความไวและความจำเพาะของการตัดเล็บย้อมด้วยโกโมริเมทานามีนซิลเวอร์ในการวินิจฉัยเชื้อราที่เล็บในผู้ป่วยที่มาด้วยเล็บผิดรูป

1.2.7 เพื่อศึกษาถึงความไวและความจำเพาะของการตรวจด้วยวิธีพีซีอาร์ในการวินิจฉัยเชื้อราที่เล็บในผู้ป่วยที่มาด้วยเล็บผิดรูป

1.2.8 เพื่อเปรียบเทียบความไวและความจำเพาะในการวินิจฉัยเชื้อราที่เล็บระหว่างการตรวจด้วยเดอร์โมสโคปร่วมกับการตรวจด้วยโพแตสเซียมไฮดรอกไซด์เทียบกับการตัดเล็บย้อมด้วยพิริออดิกเอซิดซิฟฟ์

สมมุติฐาน (HYPOTHESIS)

Null Hypothesis (วัตถุประสงค์รอง)

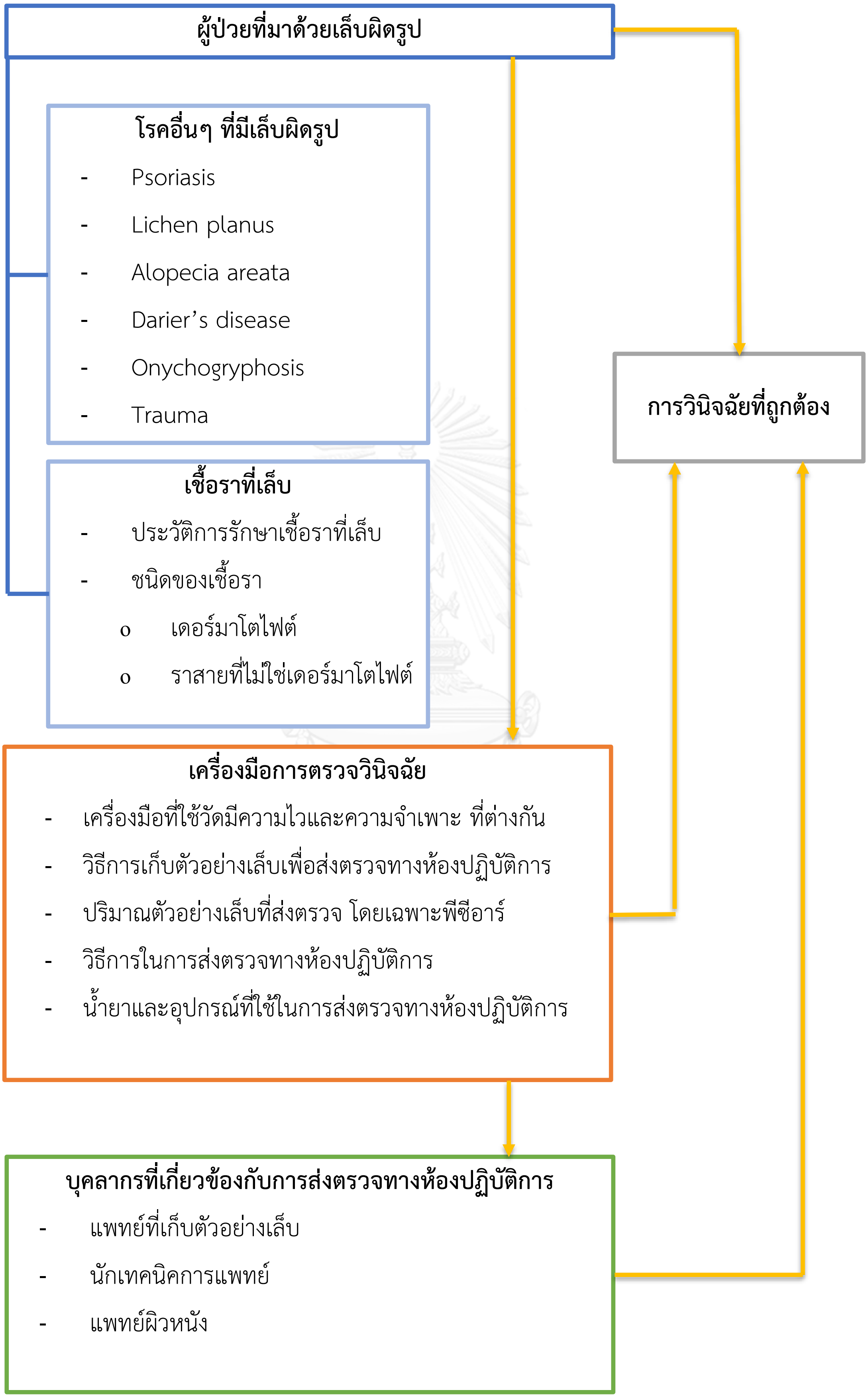
การตรวจด้วยเดอร์โมสโคปร่วมกับการตรวจด้วยโพแตสเซียมไฮดรอกไซด์มีความไวและความจำเพาะในการวินิจฉัยเชื้อราที่เล็บไม่แตกต่างจากการตัดเล็บย้อมด้วยพิริออดิกเอซิดซิฟฟ์ในผู้ป่วยที่มาด้วยเล็บผิดรูป

Alternative Hypothesis (วัตถุประสงค์รอง)

การตรวจด้วยเดอร์โมสโคปร่วมกับการตรวจด้วยโพแตสเซียมไฮดรอกไซด์มีความไวและความจำเพาะในการวินิจฉัยเชื้อราที่เล็บแตกต่างจากการตัดเล็บย้อมด้วยพิริออดิกเอซิดซิฟฟ์ในผู้ป่วยที่มาด้วยเล็บผิดรูป

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

กรอบแนวความคิดในการวิจัย (CONCEPTUAL FRAMEWORK)



ข้อตกลงเบื้องต้น (ASSUMPTION)

ถ้าการตรวจด้วยเดอร์โมสโคปร่วมกับการตรวจด้วยโพแตสเซียมไฮดรอกไซด์มีความไวและความจำเพาะในการวินิจฉัยเชื้อราที่เล็บเทียบเท่าการตัดเล็บย้อมด้วยพิริออดิกเอซิดซิฟฟ์ แสดงว่าการตรวจด้วยเดอร์โมสโคปร่วมกับการตรวจด้วยโพแตสเซียมไฮดรอกไซด์มีประสิทธิภาพเทียบเท่าตัดเล็บย้อมด้วยพิริออดิกเอซิดซิฟฟ์ในการวินิจฉัยเชื้อราที่เล็บในผู้ป่วยที่มาด้วยเล็บผิดรูป

คำนิยามเชิงปฏิบัติที่ใช้ในการวิจัย (OPERATIONAL DEFINITION)

Dystrophic nails

คือ เล็บผิดรูป โดยมีเปลี่ยนแปลงของเล็บในด้านของ texture หรือ composition สามารถมองเห็นจากการตรวจด้วยตาเปล่า

Gold standard

จากการทบทวนวรรณกรรม และเพื่อประโยชน์ในการนำไปประยุกต์ใช้ต่อไปในอนาคต การศึกษานี้จึงได้ใช้ผลบวกจากการตัดเล็บย้อมด้วยพิริออดิกเอซิดซิฟฟ์ หรือ การตัดเล็บย้อมด้วยโกโมริเมทานามีน อย่างใดอย่างหนึ่ง (positive result from either HPE-PAS or HPE-GMS) เป็นตัววัดมาตรฐาน (gold standard test)

Onychomycosis

การติดเชื้อราที่เล็บจากทั้งกลุ่มเดอร์มาโตไฟต์ (dermatophyte), ราสายที่ไม่ใช่กลุ่มเดอร์มาโตไฟต์ (non-dermatophyte mold) หรือ ยีสต์ (yeast) โดยมีเกณฑ์การวินิจฉัยเชื้อราที่เล็บ คือ ลักษณะทางคลินิกที่เข้าได้กับการติดเชื้อราที่เล็บร่วมกับผลบวกจากการตรวจทางห้องปฏิบัติการอย่างน้อย 1 วิธี[4]

Specimen Collection

ตัวอย่างเล็บ (Specimen) ที่ใช้ในการวิจัย คือ เล็บที่ผิดรูป การเก็บตัวอย่างเล็บใช้วิธีการเก็บที่แตกต่างกันตามชนิดย่อย (Subtype) ของการติดเชื้อราที่เล็บ (Onychomycosis) ดังนี้[15]

1. Distal Lateral Subungual Onychomycosis (DLSO) ใช้วิธีตัดเล็บ (Nail clipping) ด้วยกรรไกรตัดเล็บโดยตัดให้ลึกที่สุด (ความยาวอย่างน้อย 3 มิลลิเมตรถ้าเป็นไปได้) รวมทั้งตัด subungual debris จนถึงรอยต่อกับ nail bed หลังจากนั้นจะแบ่งครึ่งตัวอย่างเล็บเป็น 2 ส่วนตามแนวซ้ายขวา โดยครึ่งหนึ่งจะส่งย้อมด้วยพิริออดิกเอซิดซิฟฟ์ (HPE-PAS) และย้อมด้วยโกโมริเมทานามีนซิลเวอร์ (HPE-GMS) สำหรับอีกครึ่งที่เหลือจะส่งเพาะเชื้อรา (Fungal Culture) และพีซีอาร์ (PCR) หลังจากทำการตัดเล็บแล้ว จะใช้ใบมีด (no. 15 Scalpel Blade) ขูดข้างใต้แผ่นเล็บบริเวณ

ด้าน proximal ที่สุดจากเล็บส่วนที่ยังติดอยู่กับผู้เข้าร่วมวิจัย เพื่อส่งตรวจด้วยโพแตสเซียมไฮดรอกไซด์ (KOH preparation)

2. Total Dystrophic Onychomycosis (TDO) ใช้วิธีการเก็บตัวอย่างเล็บเช่นเดียวกับ DLSO

Dermoscopy

เดอร์โมสโคปที่ใช้ในงานวิจัยนี้ คือ DermLite Dermatoscope รุ่น DL4 กำลังขยาย optical zoom 10x ซึ่งจะต่อกับ iPhone SE เพื่อถ่ายรูปเล็บ ณ ห้องตรวจคลินิกผิวหนัง

Direct Microscopy (KOH Preparation)

เก็บตัวอย่างเล็บด้วยวิธีตามชนิดย่อยของการติดเชื้อราที่เล็บดังกล่าวข้างต้น แล้วนำมาทำการ mount ด้วยสารละลาย 20% Potassium hydroxide + 40% Di- methyl- sulphoxide (20%KOH/40%DMSO) และนำไปส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์ การตรวจนี้สามารถทราบผลได้ภายใน 10 นาที

Fungal Culture

เก็บตัวอย่างเล็บด้วยวิธีตามชนิดย่อยของการติดเชื้อราที่เล็บดังกล่าวข้างต้น ใส่ขวด sterile เพื่อส่งเพาะเชื้อบน Saboraud’s Dextrose Agar โดยแจ้งให้เจ้าหน้าที่ที่เกี่ยวข้องทราบ รวบรวมส่งเวลา 08.30 ของเช้าวันรุ่งขึ้นที่ห้องปฏิบัติการที่ตึก อปร. ชั้น 15 การตรวจนี้มี turn-around time 1 เดือน

Histopathological examination of nail clippings using Periodic acid-Schiff staining (HPE-PAS)

เก็บตัวอย่างเล็บด้วยวิธีตามชนิดย่อยของการติดเชื้อราที่เล็บดังกล่าวข้างต้น ใส่ขวด sterile แล้วส่งที่ห้องปฏิบัติการหน่วยผิวหนัง เพื่อย่อยให้นิ่มด้วย 20%KOH/20%DMSO และใส่ในเครื่อง tissue processor 1 คืน หลังจากนั้นจึงนำมา embedded ในบล็อกชิ้นเนื้อ (Paraffin block) และตัดให้ได้ความบาง 3 ไมครอน สุดท้ายจึงเลือกส่วนที่อยู่ทางส่วนต้นมาย้อมด้วยพิริออดิกเอซิดซิฟฟ์ และนำไปส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์ การตรวจนี้มี turn-around time 1-2 วัน

Histopathological examination of nail clippings using Gomori Methenamine-Silver staining (HPE-GMS)

เก็บตัวอย่างเล็บด้วยวิธีตามชนิดย่อยของการติดเชื้อราที่เล็บดังกล่าวข้างต้น ใส่ขวด sterile แล้วส่งที่ห้องปฏิบัติการหน่วยผิวหนัง เพื่อย่อยให้นิ่มด้วย 20%KOH/20%DMSO และใส่ในเครื่อง tissue processor 1 คืน หลังจากนั้นจึงนำมา embedded ในบล็อกชิ้นเนื้อ และตัดให้ได้ความบาง

3 ไมครอน สุดท้ายจึงเลือกส่วนที่อยู่ทางส่วนต้นมาย้อมด้วยโกโมริเมทานามีน และนำไปส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์ การตรวจนี้มี turn-around time 1-2 วัน

Polymerase Chain Reaction (PCR)

เก็บตัวอย่างเล็บด้วยวิธีตามชนิดย่อยของการติดเชื้อราที่เล็บดังกล่าวข้างต้น โดยให้ทำเครื่องหมายบนเล็บด้านดีก่อนการเก็บตัวอย่างเล็บด้วยวิธีตัดเล็บและเก็บปริมาณมากที่สุดเท่าที่เป็นไปได้ (1-100 มิลลิกรัม) รวบรวมไว้ก่อนเพื่อรอส่งพีซีอาร์ที่ตึก อปร. ชั้น 15 ทางห้องปฏิบัติการจะทำการปรับตัวอย่างเล็บให้เหมาะสมสำหรับส่งพีซีอาร์ต่อไป การตรวจนี้มี turn-around time 1 เดือน หลังจากนั้นถ้าได้ผลบวกจะทำการส่ง sequencing ต่อ และรอการวิเคราะห์ผลเพื่อส่งจำแนกชนิดเชื้อรา

รูปแบบการวิจัย (RESEARCH DESIGN)

Diagnostic, Hospital-based, Cross-Sectional Study

วิธีดำเนินการวิจัยโดยย่อ

ติดต่อประสานงานกับผู้เกี่ยวข้องได้แก่ ตจแพทย์ พยาบาล นักเทคนิคการแพทย์ เพื่อขอความร่วมมือในการตัวอย่างเล็บและส่งตรวจทางห้องปฏิบัติการตามวิธีในคำนิยามเชิงปฏิบัติที่ใช้ในการวิจัยที่ได้กล่าวมา ผู้เกี่ยวข้องจะรับทราบข้อมูลการตรวจทางห้องปฏิบัติการเฉพาะส่วนของตนเองเพื่อลดอคติที่อาจเกิดขึ้น

ผู้วิจัยเป็นผู้ดำเนินการขอความยินยอมจากผู้ป่วยที่มาด้วยเล็บผิดรูปและผ่านเกณฑ์การคัดเลือก ณ คลินิกโรคผิวหนัง โดยให้ข้อมูลคำอธิบาย วัตถุประสงค์ วิธีการที่จะปฏิบัติต่ออาสาสมัคร ประโยชน์ และความเสี่ยง ฯลฯ รวมทั้งตอบข้อสงสัยจนผู้ได้รับเชิญให้เข้าร่วมการวิจัยเข้าใจ และให้เวลาตัดสินใจโดยอิสระ ก่อนลงนามให้คำยินยอมใน informed consent เพื่อเข้าร่วมในการวิจัย หลังจากนั้นอาสาสมัครจะได้รับการลงทะเบียนเพื่อเก็บข้อมูลพื้นฐานต่างๆ ได้รับการตรวจร่างกายโดยแพทย์เพื่อค้นหาผื่นผิวหนัง ผมร่วง ได้รับการตรวจเล็บด้วย DermLite Dermatoscope รุ่น DL4 เพื่อหารูปแบบจากเดอร์โมสโคปทั้ง 4 รูปแบบดังที่กล่าวมา และถ่ายรูปเล็บด้วยโทรศัพท์มือถือรุ่น iPhone SE อย่างน้อย 2 รูป ได้แก่ dorso-ventral view และ disto-proximal view โดยปิดบังไม่ให้สามารถบ่งชี้ถึงตัวบุคคลจากภาพถ่าย

ผู้เข้าร่วมในการวิจัยทุกรายจะได้รับการเก็บตัวอย่างเล็บเพื่อส่งตรวจทางห้องปฏิบัติการ 5 วิธี ประกอบด้วย การตรวจด้วยโพแตสเซียมไฮดรอกไซด์ การเพาะเชื้อรา การตัดเล็บย้อมด้วยพิริออดิกเอซิดชิฟฟ์ การตัดเล็บย้อมด้วยโกโมริเมทานามีน และ พีซีอาร์ ตามวิธีในคำนิยามเชิงปฏิบัติที่ใช้ในการวิจัย

ข้อพิจารณาทางจริยธรรม (ETHICAL CONSIDERATIONS)

หลักความเคารพในบุคคล (Respect for person)

ผู้เข้าร่วมในการวิจัยจะได้รับการบอกกล่าวถึงข้อมูลกระบวนการทำวิจัยอย่างครบถ้วน จนเข้าใจเป็นอย่างดีและตัดสินใจอย่างอิสระในการให้ความยินยอมเข้าร่วมในการวิจัย

หลักผลประโยชน์ (Beneficence/Non-maleficence)

ผู้เข้าร่วมในการวิจัยจะไม่ได้รับประโยชน์ใดๆ อาจเกิดความเสี่ยงต่อตัวผู้เข้าร่วมในการวิจัยเพียงเล็กน้อย คือ การได้รับบาดแผลจากขั้นตอนการเก็บตัวอย่างเล็บด้วยกรรไกรตัดเล็บเพื่อส่งตรวจ ข้อมูลของผู้เข้าร่วมในการวิจัยจะได้รับการเก็บรักษาเป็นความลับ โดยในแบบบันทึกข้อมูลจะไม่มีสิ่งที่จะระบุถึงตัวผู้เข้าร่วมในการวิจัยได้

หลักความยุติธรรม (Justice)

โครงการวิจัยนี้มีหลักเกณฑ์การคัดเลือกและคัดออก โดยไม่คำนึงถึง เพศ เชื้อชาติ ศาสนา หรือ ฐานะ

ข้อจำกัดทางการวิจัย (LIMITATION)

การส่งตรวจด้วยวิธีการพีซีอาร์ยังเป็นวิธีที่ค่อนข้างใหม่ ผลการตรวจอาจจะได้ความไวไม่เท่ากับการศึกษาก่อนหน้าหรือในต่างประเทศ

ปริมาณตัวอย่างเล็บที่ใช้ในการตรวจ

ค่าใช้จ่ายในการทำพีซีอาร์ที่ค่อนข้างสูง

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากงานวิจัย (EXPECTED BENEFIT AND APPLICATION)

แนวทางการส่งตรวจเบื้องต้นเพื่อวินิจฉัยเชื้อราที่เล็บในผู้ป่วยที่มาด้วยเล็บผิดรูป

ความไวและความจำเพาะของรูปแบบจากเดอร์โมสโคป (Dermoscopic patterns) ร่วมกับการตรวจด้วยโพแตสเซียมไฮดรอกไซด์ในการวินิจฉัยเชื้อราที่เล็บในผู้ป่วยที่มาด้วยเล็บผิดรูป

การค้นพบรูปแบบจากเดอร์โมสโคปรูปแบบใหม่ที่อาจช่วยในการวินิจฉัยเชื้อราที่เล็บในผู้ป่วยที่มาด้วยเล็บผิดรูป

ความไวและความจำเพาะของการตัดเล็บย้อมด้วยพิริออดิกเอซิดซิฟฟ์ในการวินิจฉัยเชื้อราที่เล็บในผู้ป่วยที่มาด้วยเล็บผิดรูป

ความไวและความจำเพาะของการตัดเล็บย้อมด้วยโกโมริเมทานามีนในการวินิจฉัยเชื้อราที่เล็บในผู้ป่วยที่มาด้วยเล็บผิดรูป

ความไวและความจำเพาะของพีซีอาร์ในการวินิจฉัยเชื้อราที่เล็บในผู้ป่วยที่มาด้วยเล็บผิดรูป

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

อุปสรรคที่อาจเกิดขึ้นและมาตรการแก้ไข (OBSTACLES AND STRATEGIES TO SOLVE THE PROBLEMS)

เนื่องจากค่าความไว (Sensitivity) ของวิธีการตรวจทางห้องปฏิบัติการในแต่ละการศึกษาจากการทบทวนวรรณกรรมมีค่าแตกต่างกันมาก ถึงแม้งานวิจัยนี้ได้นำค่าความไวจากการศึกษาที่มีวิธีการดำเนินการวิจัยใกล้เคียงกันแล้ว แต่ถ้าหากได้ผลบวกจากการตรวจทางห้องปฏิบัติการต่างๆ น้อยอาจจะต้องเพิ่มจำนวนขนาดตัวอย่าง (Sample size) ขึ้น

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

บทที่ 2

ทบทวนวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง (REVIEW OF RELATED LITERATURES)

เครื่องมือที่ใช้ในการวินิจฉัยเชื้อราที่เล็บ (Diagnostic tools in onychomycosis)

จากการทบทวนวรรณกรรมด้วยวิธีสืบค้นด้วยวิธีอิเล็กทรอนิกส์ (Electronic searching) จากฐานข้อมูลของ Medline และ EMBASE จนถึงปี ค.ศ. 2015 โดยไม่จำกัดเฉพาะภาษาอังกฤษ ด้วยคำสำคัญ Diagnosis + Onychomycosis ร่วมกับวิธีสืบค้นด้วยมือ (Hand searching) รวมทั้งวรรณกรรมที่ไม่ได้รับการตีพิมพ์ พบวรรณกรรมที่เกี่ยวข้องจำนวน 842 วรรณกรรม สามารถสรุปวรรณกรรมที่เกี่ยวข้องได้ดังนี้

การค้นพบยีสต์จากกล้องจุลทรรศน์ในปี 1676 ถือเป็นจุดเริ่มต้นในการศึกษาด้านเชื้อราด้วยวิธีการตรวจด้วยโพแตสเซียมไฮดรอกไซด์(16) ภายหลังมีการนำโพแตสเซียมไฮดรอกไซด์ซึ่งเป็นด่างแก่เพื่อทำให้เล็บนิ่มลงและช่วยแยก Keratinocyte ออกจากกัน(17) และเติม Dimethyl sulfoxide (DMSO) เพื่อเพิ่มความไวของการตรวจด้วยโพแตสเซียมไฮดรอกไซด์ให้มากขึ้น(18)

ในปี 1892 Raymond Jacques Adrien Sabouraud ได้คิดค้น Sabouraud’s Dextrose Agar (SDA) ซึ่งต่อมาได้รับการพัฒนาจนกลายเป็น Medium หลักสำหรับการเพาะเชื้อราในปัจจุบัน (16) โดยอาจมีการใส่ Chlorotetracycline, Gentamicin และ/หรือ Cycloheximide ลงไปด้วย

ในปี 1948 มีการศึกษา 2 เรื่อง ได้แก่ A microchemical reaction resulting in the staining of polysaccharide structures in fixed tissue preparations(19) (Hotchkiss, R. D., et al.) และ Histological and histochemical uses of periodic acid(20) (Mc, Manus Jf, et al.) โดยทั้งคู่ได้พัฒนาและตีพิมพ์เทคนิคการในการใช้ Periodic acid stain เพื่อย้อมคาร์โบไฮเดรต เรียกว่า Periodic-acid-Schiff-reagent Technique (PAS)

ต่อมาในปี 1950 มีการศึกษาเรื่อง The periodic acid-Schiff stain for the demonstration of fungi in animal tissue(21) ของ Kligman, A. M., et al. ตีพิมพ์ใน Journal of bacteriology ได้เริ่มนำพิริออดิกเอซิดชิฟฟ์มาใช้ในการย้อมเพื่อหาเชื้อราในเนื้อเยื่อของสัตว์ จนกระทั่งในปี 1966 มีการศึกษาเรื่อง Isolation of dermatophytes, *Candida species* and systemic fungi from dermatologic specimens in Montreal, 1963 to 1973(22) ของ Dion, W. M., et al. เริ่มปรากฎมีการใช้พิริออดิกเอซิดชิฟฟ์ย้อมตัวอย่างเล็บเพื่อหาเชื้อรา แต่ยังไม่ได้ใช้วิธี Nail clipping

ในปี 1955 มีการศึกษาเรื่อง A stain for fungi in tissue sections and smears using Gomori's methenamine-silver nitrate technic[23] ของ Grocott, R. G., et al. ตีพิมพ์ใน American journal of clinical pathology ได้นำวิธีการย้อมเชื้อราด้วยสีเมทานามีนซิลเวอร์ (GMS) ซึ่งถูกค้นพบครั้งแรกในปี 1946 โดย George Gomori[24] มาพัฒนาเป็นเทคนิคเพื่อย้อมหาเชื้อราในเนื้อเยื่อ แต่ยังไม่ได้นำมาใช้กับการวินิจฉัยเชื้อราที่เล็บ

มีการศึกษาเรื่อง Fungi in nails[25] (1966) และ Nails and fungi[26] (1976) ของ English, M. P., et al. ซึ่งทั้ง 2 เรื่องตีพิมพ์ใน The British journal of dermatology ได้กำหนด Laboratory criteria สำหรับการเพาะเชื้อราเพื่อพิจารณาว่าเป็น True Pathogen ดังนี้ (1) เพาะเชื้อขึ้นเป็นกลุ่มเดอร์มาโตไฟต์ (2) เพาะเชื้อขึ้นเป็นราสายที่ไม่ใช่กลุ่มเดอร์มาโตไฟต์ หรือ ยีสต์ โดยต้องพบเชื้อราที่เข้าได้จากการตรวจด้วยโพแตสเซียมไฮดรอกไซด์ร่วมด้วย (3) เพาะเชื้อขึ้นเป็นราสายที่ไม่ใช่กลุ่มเดอร์มาโตไฟต์ปริมาณมาก อย่างน้อย 5 จาก 20 Inocula และต้องเพาะไม่ขึ้นเชื้อกลุ่มเดอร์มาโตไฟต์

ในปี 1968 มีการศึกษาเรื่อง Mycological tests and onychomycosis[6] ของ Davies, R. R., et al. ตีพิมพ์ใน Journal of clinical pathology ทำการศึกษาเล็บที่ติดเชื้อ *Trichophyton rubrum* จำนวน 3,955 เล็บพบว่าถ้าตรวจด้วยการตรวจด้วยโพแตสเซียมไฮดรอกไซด์อย่างเดียวโดยไม่ใช้การเพาะเชื้อราจะทำให้วินิจฉัยการติดเชื้อราที่เล็บน้อยกว่าความเป็นจริง 15% ในทางกลับกันถ้าตรวจด้วยการเพาะเชื้อราอย่างเดียวโดยไม่ใช้การตรวจด้วยโพแตสเซียมไฮดรอกไซด์จะวินิจฉัยการติดเชื้อราที่เล็บน้อยกว่าความเป็นจริง 53% ดังนั้นในการศึกษานี้จึงสรุปว่าการวินิจฉัยเชื้อราที่เล็บควรใช้การตรวจด้วยโพแตสเซียมไฮดรอกไซด์ร่วมกับการเพาะเชื้อรา

ในปี 1972 มีการศึกษาเรื่อง Laboratory mill for pulverizing and homogenizing nail specimens as an aid to microscopy and culture confirmation of onychomycosis[27] ของ Luedemann, G. M., et al. ตีพิมพ์ใน American Society for Microbiology พบว่าเทคนิคการทำให้ตัวอย่างเล็บที่ส่งเพาะเชื้อราเป็นผง (Pulverized) สามารถเพิ่ม Yield ของ Culture Isolation ได้โดยอธิบายจากการที่ Potentially viable fungal cell สามารถสัมผัสกับ Culture medium ได้มากขึ้น

ในปีเดียวกัน มี Review Article เรื่อง Onychomycosis[28] ของ Zaias, N., et al. ตีพิมพ์ใน Archives of dermatology ได้มีการใช้พีริออดิกเอซิดซิฟฟ์ ย้อมแผ่นเล็บเพื่อตรวจหาเชื้อราที่เล็บแต่ไม่ได้ระบุถึงความไวหรือความจำเพาะ

ในปี 1987 มี Review article เรื่อง Onychomycosis[29] ของ Andre, J., et al. ตีพิมพ์ใน International journal of dermatology พบว่าการใช้การตรวจด้วยโพแตสเซียมไฮดรอกไซด์ร่วมกับการเพาะเชื้อราและ Histologic examination of the keratin ให้ผลบวกที่ดีที่สุดในการวินิจฉัยเชื้อราที่เล็บ โดย Histologic examination of the keratin มีข้อได้เปรียบกว่าการเพาะเชื้อ

ราซึ่งมีผลลบปลอมสูงถึง 30% จากการที่เชื้อราสูญเสีย Viability นอกจากนี้การพบยีสต์หรือราสายอยู่ใน Nail keratin จะช่วยบอกว่าเป็นการติดเชื้อราที่แท้จริง ไม่ใช่ผลบวกปลอมอย่างที่อาจจะพบยีสต์หรือราสายจากวิธีการตรวจด้วยโพแตสเซียมไฮดรอกไซด์ ในปี 2012 มีการศึกษาเรื่อง Histopathological periodic acid-schiff stains of nail clippings as a second-line diagnostic tool in onychomycosis(30) ของ Mayer, E., et al. ตีพิมพ์ใน The American Journal of dermatopathology ได้ใช้พิริออดิกเอซิดซิฟฟ์ย้อมแผ่นเล็บในผู้ป่วย 100 รายที่สงสัยเชื้อราที่เล็บ แต่การตรวจทั้งโพแตสเซียมไฮดรอกไซด์และการเพาะเชื้อราให้ผลลบ ปรากฏว่าการตัดเล็บย้อมด้วยพิริออดิกเอซิดซิฟฟ์ให้ผลบวก 38 ราย (38%) และผู้ป่วย 9 รายจาก 38 รายยินยอมรับการรักษาด้วย Oral antifungal therapy ภายหลังการรักษาทุกรายได้ Complete clinical cure การศึกษานี้ช่วยยืนยันว่าเชื้อราที่ย้อมพบจากการตัดเล็บย้อมด้วยพิริออดิกเอซิดซิฟฟ์เป็น Pathogenic fungi มากกว่า Saprophytes

ในปี 1991 มีการศึกษาเรื่อง Histologic evaluation of nail clippings for diagnosing onychomycosis[31] ของ Suarez, S. M., et al. ตีพิมพ์ใน Archives of dermatology ทำการศึกษาเล็บที่สงสัยเชื้อราจำนวน 74 เล็บ ด้วยวิธีการตัดเล็บย้อมด้วยพิริออดิกเอซิดซิฟฟ์พบว่าการเก็บตัวอย่างเล็บจาก Nail clipping ให้มีความยาวมากกว่า 3 มิลลิเมตร ขึ้นไปสัมพันธ์กับการตรวจพบเชื้อราได้เพิ่มมากขึ้น

ในปี 1995 Arrese J.E., et al.[32] ได้ทำการศึกษาเรื่อง Fungi in onychomycosis. A study by immunohistochemistry and dual flow cytometry ตีพิมพ์ใน Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology โดยใช้วิธีตัดเล็บย้อมด้วยพิริออดิกเอซิดซิฟฟ์ร่วมกับอิมมูโนพยาธิวิทยา (immunohistochemistry) และวิธีโฟลว์ไซโตเมทรี (flow cytometry) มาใช้ในการวินิจฉัยการติดเชื้อราที่เล็บที่เกิดจากเชื้อ *Trichophyton spp., Candida spp.* และ *Aspergillaceae spp.* โดยพบว่าวิธีอิมมูโนพยาธิวิทยาได้ประโยชน์เพิ่มในกรณีที่มีการติดเชื้อราหลายชนิดพร้อมกัน ในการศึกษานี้ได้ให้ความสำคัญกับการพบเชื้อราชนิด *Candida spp.* ว่าเป็นการติดเชื้อราที่เล็บที่ก่อโรคจริง (true pathogen) มากขึ้น รวมถึงการติดเชื้อราที่เล็บหลายชนิดพร้อมกัน (mixed infection)

ในปี 1998 มีการศึกษาเรื่อง Detection and differentiation of causative fungi of onychomycosis using PCR amplification and restriction enzyme analysis[33] ของ Baek, S. C., et al. ตีพิมพ์ใน International journal of dermatology โดยนำพีซีอาร์มาใช้ในการช่วยวินิจฉัยการติดเชื้อราที่เล็บ

ในช่วงระหว่างปี 2000 ถึง 2015 มีการศึกษาหลายการศึกษา[4, 5, 7-14] ทำการเปรียบเทียบการวินิจฉัยเชื้อราที่เล็บด้วยวิธีการตัดเล็บย้อมด้วยพิริออดิกเอซิดซิฟฟ์, การตรวจด้วยโพแตสเซียม

ไฮดรอกไซด์ และ การเพาะเชื้อรา ผลการศึกษาส่วนใหญ่พบว่าการตัดเล็บย้อมด้วยพิริออดิกเอซิดซิฟฟ์มีความไวสูงสุด และแนะนำว่าการตัดเล็บย้อมด้วยพิริออดิกเอซิดซิฟฟ์สามารถใช้เป็นตัววัดมาตรฐาน (Gold Standard) สำหรับการวินิจฉัยเชื้อราที่เล็บได้ เช่น ในปี 2011 มีการศึกษาเรื่อง New reasons for histopathological nail- clipping examination in the diagnosis of onychomycosis[13] ของ Wilsmann-Theis, D., et al. ตีพิมพ์ใน Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology ทำการศึกษาในเล็บที่สงสัยเชื้อราจำนวน 1,146 เล็บ พบว่าการตัดเล็บย้อมด้วยพิริออดิกเอซิดซิฟฟ์ให้ความไวสูงที่สุด (88%) ตามด้วยการตรวจด้วยโพแตสเซียมไฮดรอกไซด์ (50%) และ การเพาะเชื้อรา (33%)

ในปี 2008 มีการศึกษาเรื่อง GMS is superior to PAS for diagnosis of onychomycosis [24] ของ D'Hue, Z., et al. ตีพิมพ์ใน Journal of cutaneous pathology ได้ทำการศึกษาโดยนำการตัดเล็บย้อมด้วยโกโมริเมทานามีนซิลเวอร์มาใช้ในการวินิจฉัยเชื้อราที่เล็บเป็นครั้งแรก โดยการนำตัวอย่างเล็บจากการตัดเล็บย้อมด้วยพิริออดิกเอซิดซิฟฟ์แล้วให้ผลบวกจำนวน 20 เล็บและให้ผลลบจำนวน 51 เล็บ มาย้อมเพิ่มด้วยโกโมริเมทานามีนซิลเวอร์พบว่าทั้ง 20 ตัวอย่างเล็บที่ย้อมด้วยพิริออดิกเอซิดซิฟฟ์ให้ผลบวกจะให้ผลบวกในการย้อมโกโมริเมทานามีนซิลเวอร์ด้วย แต่ใน 51 ตัวอย่างเล็บที่ย้อมด้วยพิริออดิกเอซิดซิฟฟ์ให้ผลลบนั้นการย้อมโกโมริเมทานามีนซิลเวอร์สามารถให้ผลบวกเพิ่มขึ้น 5 ตัวอย่างเล็บ ดังนั้นในการศึกษานี้จึงสรุปว่าการตัดเล็บย้อมด้วยโกโมริเมทานามีนซิลเวอร์ให้ผลดีกว่าการตัดเล็บย้อมด้วยพิริออดิกเอซิดซิฟฟ์ในการวินิจฉัยเชื้อราที่เล็บ

ต่อมาในปี 2010 มีอีก 2 การศึกษาที่ทำการเปรียบเทียบ Head-to-head ระหว่างการตัดเล็บย้อมด้วยพิริออดิกเอซิดซิฟฟ์กับการตัดเล็บย้อมด้วยโกโมริเมทานามีนซิลเวอร์ทั้งหมดตีพิมพ์ใน Journal of cutaneous pathology เช่นเดียวกัน โดยในการศึกษาเรื่อง PAS is optimal for diagnosing onychomycosis[11] ของ Barak, O., et al. ได้นำ 326 ตัวอย่างเล็บที่ย้อมด้วยพิริออดิกเอซิดซิฟฟ์ให้ผลลบมาย้อมด้วยโกโมริเมทานามีนซิลเวอร์พบว่าสามารถตรวจพบ Fungal hyphae เพิ่มอีก 14 (4.3%) ตัวอย่างเล็บ และได้นำ 190 ตัวอย่างเล็บที่ย้อมด้วยพิริออดิกเอซิดซิฟฟ์ให้ผลลบในครั้งแรกมาตัด Deeper level section แล้วย้อมด้วยพิริออดิกเอซิดซิฟฟ์ซ้ำอีกครั้ง พบว่าสามารถตรวจพบ Fungal hyphae เพิ่มอีก 8 (4.2%) ตัวอย่างเล็บ ดังนั้นในการศึกษานี้จึงสรุปว่าการตัดเล็บย้อมด้วยพิริออดิกเอซิดซิฟฟ์และการตัดเล็บย้อมด้วยโกโมริเมทานามีนซิลเวอร์ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในการตรวจหาเชื้อราที่เล็บ ($p = 0.57$) แต่การตัดเพิ่มในระดับที่ลึกลงไป (Deeper level section) สามารถเพิ่มการตรวจพบเชื้อราที่เล็บได้ นอกจากนี้การตัดเล็บย้อมด้วยพิริออดิกเอซิดซิฟฟ์มี Cost-effectiveness มากกว่าการตัดเล็บย้อมด้วยโกโมริเมทานามีนซิลเวอร์ 2.6 เท่า

สำหรับอีกการศึกษาหนึ่งเรื่อง Comparison between PAS and GMS stains for the diagnosis of onychomycosis[12] ของ Reza Kermanshahi, T., et al. ได้นำตัวอย่างเล็บทั้งหมด 30 ตัวอย่างเล็บซึ่งเคยย้อมพิริออดิกเอซิดซิฟฟ์แล้วให้ผลบวก 18 ตัวอย่างเล็บมาย้อมใหม่ทั้งหมดด้วยพิริออดิกเอซิดซิฟฟ์และโกโมริเมทานามีนซิลเวอร์พบว่าการย้อมซ้ำด้วยพิริออดิกเอซิดซิฟฟ์ให้ผลบวก 22 ตัวอย่างเล็บ (22/30) และการย้อมด้วยโกโมริเมทานามีนซิลเวอร์ให้ผลบวก 19 ตัวอย่างเล็บ (19/30) อย่างไรก็ตามยังไม่พบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p = 0.2482$ Fischer’s exact test, $p = 0.2898$ McNemar’s test) การศึกษานี้สรุปว่าทั้งสองวิธีให้ผลไม่แตกต่างกัน โดยการตัดเล็บย้อมด้วยพิริออดิกเอซิดซิฟฟ์มีข้อดีที่ทำได้ง่าย ส่วนการตัดเล็บย้อมด้วยโกโมริเมทานามีนซิลเวอร์สามารถแปลผลได้ง่ายกว่า และแนะนำว่าหากการทำการตัดเล็บย้อมด้วยพิริออดิกเอซิดซิฟฟ์หรือการตัดเล็บย้อมด้วยโกโมริเมทานามีนซิลเวอร์ครั้งแรกให้ผลลบ แต่ยังสงสัยการติดเชื้อราที่เล็บจากลักษณะทางคลินิก การตัดย้อมเพิ่มในระดับที่ลึกลงไป (Deeper level section) จาก Paraffin embedded block จะสามารถเพิ่มการตรวจพบเชื้อราที่เล็บได้

ในปี 2013 มีการศึกษาเรื่อง Confocal laser scanning microscopy as a new valuable tool in the diagnosis of onychomycosis - comparison of six diagnostic methods[34] ของ Rothmund, G., et al. ตีพิมพ์ใน Mycoses พบว่าพีซีอาร์ให้ความไวสูงที่สุด (94.9%) รองลงมาเป็น Optical coherence tomography (92.3%), Confocal microscopy (79.5%), การตรวจด้วยโพแตสเซียมไฮดรอกไซด์ (74.4%), การตัดเล็บย้อมด้วยพิริออดิกเอซิดซิฟฟ์ (69.2%) และ การเพาะเชื้อรา (20.5%) ตามลำดับ แต่วิธีนี้มีค่าใช้จ่ายและความซับซ้อนสูง จึงยังจำกัดการใช้อยู่ในงานวิจัยเป็นหลัก

สุดท้ายในปีเดียวกัน มีจากการศึกษาเรื่อง Nail digital dermoscopy (onychoscopy) in the diagnosis of onychomycosis[35] ของ Piraccini et al. ในผู้ป่วย 57 ราย ตีพิมพ์ใน Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology เป็นครั้งแรกที่พบรูปแบบจากเดอร์โมสโคปที่มีความจำเพาะกับการติดเชื้อราที่เล็บ ได้แก่ Jagged proximal edge with spikes of the onycholytic area และ Longitudinal striae

โดยสรุป จากการทบทวนวรรณกรรมพบว่าปัจจุบันการตรวจทางห้องปฏิบัติการเพื่อวินิจฉัยเชื้อราที่เล็บสามารถทำได้หลายวิธี โดยมีข้อดีข้อเสียแตกต่างกันดังนี้

1. การตรวจด้วยโพแตสเซียมไฮดรอกไซด์ (Direct microscopy or KOH preparation) เป็นวิธีที่รวดเร็วที่สุด เสียค่าใช้จ่ายน้อย แต่มีความไวต่ำ

2. การเพาะเชื้อรา (Nail plate culture on Sabouraud’s dextrose agar or SDA) เป็นวิธีที่มีความจำเพาะที่สุด แต่มีความไวต่ำที่สุด

3. การตัดเล็บย้อมด้วยพิริออดิกเอซิดซิฟฟ์ (Histopathological examination of nail clippings using PAS staining or HPE-PAS) หรือ Nail plate biopsy using Periodic Acid-Schiff เป็นวิธีที่มีความไวมากที่สุด และนิยมที่สุด

4. การตัดเล็บย้อมด้วยโกโมริเมทานามีนซิลเวอร์ (Histopathological examination of nail clippings using GMS staining or HPE-GMS) เป็นวิธีที่มีความไวเทียบเท่าหรือดีกว่าการตัดเล็บย้อมด้วยพิริออดิกเอซิดซิฟฟ์แต่มีค่าใช้จ่ายสูงกว่า และกำลังเป็นที่สนใจในหลายการศึกษาขณะนี้

5. Polymerase chain reaction เป็นวิธีที่ทันสมัยและมีความจำเพาะสูง และสามารถบอก Species ของเชื้อรา อาจช่วยแยกระหว่างเชื้อราที่ก่อโรค (true pathogen) และเชื้อราซาโปรไฟต์ (saprophyte) ได้เมื่อทำควบคู่กับการเพาะเชื้อ รวมทั้งสามารถบอกถึงจีนัส (genus) และสปีซีส์ (species) ของเชื้อราได้อีกด้วย แต่เป็นวิธีที่มีค่าใช้จ่ายค่อนข้างสูงในประเทศไทย

6. In Vivo Confocal Microscopy เป็นวิธีที่มีข้อดีคือ Non-invasive สามารถตรวจได้โดยไม่ต้องทำการตัดชิ้นเนื้อ (Biopsy) มีความรวดเร็วและแม่นยำ แต่มีค่าใช้จ่ายและความซับซ้อนสูง จึงยังจำกัดการใช้อยู่ในงานวิจัยเป็นหลัก

7. Immunohistochemistry และ Flow cytometry เมื่อใช้ร่วมกันจะมีประโยชน์ในกรณีที่มีการติดเชื้อราที่เล็บหลายชนิดพร้อมกัน (mixed infection) แต่มีข้อจำกัดที่ต้องมีเชื้อปริมาณมากเพียงพอ

8. เดอร์โมสโคป (Dermoscopy) เป็น Non-invasive Bedside Test ที่แปลกใหม่และน่าสนใจ สามารถทำได้รวดเร็ว ไม่มีค่าใช้จ่ายเพิ่มเติม และมีรูปแบบจากเดอร์โมสโคปที่มีความจำเพาะสูง

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

รูปแบบจากเดอร์โมสโคป (Dermoscopic pattern)

จากการทบทวนวรรณกรรมด้วยวิธีสืบค้นด้วยวิธีอิเล็กทรอนิกส์ (Electronic searching) จากฐานข้อมูลของ Medline และ EMBASE ตั้งแต่ปี ค.ศ. 1995-2015 โดยไม่จำกัดเฉพาะภาษาอังกฤษ ด้วยคำสำคัญ Dermoscopy + Onychomycosis ร่วมกับวิธีสืบค้นด้วยมือ (Hand searching) รวมทั้งวรรณกรรมที่ไม่ได้รับการตีพิมพ์ พบมีวรรณกรรมที่เกี่ยวข้องจำนวน 4 วรรณกรรม [3, 35-37] ดังนี้

ในปี 2012 มีการศึกษาเรื่อง Dermatoscopic findings in the most frequent onychopathies: descriptive analysis of 500 cases ของ Nakamura et al.[36] ได้เริ่มมีการกล่าวถึง Dermoscopic findings ที่พบจากเล็บที่ติดเชื้อรา แต่ยังไม่มีการบรรยายถึงรูปแบบจากเดอร์โมสโคปที่มีความจำเพาะเจาะจง

ในปี 2013 มีจากการศึกษาเรื่อง Nail digital dermoscopy (onychoscopy) in the diagnosis of onychomycosis ของ Piraccini et al.[35] ในผู้ป่วย 57 ราย พบว่า รูปแบบรอยหยัก (Jagged proximal edge with spikes of the onycholytic area) และรูปแบบออโรร่า (Aurora pattern or Distal to proximal subungual longitudinal striae) เป็นรูปแบบจากเดอร์โมสโคปที่สำคัญ 2 อย่างจากการตรวจด้วยเดอร์โมสโคป (Dermoscopy) และมีความจำเพาะ 100% กับเชื้อราที่เล็บชนิด Distal Lateral Subungual Onychomycosis (DLSO) โดยชื่อของรูปแบบออโรร่านี้ถูกตั้งตามลักษณะที่พบจากเดอร์โมสโคปซึ่งคล้ายกับ ออโรร่า บอรีเอลิส (Aurora borealis)

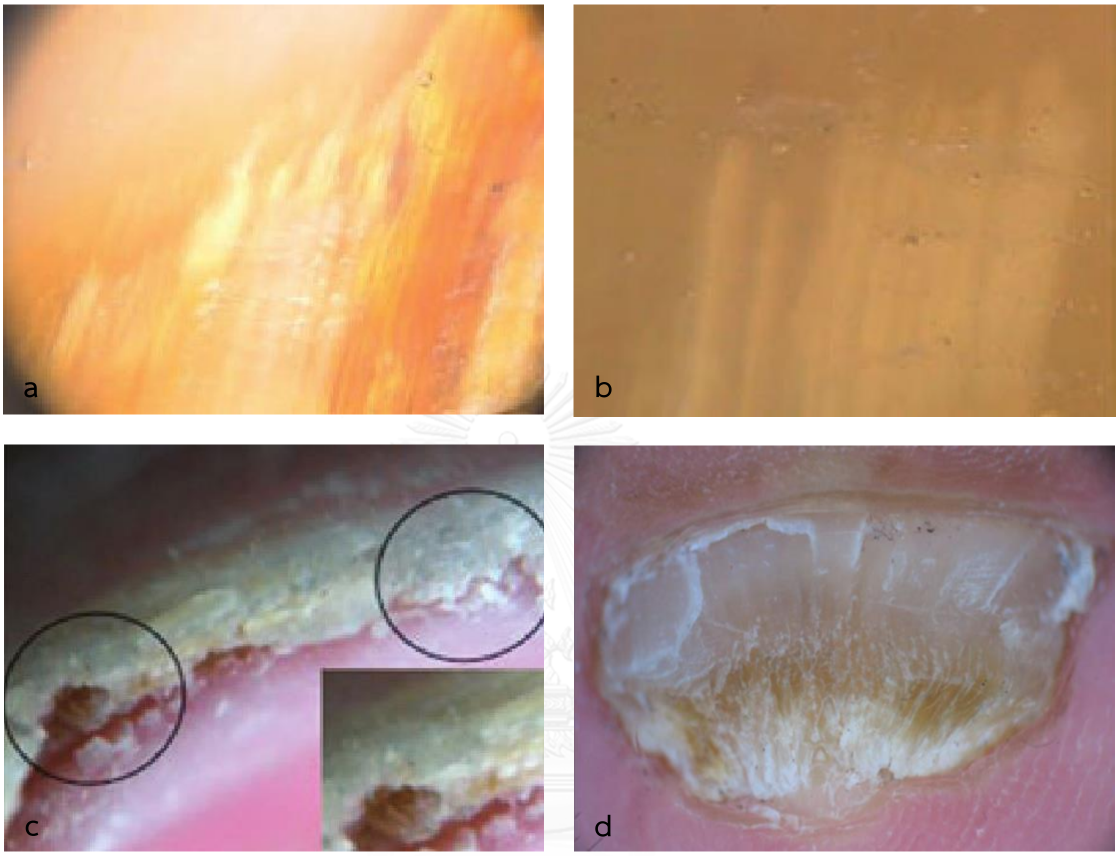
ต่อมาในปี 2014 มีการศึกษาเรื่อง Dermatoscopy of onychomycosis ของ De Crignis et al.[3] อ้างอิงถึงผู้ป่วยเชื้อราที่เล็บชนิด DLSO จำนวน 336 ราย ที่รายงานรูปแบบจากเดอร์โมสโคปแบบซากปรักหักพัง (“Ruin appearance” subungual keratosis) โดยพบมากถึง 88.09% จากแผ่นเล็บที่พบเชื้อรา แต่ลักษณะรูปแบบซากปรักหักพัง (“Ruin appearance”) นี้ยังสามารถพบได้ในเล็บสะเก็ดเงินที่มีการติดเชื้อราที่เล็บร่วมด้วย และจากการศึกษานี้ช่วยยืนยันการพบรูปแบบออโรร่า (Aurora pattern or Distal to proximal subungual longitudinal striae) ในเล็บที่มีการติดเชื้อรา อย่างไรก็ตามรูปแบบออโรร่าอาจจะคล้ายที่พบในโรค Brittle nail syndrome ที่เรียกว่า Onychorrhexis แต่รูปแบบออโรร่าที่พบในโรค Brittle nail syndrome จะไม่พบบนผิวเล็บ และจะเริ่มจากทางส่วนต้น (Proximal) ไปทางส่วนปลาย (Distal)

ล่าสุดในปี 2015 มีการศึกษาเรื่อง Dermoscopic patterns in patients with a clinical diagnosis of onychomycosis ของ Jesus-Silva et al.[37] รายงานรูปแบบจากเดอร์โมสโคปที่พบในผู้ป่วยที่สงสัยเชื้อราที่เล็บจำนวน 178 ราย ดังนี้ รูปแบบรอยหยัก (Spiked pattern) (14.19%), รูปแบบออโรร่า (Longitudinal striae pattern) (32.9%) และ รูปแบบเส้นเรียบ (Linear edge pattern) (13.55%) นอกจากนี้ยังรายงานรูปแบบจากเดอร์โมสโคปใหม่ที่พบเพิ่มเติม คือ รูปแบบเล็บแหว่งส่วนปลาย (Distal irregular termination) โดยพบในผู้ป่วย TDO 41 รายและ DLSO 26 ราย

จากการทบทวนวรรณกรรมพบว่ารูปแบบจากเดอร์โมสโคปที่ช่วยในการวินิจฉัยการติดเชื้อราที่เล็บมี 4 รูปแบบ ได้แก่

- รูปแบบรอยหยัก (Jagged proximal edge with)
- รูปแบบออโรร่า (Aurora pattern or subungual longitudinal striae)
- รูปแบบซากปรักหักพัง (“Ruin appearance” subungual keratosis)
- รูปแบบเล็บแหว่งส่วนปลาย (Distal irregular termination)

รูปภาพที่ 1 แสดงรูปแบบจากเดอร์โมสโคปที่จำเพาะทั้ง 4 รูปแบบ (a) รูปแบบรอยหยัก[35] (b) รูปแบบออโรร่า[35] (c) รูปแบบซากปรักหักพัง[3] (d) รูปแบบเล็บแหว่งส่วนปลาย[37] (รูปภาพได้รับการดัดแปลงมาจากรูปภาพในการศึกษาก่อนหน้านี้)



รูปแบบจากเดอร์โมสโคปในเชื้อราที่เล็บเป็นเรื่องใหม่ และยังไม่มีการศึกษาที่นำเดอร์โมสโปคร่วมกับการตรวจด้วยโพแตสเซียมไฮดรอกไซด์ในการวินิจฉัยเชื้อราที่เล็บเทียบกับการตัดเล็บย้อมด้วยพิริออดิกเอซิดซิฟฟ์ซึ่งเป็นวิธีที่มีความไวมากที่สุด และจากการทบทวนวรรณกรรมยังไม่พบการศึกษาที่นำ เดอร์โมสโคปร่วมกับการตรวจด้วยโพแตสเซียมไฮดรอกไซด์เทียบกับการตัดเล็บย้อมด้วยพิริออดิกเอซิดซิฟฟ์ซึ่งเป็นวิธีที่มีความไวมากที่สุด นอกจากนี้อาจจะยังมีรูปแบบจากเดอร์โมสโคปอื่นๆ ที่ช่วยในการวินิจฉัยเชื้อราที่เล็บและยังไม่ได้ถูกนำมาประยุกต์ใช้อีก

การตรวจด้วยวิธีพีซีอาร์ (PCR)

จากการทบทวนวรรณกรรมด้วยวิธีสืบค้นด้วยวิธีอิเล็กทรอนิกส์ (Electronic searching) จากฐานข้อมูลของ Medline และ EMBASE ตั้งแต่ปี ค.ศ. 1995-2015 โดยไม่จำกัดเฉพาะภาษาอังกฤษ ด้วยคำสำคัญ Polymerase Chain Reaction + Onychomycosis ร่วมกับวิธีสืบค้น

ด้วยมือ (Hand searching) รวมทั้งวรรณกรรมที่ไม่ได้รับการตีพิมพ์ พบวรรณกรรมที่เกี่ยวข้องจำนวน 51 วรรณกรรม และสรุปวรรณกรรมที่เกี่ยวข้องได้ดังนี้

ในปี 1998 ได้เริ่มมีการศึกษาเรื่อง Detection and differentiation of causative fungi of onychomycosis using PCR amplification and restriction enzyme analysis ของ Baek et al.[33] เพื่อนำพีซีอาร์มาใช้ในการช่วยวินิจฉัยการติดเชื้อราที่เล็บ พบว่าพีซีอาร์ให้ความไวดีกว่าวิธีดั้งเดิม

ต่อมาในปี 2002 มีการศึกษาเรื่อง Identification and viability assessment of dermatophytes infecting nail based on quantitative PCR of dermatophyte actin (ACT) mRNA ของ Tsuboi et al.[38] โดยนำ Real time พีซีอาร์มาศึกษาเทียบกับการตรวจด้วยโพแตสเซียมไฮดรอกไซด์และการเพาะเชื้อราซึ่งเป็นวิธีดั้งเดิมในการวินิจฉัยเชื้อราที่เล็บ โดยพบว่าพีซีอาร์มีความไวสูง (1 femtogram) มีความจำเพาะ และได้ผลรวดเร็ว (<4 ชั่วโมง)

ระหว่างปี 2002-2010 มีอีกหลายการศึกษา[18, 39-48] ที่นำวิธีพีซีอาร์เพื่อวินิจฉัยเชื้อราที่เล็บโดยเทียบกับการตรวจด้วยโพแตสเซียมไฮดรอกไซด์และ/หรือการเพาะเชื้อรา ผลการศึกษาส่วนใหญ่พบว่าวิธีพีซีอาร์มีอัตราการให้ผลบวก (Positive rate) มากกว่าการเพาะเชื้อราแต่น้อยกว่าการตรวจด้วยโพแตสเซียมไฮดรอกไซด์ เช่น ในปี 2010 มีการศึกษาเรื่อง Comparison of a new commercial test, Dermatophyte- PCR kit, with conventional methods for rapid detection and identification of Trichophyton rubrum in nail specimens[48] ของ Kondori et al. ตีพิมพ์ใน Medical Mycology ผลการศึกษาพบว่าอัตราการให้ผลบวก (Positive rate)ของเชื้อรากลุ่มเดอร์มาโตไฟต์ในผู้ป่วยที่สงสัยการติดเชื้อราที่เล็บด้วยวิธีการตรวจด้วยโพแตสเซียมไฮดรอกไซด์ การเพาะเชื้อรา และ พีซีอาร์ เท่ากับ 46%, 34% และ 44% ตามลำดับ

ในปี 2010 มีการศึกษาขนาดใหญ่ในประชากรจำนวน 550 คน ของ Litz et al.[49] เรื่อง Polymerase chain reaction in the diagnosis of onychomycosis: a large, single-institute study ตีพิมพ์ใน The British Journal of Dermatology โดยทำการศึกษาเปรียบเทียบการวินิจฉัยเชื้อราที่เล็บโดยใช้ การตรวจด้วยโพแตสเซียมไฮดรอกไซด์, การเพาะเชื้อรา, การตัดเล็บย้อมด้วยพิริออดิกเอซิดซิฟฟ์และพีซีอาร์ ผลการศึกษาพบว่าการใช้พีซีอาร์ร่วมกับการตรวจด้วยโพแตสเซียมไฮดรอกไซด์จะมีอัตราการให้ผลบวก (Positive rate) 52% ใกล้เคียงกับการใช้การตัดเล็บย้อมด้วยพิริออดิกเอซิดซิฟฟ์อย่างเดียวซึ่งมีอัตราการให้ผลบวก (Positive rate) ที่ 54%

ในปี 2012 มีการศึกษาเรื่อง Evaluation of PCR for the diagnosis of dermatophytes in nail specimens from patients with suspected onychomycosis ของ Luk et al.[50] ในผู้ป่วย 120 ราย ตีพิมพ์ใน Clinical and Experimental Dermatology โดยได้ทำการศึกษาเปรียบเทียบ การตรวจด้วยโพแตสเซียมไฮดรอกไซด์, การเพาะเชื้อรา และ พีซีอาร์ ในการวินิจฉัยเชื้อ

ราที่เล็บ พบว่ามีอัตราการให้ผลบวก (Positive rate) 29.2%, 10% และ 40% ตามลำดับ ในการศึกษานี้พบว่าพีซีอาร์มีอัตราการให้ผลบวก (Positive rate) สูงกว่าการตรวจด้วยโพแตสเซียมไฮดรอกไซด์และการเพาะเชื้อรา

ในปี 2013 Pankewitz et al. ได้ทำการศึกษาเรื่อง Development of a novel polymerase chain reaction-enzyme-linked immunosorbent assay for the diagnosis of Trichophyton rubrum onychomycosis[51] ตีพิมพ์ใน The British Journal of Dermatology โดยพัฒนาวิธีพีซีอาร์แบบใหม่เรียกว่า Microsatellite-based polymerase chain reaction (PCR)-enzyme-linked immunosorbent assay (MS-ELISA) แทนที่วิธี Topoisomerase PCR-ELISA (TI-ELISA) แบบเดิม เพื่อใช้ในการวินิจฉัยเชื้อราที่เล็บ ผลการศึกษาพบว่าวิธี MS-ELISA ใหม่นี้ให้อัตราการให้ผลบวก (Positive rate) สูงที่สุด คือ 69% ตามด้วยการตรวจด้วยโพแตสเซียมไฮดรอกไซด์ 56%, TI-ELISA 44% และการเพาะเชื้อรา 30%

ล่าสุดในปี 2015 Spiliopoulou et al.[52] ได้ทำการศึกษาเรื่อง Evaluation of a commercial PCR test for the diagnosis of dermatophyte nail infections ตีพิมพ์ใน Journal of Medical Microbiology เพื่อเปรียบเทียบการวินิจฉัยเชื้อราที่เล็บที่เกิดจากกลุ่มเดอร์มาโตไฟต์ด้วยวิธีต่างๆ ผลการศึกษาพบว่า Multiplex พีซีอาร์ มีอัตราการให้ผลบวก (Positive rate) สูงที่สุด คือ 30.1% รองลงมาคือ การตรวจด้วยโพแตสเซียมไฮดรอกไซด์ 15.1% และการเพาะเชื้อรา 10.5%

จากการทบทวนวรรณกรรมพบว่าพีซีอาร์เป็นวิธีในการวินิจฉัยเชื้อราที่เล็บที่มีความจำเพาะ สามารถบอกสปีชีส์ของเชื้อราได้เช่นเดียวกับวิธีการเพาะเชื้อรา แต่ให้ผลการตรวจที่รวดเร็วมากกว่า และเมื่อเปรียบเทียบกับการตรวจด้วยโพแตสเซียมไฮดรอกไซด์พบว่าวิธีพีซีอาร์เป็น Operator-independent และสามารถบอกสปีชีส์ของเชื้อราได้ นอกจากนี้เทคโนโลยีในการทำพีซีอาร์ที่พัฒนาขึ้นใหม่ในปัจจุบันสามารถเพิ่มอัตราการให้ผลบวก (Positive rate) มากขึ้นจนให้ผลที่สูงกว่าการตรวจด้วยโพแตสเซียมไฮดรอกไซด์และการเพาะเชื้อรา

บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

ระเบียบวิธีการวิจัย (RESEARCH METHODOLOGY)

ประชากร (POPULATION) และตัวอย่าง (SAMPLE)

ประขากร (Target Population) คือ ผู้ป่วยอายุ 18 ปีขึ้นไป ที่มีเล็บผิดรูป (Dystrophic Nail)

ตัวอย่าง (Sample) คือ ผู้ป่วยอายุ 18 ปีขึ้นไป ที่มีเล็บผิดรูป (Dystrophic Nail) ซึ่งมารับการตรวจรักษาที่คลินิกโรคผิวหนัง โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ สภากาชาดไทย และให้คำยินยอมเข้าร่วมการวิจัย

เกณฑ์การคัดเลือกกลุ่มตัวอย่างเข้าร่วมโครงการวิจัย (Inclusion Criteria)

- ผู้ป่วยอายุ 18 ปีขึ้นไปที่มาด้วยเล็บผิดรูป ซึ่งมารับการตรวจรักษาที่คลินิกโรคผิวหนัง โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ สภากาชาดไทย

เกณฑ์การคัดเลือกกลุ่มตัวอย่างออกจากโครงการวิจัย (Exclusion Criteria)

- ผู้ป่วยที่สงสัยการติดเชื้อราที่เล็บชนิด PSO หรือ WSO
- ผู้ป่วยที่เคยได้รับการวินิจฉัยว่าเป็นโรคสะเก็ดเงิน
- ผู้ป่วยที่เคยได้รับการวินิจฉัยว่าเป็นโรค Lichen planus
- ผู้ป่วยที่เคยได้รับการวินิจฉัยว่าเป็นโรค Alopecia areata
- ผู้ป่วยที่เคยได้รับการวินิจฉัยว่าเป็นโรค Darier’s disease
- ผู้ป่วยที่เคยได้รับการรักษาด้วยยาต้านเชื้อราชนิดรับประทานหรือชนิดฉีดภายใน 1 ปีที่ผ่านมา
- ผู้ป่วยที่ไม่ยินยอมเข้าร่วมการวิจัย

เทคนิคในการสุ่มตัวอย่าง (Sample Techniques)

ใช้วิธีสุ่มตามลำดับการมา (Consecutive Cases) ของผู้ป่วยที่มาด้วยอาการเล็บผิดรูป โดยเก็บข้อมูลตั้งแต่วันที่ 1 มกราคม 2559 - 31 ธันวาคม 2559

ขนาดตัวอย่าง (Sample Size Calculation)

$$n = \frac{Z^2_{a/2}P(1-P)}{d^2}$$

$$N = \frac{n}{Prevalence}$$

$Z_{a/2}$ = 1.96, P = 0.77, 20% Relative d = 0.154, Prevalence = 0.5 (50% of Dystrophic nail)

โดย P คือ ค่าความไว (Sensitivity) ของ Test ที่มีความไวน้อยสุด เพื่อให้ได้ Sample Size ที่ครอบคลุมที่สุด ได้แก่ การตรวจด้วยโพแตสเซียมไฮดรอกไซด์ ซึ่งมีค่าเท่ากับ 77.09% อ้างอิงจากการศึกษาของ Jeelani et al.[4] เนื่องจากเป็นการศึกษาที่มีวิธีในการเก็บตัวอย่างเล็บและขั้นตอนในการส่งตรวจด้วยวิธีต่างๆ ใกล้เคียงกับงานวิจัยชิ้นนี้

N = 57.37

.: Sample Size = 58

การสังเกตและการวัด (OBSERVATION AND MEASUREMENT)

รูปแบบจากเดอร์โมสโคป (Dermoscopic Patterns)

การแปลผลรูปแบบจากเดอร์โมสโคปจะทำการวิเคราะห์รูปถ่ายด้วยตจแพทย์ 2 คน โดยทั้งคู่ต้องมีความเห็นที่ตรงกัน ถ้าหากมีความเห็นไม่สอดคล้องกันจะใช้ความคิดเห็นของตจแพทย์คนที่ 3 เพื่อตัดสิน โดยจะแปลผลบวกเมื่อพบลักษณะดังต่อไปนี้

1. รูปแบบรอยหยัก (Jagged proximal edge with spikes of the onycholytic area)

The proximal margin of the onycholytic area has a jagged edge, with sharp longitudinal whitish indentations directed to the proximal nail fold. It is best observed with magnification of 20x.

2. รูปแบบออโรร่า (Aurora pattern or Distal to proximal subungual longitudinal striae)

‘Longitudinal striae’ of different colours of the onycholytic nail plate. Their colour ranges from white to yellow, orange and brown. Magnification of 40x is best for their observation.

3. รูปแบบซากปรักหักพัง (“Ruin appearance” subungual keratosis)

The indentate areas on the ventral portion of the nail, forming subungual keratosis of peculiar aspect. It occurs owing to the accumulation of dermal debris

reacting to the process of fungal invasion, leading to the pattern we have names such as “Ruin appearance” keratosis.

4. รูปแบบเล็บแหว่งส่วนปลาย (Distal irregular termination)

The distal pulverization characteristic of the thickening of the nail plate in total dystrophic onychomycosis.

การตรวจด้วยโพแตสเซียมไฮดรอกไซด์ (Direct Microscopy or KOH Preparation)

ผลบวก เมื่อพบ สายรา (Hyphae), สปอร์ หรือ ยีสต์

การเพาะเชื้อรา (Fungal Culture)

ผลบวก เมื่อเพาะเชื้อขึ้นเป็นเชื้อรา โดยพิจารณาว่าเป็น True Pathogen หรือไม่ ให้ใช้เกณฑ์ตามการศึกษาของ English et al.[26] ดังนี้

- เพาะเชื้อขึ้นเป็นกลุ่มเดอร์มาโตไฟต์
- เพาะเชื้อขึ้นเป็นราสายที่ไม่ใช่กลุ่มเดอร์มาโตไฟต์ หรือ ยีสต์ โดยต้องพบเชื้อราที่เข้าได้จากการตรวจด้วยโพแตสเซียมไฮดรอกไซด์ร่วมด้วย
- เพาะเชื้อขึ้นเป็นราสายที่ไม่ใช่กลุ่มเดอร์มาโตไฟต์ปริมาณมาก อย่างน้อย 5 จาก 20 Inocula และต้องเพาะไม่ขึ้นเชื้อกลุ่มเดอร์มาโตไฟต์

การตัดเล็บย้อมด้วยพิริออดิกเอซิดซิฟฟ์ (HPE-PAS)

ผลบวก เมื่อพบ สายรา (Hyphae), สปอร์ หรือ ยีสต์ ในแผ่นเล็บ

การตัดเล็บย้อมด้วยโกโมริเมทานามีนซิลเวอร์ (HPE-GMS)

ผลบวก เมื่อพบ สายรา (Hyphae), สปอร์ หรือ ยีสต์ ในแผ่นเล็บ

พีซีอาร์ (PCR)

ผลบวก เมื่อพบสารพันธุกรรมที่เข้าได้กับเชื้อรา

ติดต่อประสานงานกับผู้เกี่ยวข้องได้แก่ พยาบาล นักเทคนิคการแพทย์ ตจแพทย์ เพื่อขอความร่วมมือในการเก็บตัวอย่างเล็บและส่งตรวจทางห้องปฏิบัติการตามวิธีในคำนิยามเชิงปฏิบัติที่ใช้ในการวิจัยที่ได้กล่าวมา ผู้เกี่ยวข้องจะรับทราบข้อมูลการตรวจทางห้องปฏิบัติการเฉพาะส่วนของตนเองเพื่อลดอคติที่อาจเกิดขึ้น

ขั้นตอนในการดำเนินการวิจัย

1. ขอใบรับรองจริยธรรม จากคณะกรรมการจริยธรรมการวิจัย คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

2. ขออนุญาตผู้อำนวยการโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ สภากาชาดไทย เพื่อทำวิจัยในโรงพยาบาล

3. ติดต่อประสานงานกับผู้เกี่ยวข้องได้แก่ ตจแพทย์ พยาบาล นักเทคนิคการแพทย์ เพื่อขอความร่วมมือในการเก็บตัวอย่างเล็บและส่งตรวจทางห้องปฏิบัติการ ผู้เกี่ยวข้องจะรับทราบข้อมูลการตรวจทางห้องปฏิบัติการเฉพาะส่วนของตนเองเพื่อลดอคติที่อาจเกิดขึ้น

4. ประชาสัมพันธ์และขอความร่วมมือ ตจแพทย์ที่ออกตรวจ ณ คลินิกโรคผิวหนังเพื่อหาอาสาสมัครเข้าร่วมโครงการวิจัยจากผู้ป่วยที่มาด้วยเล็บผิดรูปและผ่านเกณฑ์การคัดเลือก

5. อาสาสมัครทุกท่านจะได้รับข้อมูลคำอธิบาย วัตถุประสงค์ วิธีการที่จะปฏิบัติต่ออาสาสมัคร ประโยชน์ และความเสี่ยง ฯลฯ รวมทั้งตอบข้อสงสัยจนผู้ได้รับเชิญให้เข้าร่วมการวิจัยเข้าใจ และให้เวลาตัดสินใจโดยอิสระ

6. ผู้วิจัยเป็นผู้ดำเนินการขอความยินยอมจากอาสาสมัคร ก่อนให้อาสาสมัครลงนามให้คำยินยอมใน Informed consent เพื่อเข้าร่วมในการวิจัย

7. จากนั้นอาสาสมัครจะได้รับการลงทะเบียนเพื่อเก็บข้อมูลพื้นฐานต่างๆ ตามแบบบันทึกข้อมูล ได้แก่ อายุ เพศ อาชีพ ประเภทของที่อยู่อาศัย โรคประจำตัว (เบาหวาน โรคภูมิคุ้มกันบกพร่องจากการติดเชื้อเอชไอวี) การได้รับยากดภูมิคุ้มกัน ลักษณะอุปนิสัยการใช้เล็บ การได้รับการรักษาด้วยยาต้านเชื้อราชนิดรับประทานภายใน 1 ปี

8. อาสาสมัครได้รับการตรวจร่างกายโดยตจแพทย์เพื่อค้นหาผื่นผิวหนัง ผมร่วง ชนิดของลักษณะเล็บที่ผิดรูป โดยการเก็บรวบรวมข้อมูลจะเป็นความลับและนำเผยแพร่เฉพาะในส่วนที่เป็นผลสรุปของการวิจัย

9. อาสาสมัครจะได้รับการตรวจเล็บด้วยเดอร์โมสโคป รุ่น DL4 (Polarized light mode) เพื่อหา 4 รูปแบบจากเดอร์โมสโคปดังที่กล่าวมา รวมถึงรูปแบบจากเดอร์โมสโคปใหม่ๆ ที่อาจตรวจพบ และถ่ายรูปเล็บด้วยโทรศัพท์มือถือรุ่น iPhone SE อย่างน้อย 2 รูป ได้แก่ Dorso-Ventral view และ Disto-Proximal view โดยปิดบังไม่ให้สามารถบ่งชี้ถึงตัวบุคคลจากภาพถ่าย

10. อาสาสมัครจะได้รับการเก็บตัวอย่างเล็บเพื่อส่งตรวจทางห้องปฏิบัติการ ประกอบด้วยการตรวจด้วยโพแตสเซียมไฮดรอกไซด์, การเพาะเชื้อรา, การตัดเล็บย้อมด้วยพิริออดิกเอซิดซิฟฟ์, การตัดเล็บย้อมด้วยโกโมริเมทานามีนซิลเวอร์ และ พีซีอาร์ ตามวิธีในคำนิยามเชิงปฏิบัติที่ใช้ในการวิจัย

11. ระยะเวลาที่อยู่ในโครงการวิจัย คือ ช่วงเวลาที่อาสาสมัครมารับการตรวจรักษาที่คลินิกโรคผิวหนังและมาพบผู้วิจัยหรือผู้ร่วมทำวิจัยทั้งสิ้น 1 ครั้ง

12. หากอาสาสมัครที่เข้าร่วมการวิจัยถูกค้นพบในภายหลังว่าได้รับการรักษาด้วยยาต้านเชื้อราชนิดรับประทานภายใน 1 ปี จะถูกตัดออกจากการวิจัย

13. สรุปผลการวิจัย, อภิปราย และนำเสนอต่อคณะกรรมการวิจัย

การรวบรวมข้อมูล (DATA COLLECTION)

การสัมภาษณ์ (Interview)

อายุ เพศ อาชีพ ประเภทของที่อยู่อาศัย โรคประจำตัว (เบาหวาน โรคภูมิคุ้มกันบกพร่องจากการติดเชื้อเอชไอวี) การได้รับยากดภูมิคุ้มกัน การได้รับการรักษาด้วยยาต้านเชื้อราชนิดรับประทานหรือชนิดฉีดภายใน 1 ปีที่ผ่านมา

การสังเกต (Observation)

ภาวะเชื้อราที่เท้าที่พบร่วม (Tinea pedis) ภาวะผมร่วงหรือผมบางที่พบร่วม ตำแหน่งของเล็บที่ผิดรูป ชนิดย่อยของเล็บที่ผิดรูป รูปแบบจากเดอร์โมสโคป

การคัดลอกข้อความจากบันทึก (Extracting from records)

ผลการตรวจทางห้องปฏิบัติการ (การตรวจด้วยโพแตสเซียมไฮดรอกไซด์, การเพาะเชื้อรา, การตัดเล็บย้อมด้วยพิริออดิกเอซิดซิฟฟ์, การตัดเล็บย้อมด้วยโกโมริเมทานามีนซิลเวอร์, พีซีอาร์) การรักษาที่ได้รับ

การวิเคราะห์ข้อมูล (DATA ANALYSIS)

สถิติที่ใช้เพื่อศึกษาถึงความไวและความจำเพาะของการตรวจด้วยเดอร์โมสโคปร่วมกับการตรวจด้วยโพแตสเซียมไฮดรอกไซด์ และการตัดเล็บย้อมด้วยพิริออดิกเอซิดซิฟฟ์ในการวินิจฉัยเชื้อราที่เล็บในผู้ป่วยที่มาด้วยเล็บผิดรูป ได้แก่ ความไว (Sensitivity), ความจำเพาะ (Specificity), ค่าพยากรณ์ผลบวก (Positive predictive value), ค่าพยากรณ์ผลลบ (Negative predictive value) และ ความถูกต้อง (Accuracy)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

สถิติที่ใช้เพื่อเปรียบเทียบความไวและความจำเพาะในการวินิจฉัยเชื้อราที่เล็บระหว่างการตรวจด้วยเดอร์โมสโคปร่วมกับการตรวจด้วยโพแตสเซียมไฮดรอกไซด์เทียบกับการตัดเล็บย้อมด้วยพิริออดิกเอซิดซิฟฟ์ คือ การทดสอบแมคนีมาร์ (McNemar’s test) โดยใช้ P-value ที่ < 0.05 ว่ามีนัยสำคัญทางสถิติ การวิเคราะห์ข้อมูลใช้โปรแกรม STATA/SE (version 11)

บทที่ 4

ผลการวิจัย

คุณลักษณะของประชากรในการศึกษา

ข้อมูลทั่วไปของประชากรที่ทำการศึกษาจากเกณฑ์การคัดเลือก คือ ผู้ป่วยอายุ 18 ปีขึ้นไปที่มาด้วยเล็บผิดรูป ซึ่งมารับการตรวจรักษาที่คลินิกโรคผิวหนัง โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ สภากาชาดไทย โดยไม่ใช่การติดเชื้อราที่เล็บชนิดย่อย PSO หรือ WSO โดยต้องไม่เคยได้รับการวินิจฉัยว่าเป็นโรคสะเก็ดเงิน Lichen planus Alopecia areata หรือ Darier's disease และไม่เคยได้รับการรักษาด้วยยาต้านเชื้อราชนิดรับประทานหรือชนิดฉีดภายใน 1 ปีที่ผ่านมา พบว่ามีจำนวน 70 คน แต่ถูกคัดออก 2 คน เนื่องจากพบในภายหลังว่า 1 คน เคยมีประวัติได้รับการวินิจฉัยเป็นโรคสะเก็ดเงินจากแฟ้มประวัติผู้ป่วย และอีก 1 คนเคยได้รับยาฟลูโคนาโซล (fluconazole) ชนิดรับประทานภายใน 1 ปีก่อนวันสุ่มตัวอย่างเข้าร่วมวิจัย สุดท้ายได้ผู้เข้าร่วมวิจัยทั้งหมด 68 คน และได้ตัวอย่างเล็บทั้งหมด 68 ตัวอย่างเล็บ

42 คน เป็นเพศหญิง (ร้อยละ 61.8) และ 26 คนเป็นเพศชาย (ร้อยละ 38.2) พบว่าผู้ป่วยส่วนใหญ่ (41 คน) อยู่ในช่วงอายุมากกว่า 60 ปี คิดเป็นร้อยละ 60.3 รองลงมาอยู่ในช่วงอายุ 41-60 ปี 20 คน คิดเป็นร้อยละ 29.4 อยู่ในช่วงอายุ 21-40 ปี 7 คน คิดเป็นร้อยละ 10.3 และไม่พบผู้ป่วยที่อายุน้อยกว่า 20 ปี เข้าร่วมในการศึกษานี้

ตำแหน่งของเล็บผิดรูปที่ใช้เก็บตัวอย่างเล็บในการศึกษานี้เป็นเล็บนิ้วเท้า 45 ตัวอย่าง (ร้อยละ 66.2) และเป็นเล็บนิ้วมือ 23 ตัวอย่าง (ร้อยละ 33.8) โดยพบเป็นการติดเชื้อราที่เล็บชนิด DLSO 32 คน (ร้อยละ 47.1) และชนิด TDO 36 คน (ร้อยละ 52.9)

อาชีพของผู้เข้าร่วมการศึกษาเป็นแม่บ้าน 30 คน (ร้อยละ 44.1) เกษียณ 19 คน (ร้อยละ 27.9) และอาชีพอื่นๆ อีก 19 คน (ร้อยละ 27.9) ประเภทของที่อยู่อาศัยของผู้ป่วยที่มีเล็บผิดรูปที่เข้าร่วมในการศึกษานี้ส่วนใหญ่เป็นบ้านเดี่ยว 37 คน คิดเป็นร้อยละ 54.4 รองลงมา คือ ทาวน์เฮาส์/ทาวโฮม 14 คน (ร้อยละ 20.6) คอนโด/แฟลต 12 คน (ร้อยละ 17.6) และอื่นๆ 5 คน (ร้อยละ 7.4) ตามลำดับ

จากผู้ป่วยทั้งหมด 68 คน พบมีโรคประจำตัวเป็นเบาหวาน 19 คน (ร้อยละ 27.9) และไม่พบผู้ป่วยที่มีโรคภูมิคุ้มกันบกพร่องจากการติดเชื้อเอชไอวีในการศึกษานี้ มีผู้ป่วย 4 คน (ร้อยละ 5.9) ที่มีโรคประจำตัวและได้รับยากดภูมิคุ้มกันอยู่ คนที่ 1 ได้รับเป็น เมโธเทรกเซท (methotrexate) 15

มิลลิกรัม/สัปดาห์ ซัลฟาซาลาซีน (sulfasalazine) 3 กรัม/วัน และเพรดนิโซโลน (prednisolone) 7.5 มิลลิกรัม/วัน คนที่ 2 ได้รับเป็น อะซาไธโอพรีน (azathioprine) 50 มิลลิกรัม/วัน และเพรดนิโซโลน 10 มิลลิกรัม/วัน คนที่ 3 ได้รับเป็น เพรดนิโซโลน 10 มิลลิกรัม/วัน และคนที่ 4 ได้รับเป็น อิมมาตินิบ (imatinib)

ในการศึกษานี้มีผู้ป่วยที่มีภาวะเชื้อราที่เท้าร่วมด้วย 10 คน (ร้อยละ 14.7) และภาวะผมร่วงหรือผมบางร่วมด้วย 44 คน (ร้อยละ 64.7) โดยทั้งหมดเป็นผมบางจากพันธุกรรม ไม่พบผมร่วงเป็นหย่อมของโรค alopecia areata

ตารางที่ 1 ตารางแสดงจำนวนและร้อยละของคุณลักษณะของประชากรในการศึกษา

	จำนวน	ร้อยละ
อายุ (ปี)		
- <20	0	0
- 21 – 40	7	10.3
- 41 - 60	20	29.4
- >60	41	60.3
เพศ		
- ชาย	26	38.2
- หญิง	42	61.8
ตำแหน่งของเล็บที่ผิดรูป		
- เล็บมือ	23	33.8
- เล็บเท้า	45	66.2
ชนิดย่อยของการติดเชื้อราที่		
เล็บ	32	47.1
- DLSO	36	52.9
- TDO		
อาชีพ		
- เกษียณ	19	27.9
- แม่บ้าน	30	44.1
- อื่นๆ	19	27.9

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ประเภทของที่อยู่อาศัย		
- **บ้านเดี่ยว**	37	54.4
- **คอนโด/แฟลต**	12	17.6
- **ทาวน์เฮาส์/ทาวน์โฮม**	14	20.6
- **อื่นๆ**	5	7.4
โรคประจำตัวเบาหวาน		
- **มี**	19	27.9
- **ไม่มี**	49	72.1
โรคภูมิคุ้มกันบกพร่องจากการติดเชื้อเอชไอวี		
- **มี**	0	0
- **ไม่มี**	68	100
การได้รับยากดภูมิคุ้มกัน		
- **มี**	4	5.9
- **ไม่มี**	64	94.1
ภาวะเชื้อราที่เท้าที่พบร่วม		
- **มี**	10	14.7
- **ไม่มี**	58	85.3
ภาวะผมร่วง/ผมบางที่พบร่วม		
- **มี**	44	64.7
- **ไม่มี**	24	35.3

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

จากผู้ป่วยที่มาด้วยเล็บผิดรูป 68 คน และตัวอย่างเล็บทั้งหมด 68 ตัวอย่าง พบว่าการตรวจด้วยโพแตสเซียมไฮดรอกไซด์ให้ผลบวก 39 คน (ร้อยละ 57.4) การเพาะเชื้อราให้ผลบวก 39 คน (ร้อยละ 57.4) การตัดเล็บย้อมด้วยพิริออดิกเอซิดซิฟฟ์ให้ผลบวก 13 คน (ร้อยละ 19.1) การตัดเล็บย้อมด้วยโกโมริเมทานามีนซิลเวอร์ให้ผลบวก 21 คน (ร้อยละ 30.9) และพีซีอาร์ให้ผลบวก 42 คน (ร้อยละ 61.8)

เมื่อพิจารณาจากตัววัดมาตรฐาน (gold standard) ในการวินิจฉัยการติดเชื้อราที่เล็บสำหรับการศึกษานี้ (การพบเล็บผิดรูป ร่วมกับ ผลบวกจากการตัดเล็บย้อมด้วยพิริออดิกเอซิดซิฟฟ์หรือการตัดเล็บย้อมด้วยโกโมริเมทานามีนอย่างใดอย่างหนึ่ง) พบว่ามีผู้ป่วยได้รับการวินิจฉัยว่ามีการติดเชื้อรา

ที่เล็บทั้งสิ้น 24 คน จาก 68 คน (ร้อยละ 35.3) เมื่อพิจารณาเฉพาะผู้ป่วยที่ได้รับการวินิจฉัยว่าเป็นเชื้อราที่เล็บ 24 คน พบว่ามีผู้ป่วย 13 คน (ร้อยละ 54.2) ให้ผลบวกจากการตัดเล็บย้อมด้วยพิริออดิกเอซิดซิฟฟ์ 21 คน (ร้อยละ 87.5) ให้ผลบวกจากการตัดเล็บย้อมด้วยโกโมริเมทานามีนซิลเวอร์ และ 10 คน (ร้อยละ 41.7) ให้ผลบวกจากทั้งการตัดเล็บย้อมด้วยพิริออดิกเอซิดซิฟฟ์และการตัดเล็บย้อมด้วยโกโมริเมทานามีนซิลเวอร์

ผู้ป่วยที่มีเล็บผิดรูปซึ่งไม่เข้าเกณฑ์การวินิจฉัยเชื้อราที่เล็บอีก 44 คน มี 1 คนที่ภายหลังได้รับการวินิจฉัยว่าเป็นเล็บสะเก็ดเงินโดยไม่มีผื่นสะเก็ดเงินที่บริเวณอื่นของร่างกาย โดยเมื่อผู้ป่วยรายนี้กลับไปสอบถามครอบครัวพบว่าบิดาเคยเป็นโรคสะเก็ดเงินมาก่อน ส่วนผู้ป่วยอีก 43 คน ที่มีเล็บผิดรูปซึ่งมีลักษณะทางคลินิกเข้าได้กับการติดเชื้อราที่เล็บ การตรวจหาเชื้อราด้วยวิธีการตัดเล็บย้อมด้วยพิริออดิกเอซิดซิฟฟ์และการตัดเล็บย้อมด้วยโกโมริเมทานามีนซิลเวอร์ให้ผลเป็นลบ

ผลการศึกษาจำแนกออกเป็น 7 กลุ่ม ตามการให้ผลบวก ดังนี้

1. ผลบวกจากการทดสอบชนิดเดี่ยว (single tests)
2. ผลบวกจากรูปแบบเดอร์โมสโคปชนิดเดี่ยว (single dermoscopic patterns)
3. ผลบวกตามจำนวนการพบรูปแบบเดอร์โมสโคปแบบสะสม (cumulative combined patterns)
4. ผลบวกจากการตรวจด้วยโพแตสเซียมไฮดรอกไซด์ หรือ ผลบวกจากรูปแบบเดอร์โมสโคปชนิดเดี่ยว อย่างใดอย่างหนึ่ง (‘KOH or single patterns’)
5. ผลบวกจาก การตรวจด้วยโพแตสเซียมไฮดรอกไซด์ หรือ จำนวนการพบรูปแบบเดอร์โมสโคปแบบสะสม อย่างใดอย่างหนึ่ง (‘KOH or cumulative combined patterns’)
6. ผลบวกจากทั้งการตรวจด้วยโพแตสเซียมไฮดรอกไซด์ และ ผลบวกจากรูปแบบเดอร์โมสโคปชนิดเดี่ยว พร้อมกัน (‘KOH and single patterns’)
7. ผลบวกจากทั้ง การตรวจด้วยโพแตสเซียมไฮดรอกไซด์ และ จำนวนการพบรูปแบบเดอร์โมสโคปแบบสะสม พร้อมกัน (‘KOH and cumulative combined patterns’)

ตารางที่ 2 ตารางแสดงการวิเคราะห์เปรียบเทียบการทดสอบชนิดเดี่ยวในการวินิจฉัยการติดเชื้อราที่เล็บเมื่อเทียบกับตัววัดมาตรฐาน (Gold standard)

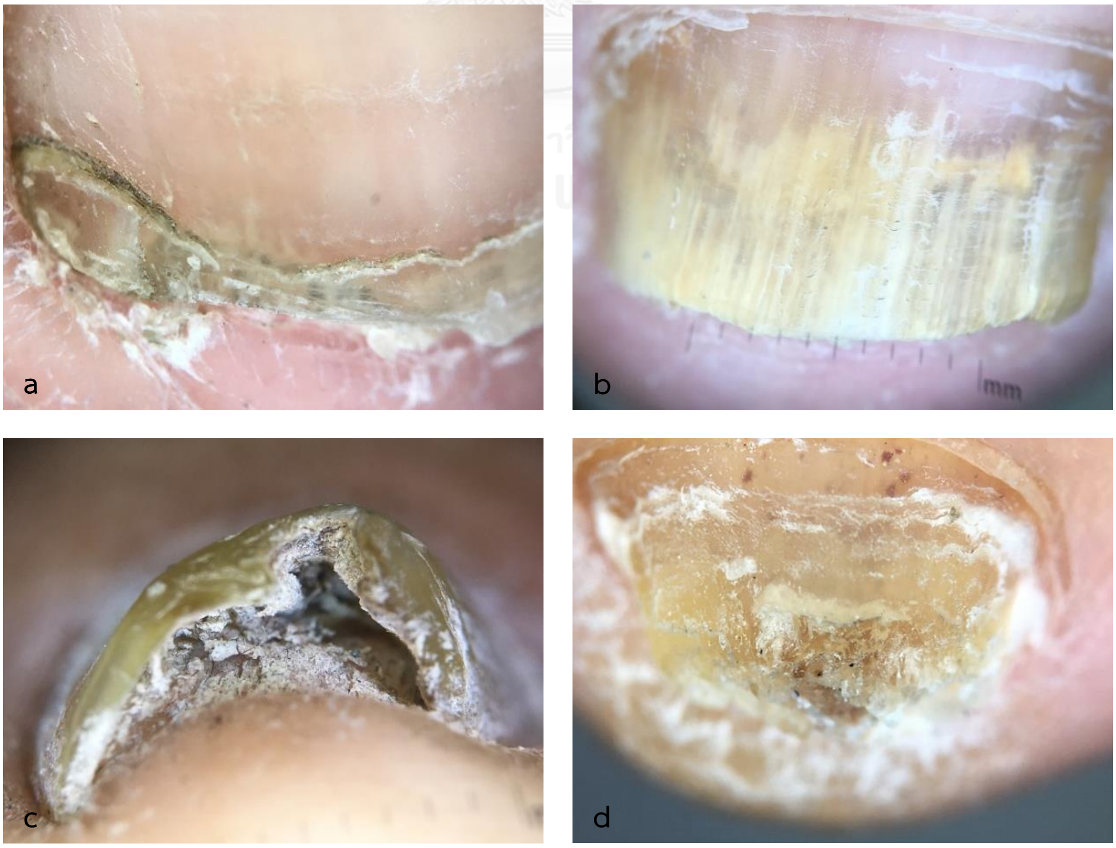
ร้อยละ (N = 68)	ความไว	ความจำเพาะ	ค่าพยากรณ์ผลบวก	ค่าพยากรณ์ผลลบ	ความถูกต้อง
โพแตสเซียมไฮดรอกไซด์ (n 39)	83.3	56.8	51.3	86.2	66.2
การเพาะเชื้อรา (n 39)	54.2	40.9	33.3	62.1	45.6
พิริออดิกเอซิดซิฟฟ์ (n 13)	54.2	100	100%	80	83.8
โกโมริเมทานามีนซิลเวอร์ (n 21)	87.5	100	100%	93.6	95.6
พีซีอาร์ (n 42)	62.5	38.6	35.7%	65.4	47.1

จากการศึกษาพบว่าการตัดเล็บย้อมด้วยโกโมริเมทานามีนซิลเวอร์เป็นการทดสอบชนิดเดี่ยวที่ดีที่สุด โดยให้ทั้งความไว ความจำเพาะ ค่าพยากรณ์ผลบวก ค่าพยากรณ์ผลลบ ความถูกต้อง สูงที่สุด คือ ร้อยละ 87.5 100 100 93.6 และ 95.6 ตามลำดับ การตัดเล็บย้อมด้วยพิริออดิกเอซิดซิฟฟ์ให้ความจำเพาะร้อยละ 100 และค่าพยากรณ์ผลบวกร้อยละ 100 ซึ่งสูงที่สุดเท่ากับการตัดเล็บย้อมด้วยโกโมริเมทานามีนซิลเวอร์ แต่มีความถูกต้องน้อยกว่า (ร้อยละ 83.8) ในการศึกษานี้การตัดเล็บย้อมด้วยพิริออดิกเอซิดซิฟฟ์มีความไวเพียงแค่ร้อยละ 54.2 ซึ่งเท่ากับความไวจากวิธีเพาะเชื้อรา การตรวจด้วยโพแตสเซียมไฮดรอกไซด์ให้ความไว ร้อยละ 83.3 และค่าพยากรณ์ผลลบ ร้อยละ 86.2 ซึ่งดีเป็นอันดับที่สอง เมื่อเทียบกับตัววัดมาตรฐานในการศึกษานี้

ตารางที่ 3 ตารางแสดงการวิเคราะห์เปรียบเทียบรูปแบบเดอร์โมสโคปชนิดเดี่ยวในการวินิจฉัยการติดเชื้อราที่เล็บเมื่อเทียบกับตัววัดมาตรฐาน (Gold standard)

ร้อยละ (N = 68)	ความไว	ความจำเพาะ	ค่าพยากรณ์ผลบวก	ค่าพยากรณ์ผลลบ	ความถูกต้อง
รูปแบบรอยหยัก (n 36)	41.7	40.9	27.8	56.3	41.2
รูปแบบออโรร่า (n 25)	29.2	59.1	28.0	60.5	48.5
รูปแบบซากปรักหักพัง (n 57)	87.5	18.2	36.8	72.7	42.6
รูปแบบเล็บแหว่งส่วนปลาย (n 14)	33.3	86.4	57.1	70.4	67.6

รูปภาพที่ 2 แสดงรูปแบบจากเดอร์โมสโคปที่จำเพาะทั้ง 4 รูปแบบที่พบจากการศึกษานี้ (a) รูปแบบรอยหยัก (b) รูปแบบออโรร่า (c) รูปแบบซากปรักหักพัง (d) รูปแบบเล็บแหว่งส่วนปลาย



จากการศึกษาพบกว่ารูปแบบซากปรักหักพังเป็นรูปแบบที่ให้ความไว (ร้อยละ 87.5) และค่าพยากรณ์ลบ (ร้อยละ 72.7) สูงที่สุดในกลุ่มรูปแบบเดอร์โมสโคปชนิดเดี่ยว แต่มีความจำเพาะน้อยที่สุด (ร้อยละ 18.2) ส่วนรูปแบบเล็บแหว่งส่วนปลายให้ความจำเพาะ (ร้อยละ 86.4) ค่าพยากรณ์ผลบวก (ร้อยละ 57.1) ความถูกต้อง (ร้อยละ 67.6) สูงที่สุด รูปแบบออโรร่าเป็นรูปแบบจากเดอร์โมสโคปที่มีความไวต่ำที่สุด (ร้อยละ 29.2) รูปแบบรอยหยักเป็นรูปแบบจากเดอร์โมสโคปที่ให้ความถูกต้องน้อยที่สุด (ร้อยละ 41.2) ในการวินิจฉัยการติดเชื้อราที่เล็บ

ตารางที่ 4 ตารางแสดงการวิเคราะห์เปรียบเทียบจำนวนการพบรูปแบบเดอร์โมสโคปแบบสะสมในการวินิจฉัยการติดเชื้อราที่เล็บเมื่อเทียบกับตัววัดมาตรฐาน (Gold standard)

ร้อยละ / (N = 68)	ความไว	ความจำเพาะ	ค่าพยากรณ์ผลบวก	ค่าพยากรณ์ผลลบ	ความถูกต้อง
พบ ≥0 รูปแบบ (n 68)	100	0	35.3	N/A	35.3
พบ ≥1 รูปแบบใดๆ (n 67)	100	2.3	35.8	100	36.8
พบ ≥2 รูปแบบใดๆ (n 47)	66.7	29.5	34.0	61.9	42.6
พบ ≥3 รูปแบบใดๆ (n 17)	20.8	72.7	29.4	62.7	54.4
พบทั้ง 4 รูปแบบ (n 1)	4.2	100	100	65.7	66.2

จากการศึกษาพบว่าเมื่อนำจำนวนการพบรูปแบบจากเดอร์โมสโคปที่มีความจำเพาะทั้ง 4 รูปแบบมารวมกัน การพบรูปแบบจากเดอร์โมสโคปตั้งแต่ 1 รูปแบบใดๆ ขึ้นไป มีความไวถึงร้อยละ 100 รวมทั้งมีค่าพยากรณ์ผลลบร้อยละ 100 เช่นเดียวกัน ในทางกลับกันการพบรูปแบบจากเดอร์โมสโคปทั้ง 4 รูปแบบบนเล็บผิดรูปเล็บเดียวกันจะให้ความจำเพาะกับการติดเชื้อราที่เล็บร้อยละ 100 ค่าพยากรณ์ผลบวกร้อยละ 100 และมีความถูกต้องถึงร้อยละ 66.2 ซึ่งการค้นพบนี้มีประโยชน์อย่างมากในการนำรูปแบบจากเดอร์โมสโคปไปประยุกต์ใช้ ดังจะกล่าวต่อไปในบทอภิปราย

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ตารางที่ 5 ตารางแสดงการวิเคราะห์เปรียบเทียบผลบวกจาก ‘การตรวจด้วยโพแตสเซียมไฮดรอกไซด์ หรือ รูปแบบเดอร์โมสโคปชนิดเดี่ยว อย่างใดอย่างหนึ่ง’ ในการวินิจฉัยการติดเชื้อราที่เล็บเมื่อเทียบกับตัววัดมาตรฐาน (Gold standard)

ร้อยละ (N = 68)	ความไว	ความจำเพาะ	ค่าพยากรณ์ผลบวก	ค่าพยากรณ์ผลลบ	ความถูกต้อง
โพแตสเซียมไฮดรอกไซด์ หรือ รูปแบบรอยหยัก (n 53)	87.5	27.3	39.6	80.0	48.5
โพแตสเซียมไฮดรอกไซด์ หรือ รูปแบบออโรร่า (n 49)	87.5	36.4	42.9	84.2	54.4
โพแตสเซียมไฮดรอกไซด์ หรือ รูปแบบซากปรักหักพัง (n 62)	100	13.6	38.7	100	44.1
โพแตสเซียมไฮดรอกไซด์ หรือ เล็บแหว่งส่วนปลาย (n 45)	91.7	47.7	48.9	91.3	63.2

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

การวิเคราะห์ ‘การตรวจด้วยโพแตสเซียมไฮดรอกไซด์ หรือ รูปแบบจากเดอร์โมสโคปชนิดเดี่ยว อย่างใดอย่างหนึ่ง’ (KOH or Single patterns) มีหลักการแปลผลว่าเป็นบวกหรือลบดังนี้

- การตรวจด้วยโพแตสเซียมไฮดรอกไซด์ให้ผลบวก ร่วมกับ รูปแบบเดอร์โมสโคปชนิดเดี่ยวให้ผลบวก จะแปลผลเป็นบวก
- การตรวจด้วยโพแตสเซียมไฮดรอกไซด์ให้ผลบวก ร่วมกับ รูปแบบเดอร์โมสโคปชนิดเดี่ยวให้ผลลบ จะแปลผลเป็นบวก
- การตรวจด้วยโพแตสเซียมไฮดรอกไซด์ให้ผลลบ ร่วมกับ รูปแบบเดอร์โมสโคปชนิดเดี่ยวให้ผลบวก จะแปลผลเป็นบวก
- การตรวจด้วยโพแตสเซียมไฮดรอกไซด์ให้ผลลบ ร่วมกับ รูปแบบเดอร์โมสโคปชนิดเดี่ยวให้ผลลบ จะแปลผลเป็นลบ

จากการศึกษาพบว่าผลบวกจาก 'การตรวจด้วยโพแตสเซียมไฮดรอกไซด์ หรือ รูปแบบเดอร์โมสโคปชนิดเดี่ยว อย่างใดอย่างหนึ่ง' ทั้ง 4 แบบในกลุ่มนี้มีความไวในการวินิจฉัยการติดเชื้อราที่เล็บสูง โดยผลบวกจาก 'การตรวจด้วยโพแตสเซียมไฮดรอกไซด์ หรือ รูปแบบซากปรักหักพัง อย่างใดอย่างหนึ่ง' ให้ความไวสูงที่สุดถึง ร้อยละ 100 และค่าพยากรณ์ผลลบ ร้อยละ 100 จึงมีประโยชน์อย่างมากในการนำไปประยุกต์ใช้เช่นเดียวกัน และผลบวกจาก 'การตรวจด้วยโพแตสเซียมไฮดรอกไซด์ หรือ รูปแบบเล็บแหว่งส่วนปลาย อย่างใดอย่างหนึ่ง' ให้ความจำเพาะร้อยละ 47.7 ค่าพยากรณ์ผลบวกร้อยละ 48.9 และความถูกต้องร้อยละ 63.2 สูงที่สุดในกลุ่มนี้

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ตารางที่ 6 ตารางแสดงการวิเคราะห์เปรียบเทียบผลบวกจาก 'การตรวจด้วยโพแตสเซียมไฮดรอกไซด์ หรือ จำนวนการพบรูปแบบเดอร์โมสโคปแบบสะสม อย่างใดอย่างหนึ่ง' ในการวินิจฉัยการติดเชื้อราที่เล็บเมื่อเทียบกับตัววัดมาตรฐาน (Gold standard)

ร้อยละ (N = 68)	ความไว	ความจำเพาะ	ค่าพยากรณ์ผลบวก	ค่าพยากรณ์ผลลบ	ความถูกต้อง
โพแตสเซียมไฮดรอกไซด์ หรือ พบ ≥0 รูปแบบ (n 68)	100	0	35.3	N/A	35.3
โพแตสเซียมไฮดรอกไซด์ หรือ พบ ≥1 รูปแบบใดๆ (n 68)	100	0	35.3	N/A	35.3
โพแตสเซียมไฮดรอกไซด์ หรือ พบ ≥2 รูปแบบใดๆ (n 63)	100	11.4	38.1	100	42.6
โพแตสเซียมไฮดรอกไซด์ หรือ พบ ≥3 รูปแบบใดๆ (n 46)	83.3	40.9	43.5	81.8	55.9
โพแตสเซียมไฮดรอกไซด์ หรือ พบทั้ง 4 รูปแบบ (n 39)	83.3	56.8	51.3	86.2	66.2

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

เนื่องจากผลบวกจาก 'การตรวจด้วยโพแตสเซียมไฮดรอกไซด์ หรือ การพบรูปแบบจากเดอร์โมสโคปอย่างน้อย 0 รูปแบบ อย่างใดอย่างหนึ่ง' เป็นการรวมผู้ป่วยทุกรายตั้งแต่ไม่พบรูปแบบจากเดอร์โมสโปคใดๆ เลย จนถึงการพบรูปแบบจากเดอร์โมสโคปทั้ง 4 รูปแบบ จึงเป็นตัวแทนประชากรทั้ง 68 คนในการศึกษานี้ ทำให้ไม่สามารถคำนวณค่าพยากรณ์ลบได้ สำหรับ 'การตรวจด้วยโพแตสเซียมไฮดรอกไซด์ หรือ การพบรูปแบบจากเดอร์โมสโคปอย่างน้อย 1 รูปแบบใดๆ อย่างใดอย่างหนึ่ง'

ให้ผลบวกทั้ง 68 ตัวอย่าง จึงไม่สามารถคำนวณค่าพยากรณ์ลบได้เช่นกัน ในกลุ่มนี้ผลบวกจาก 'การตรวจด้วยโพแตสเซียมไฮดรอกไซด์ หรือ การพบรูปแบบจากเดอร์โมสโคปอย่างน้อย 2 รูปแบบใดๆ อย่างใดอย่างหนึ่ง' มีความไวร้อยละ 100 และค่าพยากรณ์ผลลบร้อยละ 100

ตารางที่ 7 ตารางแสดงการวิเคราะห์เปรียบเทียบผลบวกจากทั้ง 'การตรวจด้วยโพแตสเซียมไฮดรอกไซด์ และ รูปแบบเดอร์โมสโคปชนิดเดียว พร้อมกัน' ในการวินิจฉัยการติดเชื้อราที่เล็บเมื่อเทียบกับตัววัดมาตรฐาน (Gold standard)

ร้อยละ (N = 68)	ความไว	ความจำเพาะ	ค่าพยากรณ์ผลบวก	ค่าพยากรณ์ผลลบ	ความถูกต้อง
โพแตสเซียมไฮดรอกไซด์ และ รูปแบบรอยหยัก (n 20)	37.5	75.0	45.0	68.8	61.8
โพแตสเซียมไฮดรอกไซด์ และ รูปแบบออโรร่า (n 14)	25.0	81.8	42.9	66.7	61.8
โพแตสเซียมไฮดรอกไซด์ และ รูปแบบซากปรักหักพัง (n 32)	70.8	65.9	53.1	80.6	67.7
โพแตสเซียมไฮดรอกไซด์ และ เล็บแหว่งส่วนปลาย (n 8)	25.0	95.5	75.0	70.0	70.6

เมื่อเปลี่ยนวิธีการวิเคราะห์ผลจากการใช้ "หรือ" เป็นการใช้ "และ" พบว่าให้ความไวที่น้อยลง แต่ให้ความจำเพาะและความถูกต้องในการวินิจฉัยการติดเชื้อราที่เล็บมากขึ้น โดยผลบวกจากทั้ง 'การตรวจด้วยโพแตสเซียมไฮดรอกไซด์ และ รูปแบบซากปรักหักพัง พร้อมกัน' มีความไวมากที่สุดในกลุ่มนี้ (ร้อยละ 70.8) และมีความสอดคล้องอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับตัววัดมาตรฐาน (gold standard) ในการศึกษานี้มากที่สุด (Kappa 0.342, p-value = 0.004*) ผลบวกจากทั้ง 'การตรวจด้วยโพแตสเซียมไฮดรอกไซด์ และ รูปแบบเล็บแหว่งส่วนปลาย พร้อมกัน' มีความจำเพาะร้อยละ

95.5 และความถูกต้องร้อยละ 70.6 ซึ่งมากที่สุดของกลุ่ม แต่เมื่อนำไปเปรียบเทียบกับตัววัดมาตรฐาน พบว่ามีความสอดคล้องน้อยกว่า (Kappa 0.241, p-value = 0.012*)

ตารางที่ 8 ตารางแสดงการวิเคราะห์เปรียบเทียบผลบวกจากทั้ง 'การตรวจด้วยโพแตสเซียมไฮดรอกไซด์ และ จำนวนการพบรูปแบบเดอร์โมสโคปแบบสะสม พร้อมกัน' ในการวินิจฉัยการติดเชื้อราที่เล็บเมื่อเทียบกับตัววัดมาตรฐาน (Gold standard)

ร้อยละ (N = 68)	ความไว	ความจำเพาะ	ค่าพยากรณ์ผลบวก	ค่าพยากรณ์ผลลบ	ความถูกต้อง
โพแตสเซียมไฮดรอกไซด์ และ พบ ≥0 รูปแบบ (n 39)	83.3	56.8	51.3	86.2	66.2
โพแตสเซียมไฮดรอกไซด์ และ พบ ≥1 รูปแบบใดๆ (n 38)	83.3	59.1	52.6	86.7	67.6
โพแตสเซียมไฮดรอกไซด์ และ พบ ≥2 รูปแบบใดๆ (n 24)	50	72.7	50	72.7	64.7
โพแตสเซียมไฮดรอกไซด์ และ พบ ≥3 รูปแบบใดๆ (n 11)	20.8	86.4	45.5	66.7	63.2
โพแตสเซียมไฮดรอกไซด์ และ พบทั้ง 4 รูปแบบ (n 1)	4.2	100	100	65.7	66.2

สุดท้าย ผลบวกจาก 'การตรวจด้วยโพแตสเซียมไฮดรอกไซด์ และ การพบรูปแบบจากเดอร์โมสโคปทั้ง 4 รูปแบบบนเล็บผิดรูปเล็บเดียวกัน พร้อมกัน' มีความจำเพาะร้อยละ 100 และมีค่าพยากรณ์ผลบวกร้อยละ 100 ในการวินิจฉัยการติดเชื้อราที่เล็บ

ในการเปรียบเทียบการตรวจด้วยเดอร์โมสโคปร่วมกับการตรวจด้วยโพแตสเซียมไฮดรอกไซด์เทียบกับ การตัดเล็บย้อมด้วยพิริออดิกเอซิดซิฟฟ์พบว่า รูปแบบซากปรักหักพังเป็นรูปแบบเดอร์โมส

โคปชนิดเดี่ยวที่ให้ความไวร้อยละ 87.5 ซึ่งมากกว่าความไวจากการตัดเล็บย้อมด้วยพิริออดิกเอซิดซิฟฟ์ (ร้อยละ 54.2) แต่ไม่มีรูปแบบเดอร์โมสโคปชนิดเดี่ยวใดที่ให้ความจำเพาะมากกว่าการตัดเล็บย้อมด้วยพิริออดิกเอซิดซิฟฟ์

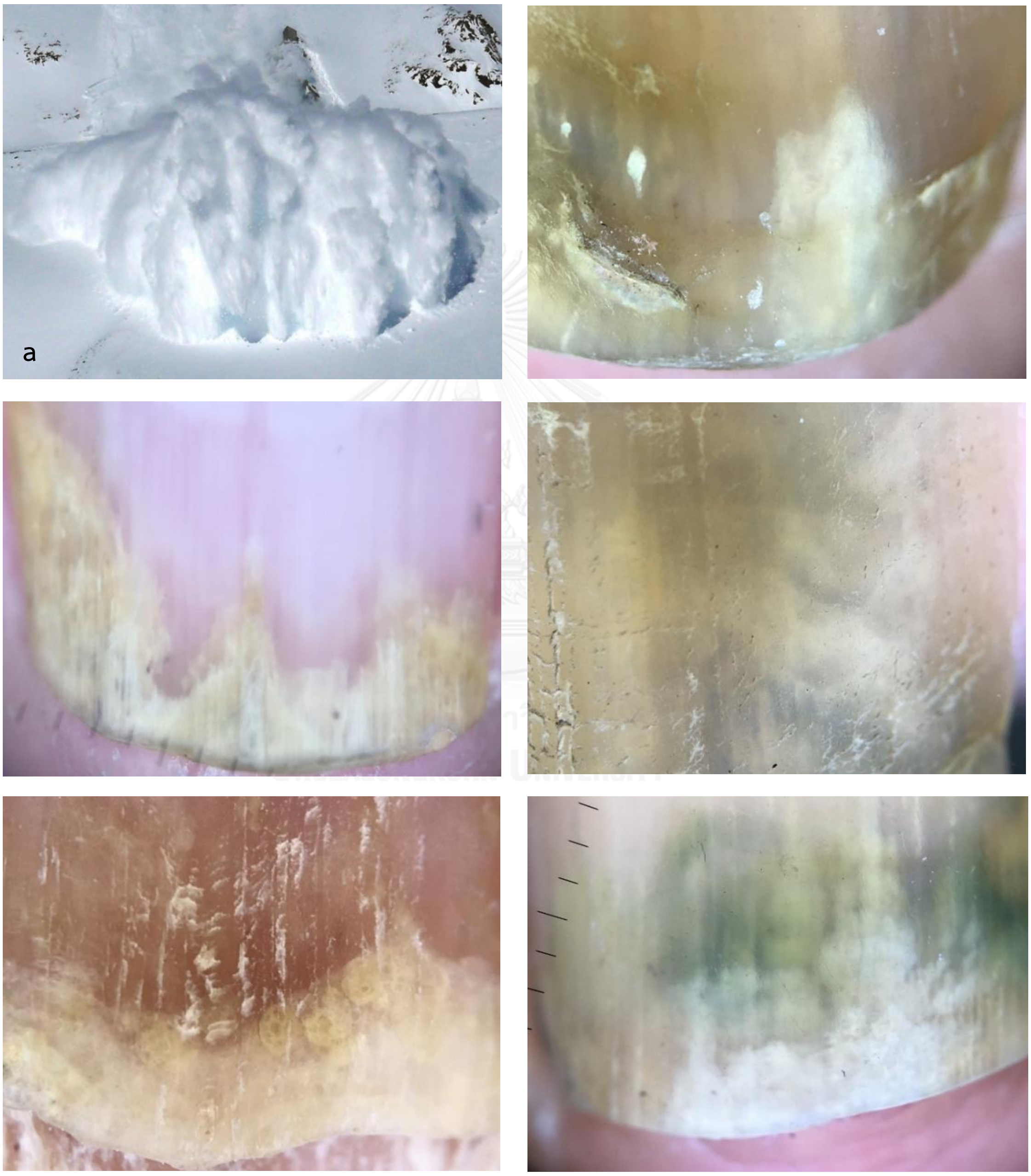
การพบรูปแบบจากเดอร์โมสโคปตั้งแต่ 1 รูปแบบใดๆ ขึ้นไปมีความไวสูงถึงร้อยละ 100 รวมทั้ง ‘การตรวจด้วยโพแตสเซียมไฮดรอกไซด์ หรือ รูปแบบซากปรักหักพัง อย่างใดอย่างหนึ่ง’ ก็ให้ความไวร้อยละ 100 เช่นเดียวกัน ซึ่งมากกว่าความไวจากการตัดเล็บย้อมด้วยพิริออดิกเอซิดซิฟฟ์ (ร้อยละ 54.2) การพบรูปแบบจากเดอร์โมสโคปทั้ง 4 รูปแบบบนเล็บผิดรูปเล็บเดียวกันจะให้ความจำเพาะร้อยละ 100 ซึ่งเท่ากับความไวจากการตัดเล็บย้อมด้วยพิริออดิกเอซิดซิฟฟ์ อย่างไรก็ตามการตรวจด้วยเดอร์โมสโคปร่วมกับการตรวจด้วยโพแตสเซียมไฮดรอกไซด์ยังมีความถูกต้องในการวินิจฉัยการติดเชื้อราที่เล็บไม่เทียบเท่าการตัดเล็บย้อมด้วยพิริออดิกเอซิดซิฟฟ์ (ร้อยละ 83.8) โดยผลบวกจากทั้ง ‘การตรวจด้วยโพแตสเซียมไฮดรอกไซด์ และ รูปแบบเล็บแหว่งส่วนปลาย พร้อมกัน’ มีความถูกต้องที่มากสุด (ร้อยละ 70.6)

รูปแบบหิมะถล่ม (Avalanche pattern)

ในการศึกษานี้ได้มีการค้นพบรูปแบบจากเดอร์โมสโคปรูปแบบใหม่ที่เรียกว่า ‘หิมะถล่ม’ (Avalanche pattern) มีลักษณะเป็นกลุ่มก้อนสีขาวที่มีความหนาแน่นของสีไม่สม่ำเสมออยู่บริเวณส่วนปลายของเล็บโดยกลุ่มก้อนสีขาวนี้จะเทลาดตกไปทางปลายเล็บ ให้ความรู้สึกคล้ายกับก้อนหิมะที่ถล่มจากภูเขาหิมะและไหลตกลงมา จากการศึกษานี้พบรูปแบบหิมะถล่มร้อยละ 37.5 ของเล็บที่ได้รับการวินิจฉัยการติดเชื้อราที่เล็บทั้งหมด โดยรูปแบบหิมะถล่มนี้มีความไว ความจำเพาะ ค่าพยากรณ์ผลบวก ค่าพยากรณ์ผลลบ ความถูกต้อง คิดเป็นร้อยละ 37.5%, 56.8%, 32.1%, 62.5% และ 50.0% ตามลำดับ ผลบวกจาก ‘การตรวจด้วยโพแตสเซียมไฮดรอกไซด์ หรือ รูปแบบหิมะถล่ม อย่างใดอย่างหนึ่ง’ (KOH or Avalanche pattern) ให้ความไวร้อยละ 87.5 โดยมีความไวเพิ่มขึ้นร้อยละ 4 เทียบกับการตรวจด้วยโพแตสเซียมไฮดรอกไซด์เพียงอย่างเดียว

รูปภาพที่ 3 แสดงตัวอย่างรูปแบบจากเดอร์โมสโคปรูปแบบหิมะถล่ม (Avalanche pattern) ที่ค้นพบใหม่จากการศึกษานี้ และ รูปภาพหิมะถล่ม a อ้างอิงจาก Scientif38. (2007). Powder snow avalanche [Online image].

Retrieved May 8, 2017 from https://en.wikipedia.org/wiki/Powder_snow_avalanche#/



การเพาะเชื้อรา (Fungal culture)

การเพาะเชื้อรา มีความไว ความจำเพาะ ค่าพยากรณ์ผลบวก ค่าพยากรณ์ผลลบ และความถูกต้อง เท่ากับร้อยละ 54.2 40.9 33.3 62.1 และ 45.6 ตามลำดับ เมื่อเทียบกับตัววัดมาตรฐาน (gold standard) ในการวิจัยนี้

จากผู้ป่วยที่ได้รับการวินิจฉัยเชื้อราที่เล็บทั้งหมด 24 รายในการศึกษานี้ พบว่าเพาะเชื้อขึ้นเป็นเชื้อราชนิด เดอร์มาโตไฟต์ 1 ราย คิดเป็นร้อยละ 4.2 ราสายที่ไม่ใช่เดอร์มาโตไฟต์ 7 ราย คิดเป็นร้อยละ 29.2 แคนดิดา 5 ราย คิดเป็นร้อยละ 20.8 ยีสต์ที่ไม่ใช่แคนดิดา 1 ราย คิดเป็นร้อยละ 4.2 และเพาะไม่ขึ้นเชื้อรา 11 ราย คิดเป็นร้อยละ 45.8 โดยมีผู้ป่วย 1 ราย (ร้อยละ 4.2) ที่ตรวจเพาะเชื้อขึ้นทั้งเชื้อราชนิดแคนดิดาและราสายที่ไม่ใช่เดอร์มาโตไฟต์ (Candida tropicalis และ Exophiala dermatitidis)

การตรวจด้วยวิธีพีซีอาร์ (PCR)

การตรวจด้วยวิธีพีซีอาร์ มีความไว ความจำเพาะ ค่าพยากรณ์ผลบวก ค่าพยากรณ์ผลลบ และความถูกต้อง เท่ากับร้อยละ 62.5 38.6 35.7 65.4 และ 47.1 ตามลำดับ เมื่อเทียบกับตัววัดมาตรฐาน (gold standard) ในการวิจัยนี้

จากผู้ป่วยที่ได้รับการวินิจฉัยเชื้อราที่เล็บทั้งหมด 24 รายในการศึกษานี้ พบว่าการตรวจด้วยวิธีพีซีอาร์ให้ผลเป็นเชื้อราชนิด เดอร์มาโตไฟต์ 1 ราย คิดเป็นร้อยละ 4.2 ราสายที่ไม่ใช่เดอร์มาโตไฟต์ 8 ราย คิดเป็นร้อยละ 33 แคนดิดา 6 ราย คิดเป็นร้อยละ 25 ยีสต์ที่ไม่ใช่แคนดิดา 1 ราย คิดเป็นร้อยละ 4.2 และไม่พบเชื้อรา 9 ราย คิดเป็นร้อยละ 37.5 โดยมีผู้ป่วย 1 ราย (ร้อยละ 4.2) ที่ตรวจพบทั้งเชื้อราชนิดแคนดิดาและราสายที่ไม่ใช่เดอร์มาโตไฟต์ (Candida tropicalis และ Exophiala dermatitidis)

ตารางที่ 9 ตารางแสดงผลการเพาะเชื้อรา และผลการตรวจด้วยวิธีพีซีอาร์ ในผู้ป่วยที่ได้รับการวินิจฉัยเชื้อราที่เล็บทั้งหมด 24 รายในการศึกษานี้

วิธีทดสอบ / ลำดับผู้ป่วย	ตำแหน่งเล็บ	การเพาะเชื้อรา	การตรวจด้วยวิธีพีซีอาร์
1	เล็บมือ	*Penicillium sp.*	*Penicillium nonatum*
2	เล็บเท้า	*Trichophyton rubrum*	*Trichophyton rubrum*
3	เล็บเท้า	-	-

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

4	เล็บเท้า	-	-
5	เล็บมือ	*Candida tropicalis/ Exophiala dermatitidis*	*Candida tropicalis/ Exophiala dermatitidis*
6	เล็บเท้า	*Aspergillus fumigatus*	*Aspergillus fumigatus*
7	เล็บเท้า	-	-
8	เล็บเท้า	*Candida dubliniensis*	*Candida dubliniensis*
9	เล็บมือ	-	-
10	เล็บเท้า	*Aspergillus fumigatus*	*Aspergillus fumigatus*
11	เล็บมือ	*Candida albicans*	*Candida albicans*
12	เล็บเท้า	-	-
13	เล็บมือ	-	-
14	เล็บมือ	*Candida tropicalis*	*Candida tropicalis*
15	เล็บเท้า	-	-
16	เล็บเท้า	*Non-Candida albicans*	*Cryptococcus diffluens*
17	เล็บเท้า	-	-
18	เล็บเท้า	-	*Candida albicans*
19	เล็บเท้า	*Hyaline Septate Hyphae*	*Lecanicillium fusisporum*
20	เล็บมือ	*Aspergillus niger*	*Aspergillus niger*
21	เล็บเท้า	*Candida parapsilosis*	*Candida parapsilosis*
22	เล็บมือ	-	-
23	เล็บเท้า	-	*Aspergillus fumigatus*
24	เล็บเท้า	*Fusarium sp.*	*Fusarium oxysporum*

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ตารางที่ 10 ตารางแสดงรูปแบบของเดอร์โมสโคปที่พบในผู้ป่วยที่ได้รับการวินิจฉัยเชื้อราที่เล็บทั้งหมด 24 ราย จำแนกตามประเภทของเชื้อราจากการตรวจด้วยวิธีพีซีอาร์

ชนิดเชื้อรา / รูปแบบ	ราสาย (N 9) (เดอร์มาโตไฟต์ และราสายที่ไม่ใช่เดอร์มาโตไฟต์) n (ร้อยละ)	รายีสต์ (N 7) (แคนดิดา และยีสต์ที่ไม่ใช่แคนดิดา) n (ร้อยละ)
รอยหยัก	2 (22.2)	3 (42.9)
ออโรร่า	3 (33.3)	3 (42.9)
ซากปรักหักพัง	8 (88.9)	6 (85.7)
เล็บแหว่งส่วนปลาย	4 (44.4)	3 (42.9)

จากผู้ป่วยที่ได้รับการวินิจฉัยเชื้อราที่เล็บทั้งหมด 24 รายในการศึกษานี้ พบว่าเล็บที่เกิดจากการติดเชื้อราสาย (เดอร์มาโตไฟต์ และราสายที่ไม่ใช่เดอร์มาโตไฟต์) ทั้งหมด 9 ราย ให้รูปแบบจากเดอร์โมสโคปแบบรอยหยัก 2 ราย คิดเป็นร้อยละ 22.2 รูปแบบออโรร่า 3 ราย คิดเป็นร้อยละ 33.3 รูปแบบซากปรักหักพัง 8 ราย คิดเป็นร้อยละ 88.9 และรูปแบบเล็บแหว่งส่วนปลาย 4 ราย คิดเป็นร้อยละ 44.4 ส่วนเล็บที่เกิดจากการติดเชื้อรายีสต์ทั้งหมด 7 ราย ให้รูปแบบจากเดอร์โมสโคปแบบรอยหยัก 3 ราย คิดเป็นร้อยละ 42.9 รูปแบบออโรร่า 3 ราย คิดเป็นร้อยละ 42.9 รูปแบบซากปรักหักพัง 6 ราย คิดเป็นร้อยละ 85.7 และรูปแบบเล็บแหว่งส่วนปลาย 3 ราย คิดเป็นร้อยละ 42.9 ทั้งนี้มีผู้ป่วย 1 ราย (ร้อยละ 4.2) ที่ตรวจพบทั้งเชื้อราสายและรายีสต์ (Exophiala dermatitidis และ Candida tropicalis) จากการศึกษานี้ไม่พบรูปแบบจากเดอร์โมสโคปที่จำเพาะกับการติดเชื้อราชนิดใดเป็นพิเศษ

ตารางที่ 11 ตารางแสดงการวิเคราะห์เปรียบเทียบผลบวกจากการตรวจด้วยโพแตสเซียมไฮดรอกไซด์ร่วมกับการเพาะเชื้อราในการวินิจฉัยการติดเชื้อราที่เล็บเมื่อเทียบกับตัววัดมาตรฐาน (Gold standard)

ร้อยละ (N = 68)	ความไว	ความจำเพาะ	ค่าพยากรณ์ผลบวก	ค่าพยากรณ์ผลลบ	ความถูกต้อง
โพแตสเซียมไฮดรอกไซด์ (n 39)	83.3	56.8	51.3	86.2	66.2
การเพาะเชื้อรา (n 39)	54.2	40.9	33.3	62.1	45.6
โพแตสเซียมไฮดรอกไซด์ หรือ การเพาะเชื้อรา (n 57)	95.8	22.7	40.3	90.9	48.5
โพแตสเซียมไฮดรอกไซด์ และ การเพาะเชื้อรา (n 21)	41.7	75	47.6	70.2	63.2

จากการศึกษาพบว่าผลบวกจาก ‘การตรวจด้วยโพแตสเซียมไฮดรอกไซด์ หรือ การเพาะเชื้อรา อย่างใดอย่างหนึ่ง’ ให้ความไว ร้อยละ 95.8 และค่าพยากรณ์ผลลบ ร้อยละ 90.9 ซึ่งให้ความไวและค่าพยากรณ์ผลลบมากกว่าการใช้การตรวจด้วยโพแตสเซียมไฮดรอกไซด์เดี่ยวๆ สำหรับผลบวกจาก ‘การตรวจด้วยโพแตสเซียมไฮดรอกไซด์ และ การเพาะเชื้อรา พร้อมกัน’ ให้ความจำเพาะร้อยละ 75 ค่าพยากรณ์ผลบวกร้อยละ 70.2 ซึ่งมีค่ามากกว่าการตรวจด้วยโพแตสเซียมไฮดรอกไซด์เดี่ยวๆ อย่างไรก็ตามการตรวจด้วยโพแตสเซียมไฮดรอกไซด์ร่วมกับการเพาะเชื้อรายังให้ความถูกต้องน้อยกว่าการตรวจด้วยโพแตสเซียมไฮดรอกไซด์เดี่ยวๆ

การรักษาการติดเชื้อราที่เล็บของผู้ป่วยที่เข้าร่วมการศึกษา

ในการศึกษานี้พบว่า ผู้ป่วยที่ได้รับการวินิจฉัยว่าติดเชื้อราที่เล็บทั้ง 24 ราย ได้รับการรักษาด้วยยาต้านเชื้อราชนิดรับประทานทั้งหมด 12 ราย (เป็น itraconazole 11 ราย และ terbinafine 1

ราย) คิดเป็นร้อยละ 50 ได้ยาต้านเชื้อราชนิดแล็กเกอร์ทาเล็บ (amorolfine nail lacquer) ทั้งหมด 8 ราย คิดเป็นร้อยละ 33 ได้รับยาหยอดเล็บ (thymol) ระหว่างการรอรักษาด้วยโฟโต้ไดนามิกเทอราพี (photodynamic therapy) ทั้งหมด 3 ราย คิดเป็นร้อยละ 12.5 และได้เป็น 40% ยูเรียครีม (40% Urea cream) ระหว่างการรอรักษาด้วยโฟโต้ไดนามิกเทอราพี 1 ราย คิดเป็นร้อยละ 4.2

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

บทที่ 5

อภิปราย สรุปผลการวิจัย และข้อเสนอแนะ

อภิปรายผล

ปัจจุบันสัดส่วนประชากรโลกที่เข้าสู่วัยสูงอายุกำลังเพิ่มมากขึ้นอย่างรวดเร็วแบบที่ไม่เคยปรากฏมาก่อนในอดีต ข้อมูลจาก "World Population Ageing 2015"[53] ที่จัดทำขึ้นโดยองค์การสหประชาชาติเปิดเผยว่าในปี ค.ศ. 2015 ที่ผ่านมาประชากรที่มีอายุตั้งแต่ 60 ปีขึ้นไปคิดเป็นสัดส่วน 1 ใน 8 ของประชากรโลกทั้งหมด (ร้อยละ 12.5) และถ้าการเติบโตของประชากรโลกสูงอายุยังเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ ด้วยอัตราเร็วนี้ ประชากรที่อายุตั้งแต่ 60 ปีขึ้นไปจะเพิ่มขึ้นเป็นสัดส่วน 1 ใน 6 (ร้อยละ 16.67) ของประชากรโลกภายในปี ค.ศ. 2030 และในปี ค.ศ. 2050 จะพบว่าในประชากรที่เดินมา 5 คน จะพบผู้สูงอายุ 1 คน (ร้อยละ 20)

ความชุกของการติดเชื้อราที่เล็บจะเพิ่มมากขึ้นในประชากรที่สูงอายุ ดังนั้นเมื่อประชากรโลกกำลังก้าวย่างเข้าสู่ศตวรรษของผู้สูงวัย ขนาดของปัญหาการติดเชื้อราที่เล็บก็จะเพิ่มมากขึ้นทั่วโลกเป็นเงาตามตัวอย่างที่หลีกเลี่ยงไม่ได้ในอนาคต นอกจากนี้การมารับการตรวจรักษาและนัดติดตามเพื่อฟังผลตรวจทางห้องปฏิบัติการหลายครั้งยังเป็นอีกหนึ่งปัญหาสำคัญในกลุ่มประชากรที่สูงอายุ

การรักษาหลักในการติดเชื้อราที่เล็บในปัจจุบัน คือ การให้ยาต้านเชื้อรากลุ่ม -เอโซล ชนิดรับประทาน ถ้าผู้ป่วยไม่มีข้อห้ามในการให้ยา แต่บ่อยครั้งที่แพทย์ผู้ทำการรักษาไม่สามารถสั่งการรักษาได้เนื่องจากต้องการหลีกเลี่ยงความเสี่ยงจากอันตรกิริยาระหว่างยา (drug interaction) ที่ไม่พึงประสงค์ เนื่องจากยาต้านเชื้อรากลุ่ม -เอโซล ส่วนใหญ่ผ่านการเมตาบอไลท์ (metabolized) โดยเอนโซม์ไซโตโครมพี 450 ชนิด 3 เอ 4 (cytochrome P450 3A4) ซึ่งเอนไซม์ตัวนี้เป็นเอนไซม์หลักที่ใช้ในการเมตาบอไลท์ยาหลายกลุ่ม โดยเฉพาะที่พบเป็นปัญหาบ่อยคือ ยาในกลุ่มเอชเอ็มจีโคเอรีดักเตสอินฮิบิเตอร์ (HMG-CoA reductase inhibitors) หรือ สเตติน (statins) ซึ่งเป็นยาลดไขมันในเลือดสูงที่ได้รับการสั่งจ่ายบ่อยในกลุ่มประชากรผู้สูงอายุอยู่แล้ว เครื่องมือในการตรวจวินิจฉัยการติดเชื้อราที่เล็บที่ดีเป็นสิ่งจำเป็นในการหลีกเลี่ยงอันตรายจากอันตรกิริยาระหว่างยาที่สามารถมีความรุนแรงหลากหลายตั้งแต่อาการปวดเมื่อยกล้ามเนื้อธรรมดาไปจนถึงภาวะกล้ามเนื้อสลายที่อันตรายถึงแก่ชีวิตได้

คณะผู้วิจัยจึงได้ดำเนินการศึกษาความเป็นไปได้เพื่อหาเครื่องมือในการวินิจฉัยเชื้อราที่เล็บที่เชื่อถือได้และสามารถให้ผลการวินิจฉัยได้ภายในการตรวจที่แผนกผู้ป่วยนอกเพียงครั้งเดียว จากการ

ค้นคว้าพบว่าการตรวจด้วยโพแตสเซียมไฮดรอกไซด์เป็นเครื่องมือที่ให้ผลการตรวจที่รวดเร็ว แต่ยังมีข้อจำกัดเรื่องความไวเมื่อเทียบกับตัววัดมาตรฐาน (gold standard) ในการวินิจฉัยเชื้อราที่เล็บ สำหรับเดอร์โมสโคปเป็นอีกหนึ่งเครื่องมือสมัยใหม่ที่มีความสะดวกรวดเร็วในการใช้งาน และมีรูปแบบจากเดอร์โมสโคปที่จำเพาะกับการติดเชื้อราที่เล็บ ดังนั้นคณะผู้วิจัยจึงทำการศึกษาวิจัยการตรวจด้วยเดอร์โมสโคปร่วมกับการตรวจด้วยโพแตสเซียมไฮดรอกไซด์เทียบกับการตัดเล็บย้อมด้วยพิริออดิกเอซิดชิฟฟ์ในการวินิจฉัยการติดเชื้อราที่เล็บ

การวินิจฉัยการติดเชื้อราที่เล็บ (Definite case of onychomycosis)

ในการศึกษานี้พบว่ามีผู้ป่วยที่ได้รับการวินิจฉัยว่าติดเชื้อราที่เล็บทั้งสิ้น 24 ราย คิดเป็นร้อยละ 35.3 ของผู้ป่วยที่มาด้วยเล็บผิดรูปทั้งหมด 68 ราย ซึ่งน้อยกว่าการศึกษาก่อนหน้านี้[1-3]ที่พบการติดเชื้อราที่เล็บประมาณร้อยละ 50 ของผู้ป่วยที่มาด้วยเล็บที่ผิดรูป อาจจะอธิบายได้จากการที่เลือกใช้ตัววัดมาตรฐาน (gold standard) ที่แตกต่างกัน โดยในการศึกษานี้ได้ใช้ผลบวกจากการตัดเล็บย้อมด้วยพิริออดิกเอซิดชิฟฟ์ หรือ การตัดเล็บย้อมด้วยโกโมริเมทานามีน อย่างใดอย่างหนึ่ง (positive result from either HPE-PAS or HPE-GMS) เป็นตัววัดมาตรฐาน ทำให้สามารถลดผลบวกลวงจาก saprophyte ที่อาจจะพบได้ในการตรวจด้วยการตรวจด้วยโพแตสเซียมไฮดรอกไซด์ หรือการเพาะเชื้อราที่ไม่ได้มาตรฐาน

การตรวจด้วยโพแตสเซียมไฮดรอกไซด์

การตรวจด้วยการตรวจด้วยโพแตสเซียมไฮดรอกไซด์มีความไวในการวินิจฉัยการติดเชื้อราที่เล็บร้อยละ 83.3 ซึ่งสอดคล้องกับความไว (ร้อยละ 77.1) จากการศึกษาของ Jeelani และคณะ[4] เรื่อง Histopathological examination of nail clippings using PAS staining (HPE-PAS): gold standard in diagnosis of Onychomycosis ในปี 2015 ที่นำมาใช้ในการคำนวณขนาดตัวอย่างของงานวิจัยชิ้นนี้

การเพาะเชื้อรา

จากผลการศึกษาวิจัยครั้งนี้พบว่าการเพาะเชื้อรามีความไวร้อยละ 54.2 ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยส่วนใหญ่[4, 5, 7-10]ที่มีความไวตั้งแต่ร้อยละ 30 ถึงร้อยละ 70 แต่เป็นที่น่าสังเกตว่าพบเชื้อราชนิดเดอร์มาโตไฟต์เป็นสาเหตุของการติดเชื้อราที่เล็บน้อยเมื่อเทียบกับการศึกษาก่อนหน้า

การตัดเล็บย้อมด้วยพิริออดิกเอซิดซิฟฟ์

จากผลการศึกษาวิจัยครั้งนี้พบว่าการตัดเล็บย้อมด้วยพิริออดิกเอซิดซิฟฟ์ในการวินิจฉัยการติดเชื้อราที่เล็บมีความจำเพาะร้อยละ 100 และความถูกต้องร้อยละ 83.8 ซึ่งสูงกว่าทั้งการตรวจด้วยโพแตสเซียมไฮดรอกไซด์ (ความจำเพาะร้อยละ 56.8, ความถูกต้องร้อยละ 66.2) และการเพาะเชื้อรา ผลการศึกษาส่วนนี้สอดคล้องกับการศึกษาในอดีต แต่เป็นที่น่าสังเกตว่าในการศึกษานี้การตัดเล็บย้อมด้วยพิริออดิกเอซิดซิฟฟ์มีความไวเพียงร้อยละ 54.2 ซึ่งน้อยกว่าการศึกษาก่อนหน้านี้[11, 12, 24] ที่มักจะมีความไวใกล้เคียงกับวิธีการตัดเล็บย้อมด้วยโกโมริเมทานามีนซิลเวอร์ (ความไวร้อยละ 87.5) โดยสาเหตุอาจเป็นจากปริมาณตัวอย่างเล็บ (specimen) ที่น้อยเกินไป เนื่องจากต้องมีการแบ่งตัวอย่างเล็บที่ผิดรูปเพื่อส่งตรวจทางห้องปฏิบัติการหลายอย่าง

การตัดเล็บย้อมด้วยโกโมริเมทานามีนซิลเวอร์

จากผลการศึกษาวิจัยครั้งนี้พบว่าการตัดเล็บย้อมด้วยโกโมริเมทานามีนซิลเวอร์ในการวินิจฉัยการติดเชื้อราที่เล็บมีความไวร้อยละ 87.5 ความจำเพาะร้อยละ 100 ค่าพยากรณ์ผลบวกร้อยละ 100 ค่าพยากรณ์ผลลบร้อยละ 93.6 และความถูกต้องร้อยละ 83.8 ซึ่งสูงที่สุดในบรรดาการทดสอบชนิดเดี่ยว และสอดคล้องกับการศึกษาในอดีต ในการศึกษานี้พบว่าการตัดเล็บย้อมด้วยโกโมริเมทานามีนซิลเวอร์ให้ค่าพารามิเตอร์ต่างๆ มากกว่าหรือเท่ากับการตัดเล็บย้อมด้วยพิริออดิกเอซิดซิฟฟ์ อย่างไรก็ตามเมื่อคำนวณด้วยวิธีการทางสถิติโดยใช้การทดสอบแมคนีมาร์ (McNemar’s test) แล้วพบว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P = 0.057)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

การตรวจด้วยวิธีพีซีอาร์ (PCR)

ในการศึกษานี้พบว่าการวินิจฉัยการติดเชื้อราที่เล็บด้วยวิธีพีซีอาร์มีความไวร้อยละ 62.5 ซึ่งมากกว่าความไวจากการเพาะเชื้อรา (ร้อยละ 54.2) แต่น้อยกว่าความไวจากการตรวจด้วยโพแตสเซียมไฮดรอกไซด์ (ร้อยละ 83.3) ซึ่งสอดคล้องกับผลการศึกษาส่วนใหญ่ก่อนหน้านี้[18, 39-48] แต่เป็นที่น่าสังเกตว่าพบเชื้อราชนิดเดอร์มาโตไฟต์เป็นสาเหตุของการติดเชื้อราที่เล็บน้อยเมื่อเทียบกับการศึกษาก่อนหน้า เมื่อเปรียบเทียบการตรวจด้วยวิธีพีซีอาร์กับการตัดเล็บย้อมด้วยพิริออดิกเอซิดซิฟฟ์ด้วยวิธีการทางสถิติโดยใช้การทดสอบแมคนีมาร์ (McNemar’s test) แล้วพบว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P = <0.001)

รูปแบบจากเดอร์โมสโคปทั้ง 4 รูปแบบ

จากการการศึกษาวิจัยครั้งนี้ยืนยันรูปแบบจากเดอร์โมสโคปทั้ง 4 รูปแบบที่ค้นพบในการศึกษาก่อนหน้านี้ ได้แก่ รูปแบบรอยหยัก (Jagged proximal edge with spikes of the onycholytic area) รูปแบบออโรร่า (Aurora pattern or Distal to proximal subungual longitudinal striae) รูปแบบซากปรักหักพัง (“Ruin appearance” subungual keratosis) และรูปแบบเล็บแหว่งส่วนปลาย (Distal irregular termination)

รูปแบบรอยหยัก (Jagged proximal edge with spikes of the onycholytic area)

ในการศึกษานี้พบว่ารูปแบบจากเดอร์โมสโคปแบบรูปแบบรอยหยัก (Jagged proximal edge with spikes of the onycholytic area) มีความไวร้อยละ 41.7 และความจำเพาะร้อยละ 40.9 ซึ่งน้อยกว่าความไวและความจำเพาะเมื่อเทียบกับการศึกษาของ Piraccini และคณะ[35] ในปี 2013 ที่มีความไวร้อยละ 100 และความจำเพาะร้อยละ 100

รูปแบบออโรร่า (Aurora pattern)

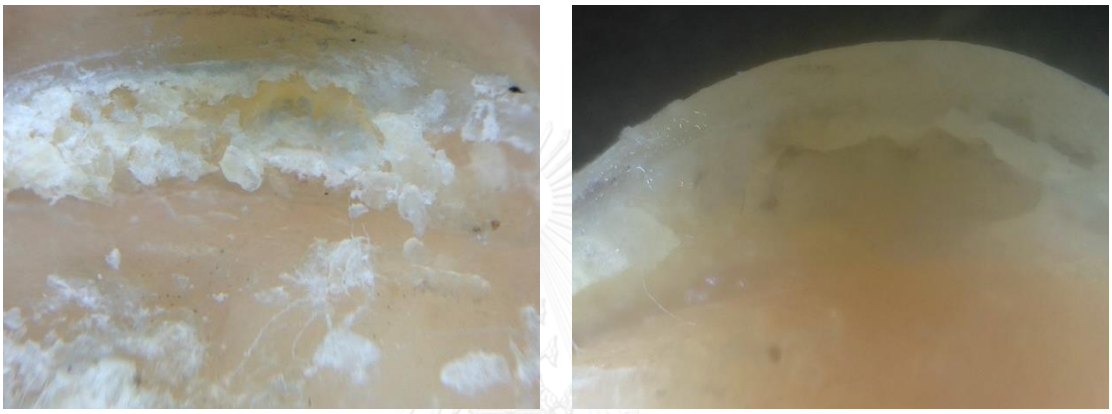
จากการศึกษานี้พบว่ารูปแบบจากเดอร์โมสโคปแบบรูปแบบออโรร่า (Aurora pattern or Distal to proximal subungual longitudinal striae) มีความไวร้อยละ 29.2 และความจำเพาะร้อยละ 59.1 ซึ่งน้อยกว่าความไวและความจำเพาะเมื่อเทียบกับการศึกษาเดียวกันที่มีความไวร้อยละ 86.5 และความจำเพาะร้อยละ 100 ซึ่งสามารถอธิบายได้จากเกณฑ์การวินิจฉัยการติดเชื้อราที่เล็บในการศึกษาของ Piraccini และคณะ[35] ที่ใช้การวินิจฉัยด้วยความเห็นของผู้เชี่ยวชาญ (subjectively made diagnoses) จากลักษณะทางคลินิก ได้แก่ รูปร่าง สีของเล็บส่วนที่ร่อน และความหนาตัวของเล็บ โดยไม่จำเป็นต้องมีผลบวกจากการตรวจทางห้องปฏิบัติการยืนยันทุกราย รวมทั้งการไม่มีตัวอย่างเล็บที่ไม่ได้เป็นเชื้อรามาควบคุม (negative control) จึงทำให้ค่าความไว และความจำเพาะอาจจะสูงกว่าความเป็นจริง

รูปแบบซากปรักหักพัง (“Ruin appearance” subungual keratosis)

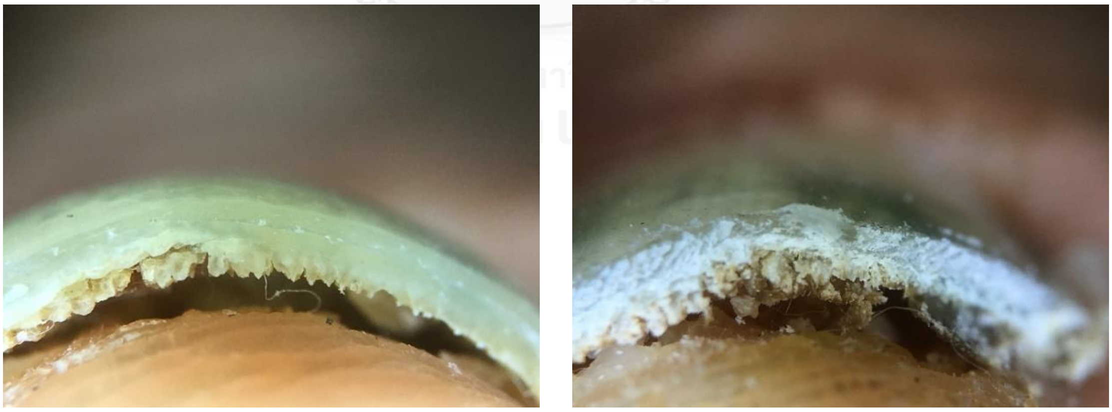
ในการศึกษานี้พบว่ารูปแบบจากเดอร์โมสโคปแบบซากปรักหักพังมีความไวสูงที่สุดในบรรดารูปแบบจากเดอร์โมสโคปชนิดเดี่ยว โดยมีความไวในการวินิจฉัยเชื้อราที่เล็บร้อยละ 87.5 ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ De Crignis และคณะ[3] ในปี ค.ศ. 2014 ที่พบว่า รูปแบบซากปรักหักพัง (“Ruin appearance” subungual keratosis) พบได้ในผู้ป่วย 296 ราย จากผู้ป่วยที่ได้รับการวินิจฉัยว่ามี

การติดเชื้อราที่เล็บ (ความไวร้อยละ 88.1) คณะผู้วิจัยพบว่าการตรวจหารูปแบบซากปรักหักพังนี้ในเล็บที่ผิดรูปไม่ควรทำความสะอาดเล็บด้วยแอลกอฮอล์ก่อนการส่องด้วยเดอร์โมสโคป เนื่องจากจะทำให้สังเกตรูปแบบนี้ได้ยากขึ้น (รูปภาพที่ 4) นอกจากนี้ยังพบว่าการตัดเล็บก่อนส่องด้วยเดอร์โมสโคปอาจจะช่วยทำให้ตรวจพบรูปแบบซากปรักหักพังนี้ได้ง่ายขึ้น (รูปภาพที่ 5)

รูปภาพที่ 4 แสดงรูปแบบจากเดอร์โมสโคปแบบซากปรักหักพังก่อนและหลังทำความสะอาดเล็บด้วยแอลกอฮอล์



รูปภาพที่ 5 แสดงรูปแบบจากเดอร์โมสโคปแบบซากปรักหักพังก่อนและหลังการตัดเล็บ



รูปแบบเล็บแหว่งส่วนปลาย (Distal irregular termination)

ในการศึกษานี้พบว่ารูปแบบจากเดอร์โมสโคปแบบเล็บแหว่งส่วนปลาย (Distal irregular termination) เป็นรูปแบบจากเดอร์โมสโคปที่มีความจำเพาะและความถูกต้องสูงที่สุดในบรรดารูปแบบจากเดอร์โมสโคปชนิดเดี่ยว โดยในการศึกษาของ Jesus-Silva และคณะ[37] ก่อนหน้านี้ในปี ค.ศ. 2015 พบว่ารูปแบบเล็บแหว่งส่วนปลายไม่ได้สัมพันธ์กับชนิดของการติดเชื้อราที่เล็บแบบใด

อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่สังเกตว่ารูปแบบเล็บแหว่งส่วนปลายนี้พบมากในการติดเชื้อราที่เล็บชนิด TDO ในการศึกษาครั้งนี้พบรูปแบบเล็บแหว่งส่วนปลายจากเล็บที่ได้รับการวินิจฉัยด้วยตัววัดมาตรฐานว่าเป็นการติดเชื้อราที่เล็บทั้งหมด 8 เล็บ โดยทั้ง 8 เป็นการติดเชื้อราที่เล็บชนิด TDO (ร้อยละ 100) ซึ่งสนับสนุนการศึกษาของ Jesus-Silva และคณะ การศึกษานี้ยังเพิ่มการคำนวณและรายงานค่าความไว ความจำเพาะ ค่าพยากรณ์ผลบวก ค่าพยากรณ์ผลลบ และความถูกต้อง ของรูปแบบเล็บแหว่งส่วนปลายอีกด้วย

เมื่อใช้วิธีการสถิติคำนวณเปรียบเทียบความสอดคล้องระหว่างรูปแบบจากเดอร์โมสโคปแบบเล็บแหว่งส่วนปลายและการตัดเล็บย้อมด้วยพิริออดิกเอซิดซิฟฟ์ด้วยการทดสอบแมคนีมาร์ (McNemar test) พบว่า P = 1 แปลว่าการใช้รูปแบบจากเดอร์โมสโคปแบบเล็บแหว่งส่วนปลายสอดคล้องกับการตัดเล็บย้อมด้วยพิริออดิกเอซิดซิฟฟ์ และเมื่อนำรูปแบบจากเดอร์โมสโคปแบบเล็บแหว่งส่วนปลายไปรวมกับการตรวจด้วยโพแตสเซียมไฮดรอกไซด์จะสามารถทำให้ความไว ความจำเพาะ ค่าพยากรณ์ผลบวก ค่าพยากรณ์ผลลบ และความถูกต้องของการตรวจด้วยโพแตสเซียมไฮดรอกไซด์ดีขึ้นได้ ทั้งนี้ขึ้นกับวิธีที่นำไปรวม กล่าวคือ

- ผลบวกจาก ‘การตรวจด้วยโพแตสเซียมไฮดรอกไซด์ หรือ รูปแบบเล็บแหว่งส่วนปลาย อย่างใดอย่างหนึ่ง’ (a positive result from ‘KOH or distal irregular termination’) ให้ความไวร้อยละ 91.7 ค่าพยากรณ์ผลลบร้อยละ 91.3 ซึ่งมีค่ามากกว่าความไวและค่าพยากรณ์ผลลบของการตรวจด้วยโพแตสเซียมไฮดรอกไซด์อย่างเดียวที่ร้อยละ 83.3 และ 86.2 ตามลำดับ
- ผลบวกจากทั้ง ‘การตรวจด้วยโพแตสเซียมไฮดรอกไซด์ และ รูปแบบเล็บแหว่งส่วนปลายพร้อมกัน’ (the positive results from ‘KOH and distal irregular termination’) มีความจำเพาะร้อยละ 95.5 ค่าพยากรณ์ผลบวกร้อยละ 75.0 และความถูกต้องร้อยละ 70.6 ซึ่งมีค่ามากกว่าความจำเพาะ ค่าพยากรณ์ผลบวก และความถูกต้องของการตรวจด้วยโพแตสเซียมไฮดรอกไซด์อย่างเดียวที่ร้อยละ 56.8, 51.3 และ 66.2 ตามลำดับ

รูปแบบหิมะถล่ม (Avalanche pattern)

รูปแบบหิมะถล่ม ‘Avalanche pattern’ เป็นรูปแบบจากเดอร์โมสโคปที่ถูกค้นพบเป็นครั้งแรกในการศึกษานี้ จากการทบทวนวรรณกรรมพบว่าลักษณะจากเดอร์โมสโคปกับการติดเชื้อราที่เล็บถูกกล่าวถึงครั้งแรกในปี ค.ศ. 2012 โดย Nakamura และคณะ[36] โดยในการศึกษาเรื่อง Dermatoscopic findings in the most frequent onychopathies: descriptive analysis of 500 cases ได้บรรยายลักษณะที่ตรวจพบจากการนำเดอร์โมสโคปไปส่องดูเล็บที่ติดเชื้อราพบว่าแผ่นเล็บจะมีลักษณะขุ่น (Opacity) แต่ไม่ได้บรรยายถึงรายละเอียดและความเฉพาะเจาะจงของความขุ่น

นอกจากนั้นในการศึกษาของ Nakamura และคณะ ยังได้บรรยายลักษณะจากเดอร์โมสโคปอื่นๆ ที่สามารถพบได้ดังนี้

- แผ่นเล็บ (nail plate) เล็บเปลี่ยนสี (เหลือง/น้ำตาล/เขียว/ฮีมาโตมา), เล็บร่อน, เล็บขุ่น (opacity) และ แบบเส้นสีขาว (longitudinal whitish streaks)
- เล็บที่เป็นอิสระส่วนปลาย (free edge) เล็บเปลี่ยนสี, ซากปรักหักพัง (ruinous aspect), เดอร์มาโตไฟโตมา (dermatophytoma)
- ผิวหนังส่วนที่ติดกับเล็บ (adjacent skin) แห้ง, มีขุย

ต่อมาในการศึกษาของ Piraccini และคณะ(35) เรื่อง Nail digital dermoscopy (Onychoscopy) in the diagnosis of onychomycosis ในปี ค.ศ. 2013 ได้มีการบรรยายถึงแผ่นเล็บส่วนที่ร่อนและเปลี่ยนเป็นสีขาว เหลือง ส้ม น้ำตาล และเทาดำ โดยสีที่เปลี่ยนจะมีความด้านและมีความสม่ำเสมอของสี (matte ‘homogeneous’ colours of the detached nail plate: white, yellow, orange, brown and grey-black; with a predominance of the white, yellow and brown in DSO) ซึ่งแตกต่างจากรูปแบบหิมะถล่มที่มีความไม่สม่ำเสมอ (distal ‘inhomogeneous’ white clods)

ดังนั้นทางคณะผู้วิจัยเชื่อว่ารูปแบบหิมะถล่ม (Avalanche pattern) เป็นรูปแบบจากเดอร์โมสโคปรูปแบบใหม่ และในการศึกษานี้ยังสามารถคำนวณความไว ความจำเพาะ ค่าพยากรณ์ผลบวก ค่าพยากรณ์ผลลบ และความถูกต้อง ของรูปแบบหิมะถล่มได้อีกด้วย

การนำไปประยุกต์ใช้ทางคลินิก

การค้นพบที่น่าสนใจและน่าจะสามารถเป็นประโยชน์ในการนำไปประยุกต์ใช้ในทางปฏิบัติได้แก่

การพบรูปแบบจากเดอร์โมสโคปทั้ง 4 รูปแบบบนเล็บผิดรูปเล็บเดียวกัน (a positive result from ‘all 4 of the 4 patterns’) จะให้ความจำเพาะกับการติดเชื้อราที่เล็บร้อยละ 100 ค่าพยากรณ์ผลบวกร้อยละ 100 แปลว่า ถ้าตรวจพบผู้ป่วยที่มาด้วยเล็บผิดรูปและสงสัยการติดเชื้อราที่เล็บ และการตรวจด้วยเดอร์โมสโคปพบรูปแบบจากเดอร์โมสโคปทั้ง 4 รูปแบบ (รูปแบบรอยหยัก รูปแบบออโรร่า รูปแบบซากปรักหักพัง รูปแบบเล็บแหว่งส่วนปลาย) ในเล็บเดียวกัน สามารถให้การวินิจฉัยการติดเชื้อราที่เล็บได้ และแพทย์ผู้ทำการรักษาอาจพิจารณาให้การรักษาต่อไปตามความเหมาะสม

ผลบวกจาก ‘การตรวจด้วยโพแตสเซียมไฮดรอกไซด์ และ การพบรูปแบบจากเดอร์โมสโคปทั้ง 4 รูปแบบบนเล็บผิดรูปเล็บเดียวกัน พร้อมกัน’ (a positive result from ‘KOH and all 4 of the 4 patterns’) ก็มีความจำเพาะร้อยละ 100 และมีค่าพยากรณ์ผลบวกร้อยละ 100 ในการวินิจฉัย

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

การติดเชื้อราที่เล็บเช่นเดียวกัน การแปลผลสามารถทำได้ในทำนองเดียวกัน แต่เมื่อคณะผู้วิจัยได้ทำการสืบค้นลงไปดูข้อมูลดิบพบว่าผู้ป่วยที่ให้ผลบวกในทั้ง 2 กลุ่มเป็นผู้ป่วยคนเดียวกัน ในทางเวชปฏิบัติจึงแนะนำให้เลือกใช้การแปลผลจากการพบรูปแบบจากเดอร์โมสโคปทั้ง 4 รูปแบบบนเล็บผิดรูปเล็บเดียวกันมากกว่า เนื่องจากสามารถใช้เดอร์โมสโคปเพียงอย่างเดียว

แต่ในทางกลับกันการพบรูปแบบจากเดอร์โมสโคปตั้งแต่ 1 รูปแบบใดๆ ขึ้นไป (a positive result from ‘at least any 1 of the 4 patterns’) ที่มีความไวในการวินิจฉัยการติดเชื้อราที่เล็บร้อยละ 100 และมีค่าพยากรณ์ผลลบร้อยละ 100 แปลว่า ถ้าตรวจพบผู้ป่วยที่มาด้วยเล็บผิดรูปและสงสัยการติดเชื้อราที่เล็บ แต่การตรวจด้วยเดอร์โมสโคปไม่พบรูปแบบใดๆ ใน 4 รูปแบบเลย (รูปแบบรอยหยัก รูปแบบออโรร่า รูปแบบซากปรักหักพัง รูปแบบเล็บแหว่งส่วนปลาย) สามารถตัดการติดเชื้อราที่เล็บออกไปได้ (excluded) และให้หาสาเหตุของเล็บผิดรูปจากภาวะอื่นแทน

ในทางเดียวกันผลบวกจาก ‘การตรวจด้วยโพแตสเซียมไฮดรอกไซด์ หรือ รูปแบบซากปรักหักพัง อย่างใดอย่างหนึ่ง’ (a positive result from ‘KOH or ruin appearance’) ที่ให้ความไวร้อยละ 100 และค่าพยากรณ์ผลลบร้อยละ 100 เป็นประโยชน์อย่างมากเช่นเดียวกันในการนำไปใช้ทางคลินิก โดยการแปลผลของค่าพยากรณ์ผลลบในกรณีนี้ใช้การอนุมานจากคณิตศาสตร์พื้นฐานในเรื่อง ‘ตรรกศาสตร์และการพิสูจน์’ (Logics & Proofs) โดยกฎของมอร์แกน (Morgan’s law)[54] ที่กล่าวไว้ว่า “นิเสธของพีหรือคิวจะเป็นสัจจะนิรันทร์กับนิเสธของพีและนิเสธของคิว”

“the negation of a disjunction is the conjunction of the negations.”

หรือสามารถเขียนสมการทางคณิตศาสตร์อย่างเป็นทางการว่า

$$‘\sim(p \vee q) \Leftrightarrow \sim p \wedge \sim q’$$

ดังนั้น ‘การตรวจด้วยโพแตสเซียมไฮดรอกไซด์ หรือ รูปแบบซากปรักหักพัง อย่างใดอย่างหนึ่ง’ที่มีค่าพยากรณ์ผลลบร้อยละ 100 สามารถแปลผลได้ว่าถ้าตรวจพบผู้ป่วยที่มาด้วยเล็บผิดรูปและสงสัยการติดเชื้อราที่เล็บ แต่การตรวจด้วยโพแตสเซียมไฮดรอกไซด์ให้ผลลบ ร่วมกับ การตรวจด้วยเดอร์โมสโคปไม่พบรูปแบบซากปรักหักพัง สามารถตัดการติดเชื้อราที่เล็บออกไปได้ (excluded) และให้หาสาเหตุของเล็บผิดรูปจากภาวะอื่นแทน

สำหรับผลบวกจาก ‘การตรวจด้วยโพแตสเซียมไฮดรอกไซด์ หรือ การพบรูปแบบจากเดอร์โมสโคปอย่างน้อย 2 รูปแบบใดๆ อย่างใดอย่างหนึ่ง’ มีความไวร้อยละ 100 และค่าพยากรณ์ผลลบร้อยละ 100 เช่นเดียวกัน และสามารถแปลผลได้ว่าถ้าตรวจพบผู้ป่วยที่มาด้วยเล็บผิดรูปและสงสัยการติดเชื้อราที่เล็บ แต่การตรวจด้วยโพแตสเซียมไฮดรอกไซด์ให้ผลลบ ร่วมกับ การตรวจด้วยเดอร์โมสโคปพบรูปแบบจากเดอร์โมสโคปไม่ถึง 2 รูปแบบในเล็บที่ผิดรูปเดียวกัน สามารถตัดการติดเชื้อราที่เล็บออกไปได้ (excluded) และให้หาสาเหตุของเล็บผิดรูปจากภาวะอื่นแทน

อย่างไรก็ตามถ้าหากผลลัพธ์จากการตรวจด้วยเดอร์โมสโคปร่วมกับการตรวจด้วยโพแตสเซียมไฮดรอกไซด์ออกมาเป็นอย่างอื่นนอกจากแบบดังกล่าวข้างต้นแล้ว ควรส่งตรวจทางห้องปฏิบัติการด้วยวิธีอื่นๆ เพิ่มเติม เช่น การเพาะเชื้อรา การตัดเล็บย้อมด้วยพิริออดิกเอซิดชิฟฟ์ และการตัดเล็บย้อมด้วยโกโมริเมทานามีนซิลเวอร์

จุดแข็งของการวิจัย

การศึกษานี้เป็นการศึกษาที่มีการส่งตรวจทางห้องปฏิบัติการที่หลากหลาย ทำให้ช่วยเปรียบเทียบค่าทางสถิติของการทดสอบต่างๆ ได้เป็นอย่างดี

การศึกษานี้น่าจะเป็นการศึกษาแรกที่นำเทคนิคการตรวจด้วยเดอร์โมสโคปมาใช้ร่วมกับการตรวจด้วยโพแตสเซียมไฮดรอกไซด์เพื่อช่วยในการวินิจฉัยการติดเชื้อราที่เล็บ ซึ่งเป็นเครื่องมือที่สามารถให้ผลการวินิจฉัยเชื้อราที่เล็บได้ภายในครั้งเดียว

นอกจากนี้การศึกษานี้ยังสามารถคำนวณและรายงานค่าความไว ความจำเพาะ ค่าพยากรณ์ผลบวก ค่าพยากรณ์ผลลบ และความถูกต้องอย่างครบถ้วน และสามารถนำไปประยุกต์ใช้ได้จริงในเวชปฏิบัติ

ข้อจำกัดในการวิจัย

อย่างไรก็ตามการวิจัยชิ้นนี้มีข้อจำกัดเรื่องขนาดตัวอย่าง (sample size) เนื่องจากขนาดตัวอย่างในตอนแรกคำนวณจากความไวของการทดสอบที่มีค่าน้อยสุดในคำถามวิจัยหลัก (primary research question) ได้แก่ การตรวจด้วยโพแตสเซียมไฮดรอกไซด์ (ความไวร้อยละ 77.1) เนื่องจากในการวิจัยก่อนหน้านี้นั้นรายงานความไวของรูปแบบจากเดอร์โมสโคปต่างๆ (รูปแบบรอยหยัก รูปแบบออโรร่า รูปแบบซากปรักหักพัง รูปแบบเล็บแหว่งส่วนปลาย) ถึงร้อยละ 100 ในการวินิจฉัยการติดเชื้อราที่เล็บ แต่จากการวิจัยนี้พบว่าความไวที่แท้จริงอยู่ที่ประมาณร้อยละ 30-90 เท่านั้น โดยมีสาเหตุจากการใช้ตัววัดมาตรฐาน (gold standard) ในการวิจัยที่ต่างกัน ซึ่งจำนวนขนาดตัวอย่างที่น้อยลงอาจจะส่งผลต่อค่าทางสถิติต่างๆ ได้ เช่น ผลบวกจากการพบรูปแบบจากเดอร์โมสโคปทั้ง 4 รูปแบบบนเล็บผิดรูปเล็บเดียวกัน (all 4 of the 4 patterns) มีความจำเพาะกับการติดเชื้อราที่เล็บร้อยละ 100 และมีค่าพยากรณ์ผลบวกร้อยละ 100 เป็นค่าสถิติที่ได้จากการคำนวณจากผู้ป่วยเพียงคนเดียว กล่าวคือ มีผู้ป่วยเพียง 1 รายจากผู้ป่วยที่ได้รับการวินิจฉัยเชื้อราที่เล็บทั้งหมด 24 ราย ที่พบรูปแบบจากเดอร์โมสโคปทั้ง 4 รูปแบบบนเล็บเดียวกัน และนำมาคำนวณเป็นค่าสถิติ

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

ปริมาณตัวอย่างเล็บ (specimen) ที่ใช้ในการส่งตรวจทางห้องปฏิบัติการมีจำกัด เนื่องจากผู้ป่วยบางรายมีเล็บส่วนที่ผิดรูปไม่มากแต่ต้องทำการส่งการทดสอบทางห้องปฏิบัติการทั้ง 5 อย่าง จึงอาจจะทำให้ความไวของการทดสอบน้อยกว่าความเป็นจริงได้

สรุปผล

เทคนิคการตรวจด้วยเดอร์โมสโคปร่วมกับการตรวจด้วยโพแตสเซียมไฮดรอกไซด์สามารถให้ความไวและความจำเพาะที่สูงในการวินิจฉัยเชื้อราที่เล็บทั้งนี้ขึ้นกับวิธีการที่นำมารวมกัน และที่สำคัญยังเป็นเครื่องมือที่สามารถให้ผลการวินิจฉัยเชื้อราที่เล็บได้ตั้งแต่ครั้งแรก โดย

สามารถให้การวินิจฉัยการติดเชื้อราที่เล็บในกรณีที่

- ตรวจพบผู้ป่วยที่มาด้วยเล็บผิดรูปและสงสัยการติดเชื้อราที่เล็บ และการตรวจด้วยเดอร์โมสโคปพบรูปแบบจากเดอร์โมสโคปทั้ง 4 รูปแบบ (รูปแบบรอยหยัก รูปแบบออโรร่า รูปแบบซากปรักหักพัง รูปแบบเล็บแหว่งส่วนปลาย) ในเล็บเดียวกัน

สามารถตัดการติดเชื้อราที่เล็บออกไป (excluded) และแนะนำให้หาสาเหตุของเล็บผิดรูปจากภาวะอื่นแทน ในกรณีต่อไปนี้

- ถ้าตรวจพบผู้ป่วยที่มาด้วยเล็บผิดรูปและสงสัยการติดเชื้อราที่เล็บ แต่การตรวจด้วยเดอร์โมสโคปไม่พบรูปแบบใดๆ ใน 4 รูปแบบเลย (รูปแบบรอยหยัก รูปแบบออโรร่า รูปแบบซากปรักหักพัง รูปแบบเล็บแหว่งส่วนปลาย)
- ถ้าตรวจพบผู้ป่วยที่มาด้วยเล็บผิดรูปและสงสัยการติดเชื้อราที่เล็บ แต่การตรวจด้วยโพแตสเซียมไฮดรอกไซด์ให้ผลลบ ร่วมกับ การตรวจด้วยเดอร์โมสโคปไม่พบรูปแบบซากปรักหักพัง
- ถ้าตรวจพบผู้ป่วยที่มาด้วยเล็บผิดรูปและสงสัยการติดเชื้อราที่เล็บ แต่การตรวจด้วยโพแตสเซียมไฮดรอกไซด์ให้ผลลบ ร่วมกับ การตรวจด้วยเดอร์โมสโคปพบรูปแบบจากเดอร์โมสโคปไม่ถึง 2 รูปแบบในเล็บที่ผิดรูปเดียวกัน

อย่างไรก็ตามจากการศึกษานี้พบว่าไม่มีการรวมกันระหว่างการตรวจด้วยเดอร์โมสโคปและการตรวจด้วยโพแตสเซียมไฮดรอกไซด์แบบใดที่ให้ความถูกต้องเทียบเท่าการตัดเล็บย้อมด้วยพิริออดิกเอซิดซิฟฟ์ในการวินิจฉัยการติดเชื้อราที่เล็บ

การตรวจด้วยวิธีพีซีอาร์มีความแตกต่างกับการตัดเล็บย้อมด้วยพิริออดิกเอซิดซิฟฟ์ในการวินิจฉัยการติดเชื้อราที่เล็บอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ข้อเสนอแนะ

รูปแบบหิมะถล่ม (Avalanche pattern) อาจจะเป็นประโยชน์ในการบอกตำแหน่งที่เชื้อราลุกลาม (invade) เข้าไปในแผ่นเล็บ การศึกษาในอนาคตเพื่อขุดเอาเนื้อเล็บที่อยู่ด้านใต้รูปแบบหิมะถล่มมาตรวจหาเชื้อราด้วยวิธีการทางห้องปฏิบัติการอาจเป็นประโยชน์เพิ่มเติมในการช่วยวินิจฉัยการติดเชื้อราที่เล็บได้

การศึกษาในอนาคตในประชากรที่มีขนาดใหญ่ รวมทั้งการเพิ่มโรคเล็บผิดรูปต่างๆ เช่น ในเกณฑ์การวินิจฉัยเข้า (inclusion criteria) เพื่อเป็นตัวควบคุมลบ (negative control) จะช่วยยืนยันการสิ่งที่ค้นพบจากการศึกษานี้ได้

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

รายการอ้างอิง

1. Elewski BE. Diagnostic techniques for confirming onychomycosis. J Am Acad Dermatol 1996;35:S6-9.

2. Stefan M. Schieke AG. Superficial Fungal Infection. Fitzpatrick's Dermatology in General Medicine 2012;2:2277-97.

3. De Crignis G, Valgas N, Rezende P, Leverone A, Nakamura R. Dermatoscopy of onychomycosis. Int J Dermatol 2014;53:e97-9.

4. Jeelani S, Ahmed QM, Lanker AM, Hassan I, Jeelani N, Fazili T. Histopathological examination of nail clippings using PAS staining (HPE-PAS): gold standard in diagnosis of Onychomycosis. Mycoses 2015;58:27-32.

5. Weinberg JM, Koestenblatt EK, Tutrone WD, Tishler HR, Najarian L. Comparison of diagnostic methods in the evaluation of onychomycosis. J Am Acad Dermatol 2003;49:193-7.

6. Davies RR. Mycological tests and onychomycosis. J Clin Pathol 1968;21:729-30.

7. Lawry MA, Haneke E, Strobeck K, Martin S, Zimmer B, Romano PS. Methods for diagnosing onychomycosis: a comparative study and review of the literature. Arch Dermatol 2000;136:1112-6.

8. Reisberger EM, Abels C, Landthaler M, Szeimies RM. Histopathological diagnosis of onychomycosis by periodic acid-Schiff-stained nail clippings. Br J Dermatol 2003;148:749-54.

9. Weinberg JM, Koestenblatt EK, Jennings MB. Utility of histopathologic analysis in the evaluation of onychomycosis. J Am Podiatr Med Assoc 2005;95:258-63.

10. Shenoy MM, Teerthanath S, Karnaker VK, Girisha BS, Krishna Prasad MS, Pinto J. Comparison of potassium hydroxide mount and mycological culture with histopathologic examination using periodic acid-Schiff staining of the nail clippings in the diagnosis of onychomycosis. Indian J Dermatol Venereol Leprol 2008;74:226-9.

11. Barak O, Asarch A, Horn T. PAS is optimal for diagnosing onychomycosis. J Cutan Pathol 2010;37:1038-40.

12. Reza Kermanshahi T, Rhatigan R. Comparison between PAS and GMS stains for the diagnosis of onychomycosis. J Cutan Pathol 2010;37:1041-4.

13. Wilsmann-Theis D, Sareika F, Bieber T, Schmid-Wendtner MH, Wenzel J. New reasons for histopathological nail-clipping examination in the diagnosis of onychomycosis. J Eur Acad Dermatol Venereol 2011;25:235-7.

14. Nazarian RM, Due B, Deshpande A, Duncan LM, Misdraji J. An improved method of surgical pathology testing for onychomycosis. J Am Acad Dermatol 2012;66:655-60.

15. Elewski BE. Onychomycosis: pathogenesis, diagnosis, and management. Clin Microbiol Rev 1998;11:415-29.

16. Mehrotra RS, Aneja KR. Historical Introduction to Mycology. An Introduction To Mycology 1990;Chapter 2:66-75.

17. Lachaud L, Sasso M, Rispail P, Bourgeois N. [Biological diagnosis of onychomycoses. Direct examination after simplified technique of PAS staining]. J Mycol Med 2014;24:279-86.

18. Feuilhade de Chauvin M. New diagnostic techniques. J Eur Acad Dermatol Venereol 2005;19 Suppl 1:20-4.

19. Hotchkiss RD. A microchemical reaction resulting in the staining of polysaccharide structures in fixed tissue preparations. Arch Biochem 1948;16:131-41.

20. Mc MJ. Histological and histochemical uses of periodic acid. Stain Technol 1948;23:99-108.

21. Kligman AM, Mescon H. The periodic acid-Schiff stain for the demonstration of fungi in animal tissue. J Bacteriol 1950;60:415-21.

22. Dion WM, Kapica L. Isolation of dermatophytes, Candida species and systemic fungi from dermatologic specimens in Montreal, 1963 to 1973. Can Med Assoc J 1975;112:712-6.

23. Grocott RG. A stain for fungi in tissue sections and smears using Gomori's methenamine-silver nitrate technic. Am J Clin Pathol 1955;25:975-9.

24. D'Hue Z, Perkins SM, Billings SD. GMS is superior to PAS for diagnosis of onychomycosis. J Cutan Pathol 2008;35:745-7.

25. Walshe MM, English MP. Fungi in nails. Br J Dermatol 1966;78:198-207.

26. English MP. Nails and fungi. Br J Dermatol 1976;94:697-701.

Chulalongkorn University

27. Luedemann GM, LeBreton E. Laboratory mill for pulverizing and homogenizing nail specimens as an aid to microscopy and culture confirmation of onychomycosis. Appl Microbiol 1972;23:814-8.

28. Zaias N. Onychomycosis. Arch Dermatol 1972;105:263-74.

29. Andre J, Achten G. Onychomycosis. Int J Dermatol 1987;26:481-90.

30. Mayer E, Izhak OB, Bergman R. Histopathological periodic acid-schiff stains of nail clippings as a second-line diagnostic tool in onychomycosis. Am J Dermatopathol 2012;34:270-3.

31. Suarez SM, Silvers DN, Scher RK, Pearlstein HH, Auerbach R. Histologic evaluation of nail clippings for diagnosing onychomycosis. Arch Dermatol 1991;127:1517-9.

32. Arrese J.E. P-FC, Greimers R. and Piérard G.E. Fungi in onychomycosis. A study by immunohistochemistry and dual flow cytometry. Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology 1995;4:123-210.

33. Baek SC, Chae HJ, Houh D, Byun DG, Cho BK. Detection and differentiation of causative fungi of onychomycosis using PCR amplification and restriction enzyme analysis. Int J Dermatol 1998;37:682-6.

34. Rothmund G, Sattler EC, Kaestle R, Fischer C, Haas CJ, Starz H, et al. Confocal laser scanning microscopy as a new valuable tool in the diagnosis of onychomycosis - comparison of six diagnostic methods. Mycoses 2013;56:47-55.

35. Piraccini BM, Balestri R, Starace M, Rech G. Nail digital dermoscopy (onychoscopy) in the diagnosis of onychomycosis. J Eur Acad Dermatol Venereol 2013;27:509-13.

36. Nakamura RC, Costa MC. Dermatoscopic findings in the most frequent onychopathies: descriptive analysis of 500 cases. Int J Dermatol 2012;51:483-5.

37. Jesus-Silva MA, Fernandez-Martinez R, Roldan-Marin R, Arenas R. Dermoscopic patterns in patients with a clinical diagnosis of onychomycosis-results of a prospective study including data of potassium hydroxide (KOH) and culture examination. Dermatol Pract Concept 2015;5:39-44.

38. Tsuboi R, Okeke CN, Inoue A, Yamazaki M, Hiruma M, Ogawa H. [Identification and viability assessment of dermatophytes infecting nail based on quantitative PCR of dermatophyte actin (ACT) mRNA]. Nihon Ishinkin Gakkai Zasshi 2002;43:91-3.

39. Arca E, Saracli MA, Akar A, Yildiran ST, Kurumlu Z, Gur AR. Polymerase chain reaction in the diagnosis of onychomycosis. Eur J Dermatol 2004;14:52-5.

40. Kardjeva V, Summerbell R, Kantardjiev T, Devliotou-Panagiotidou D, Sotiriou E, Graser Y. Forty-eight-hour diagnosis of onychomycosis with subtyping of Trichophyton rubrum strains. J Clin Microbiol 2006;44:1419-27.

41. Walberg M, Mork C, Sandven P, Jorde AT, Bjoras M, Gaustad P. 18S rDNA polymerase chain reaction and sequencing in onychomycosis diagnostics. Acta Derm Venereol 2006;86:223-6.

42. Yoshimura R, Ito Y, Morishita N, Ninomiya J, Takiuchi I. [Comparative study between culture and PCR-RFLP analysis on identification of the causative agent of Tinea Unguium]. Nihon Ishinkin Gakkai Zasshi 2006;47:11-4.

43. Garg J, Tilak R, Singh S, Gulati AK, Garg A, Prakash P, et al. Evaluation of pan-dermatophyte nested PCR in diagnosis of onychomycosis. J Clin Microbiol 2007;45:3443-5.

44. Gupta AK, Zaman M, Singh J. Fast and sensitive detection of Trichophyton rubrum DNA from the nail samples of patients with onychomycosis by a double-round polymerase chain reaction-based assay. Br J Dermatol 2007;157:698-703.

45. Savin C, Huck S, Rolland C, Benderdouche M, Faure O, Noacco G, et al. Multicenter evaluation of a commercial PCR-enzyme-linked immunosorbent assay diagnostic kit (Onychodiag) for diagnosis of dermatophytic onychomycosis. J Clin Microbiol 2007;45:1205-10.

46. Bontems O, Hauser PM, Monod M. Evaluation of a polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism assay for dermatophyte and nondermatophyte identification in onychomycosis. Br J Dermatol 2009;161:791-6.

47. Brillowska-Dabrowska A, Nielsen SS, Nielsen HV, Arendrup MC. Optimized 5-hour multiplex PCR test for the detection of tinea unguium: performance in a routine PCR laboratory. Med Mycol 2010;48:828-31.

48. Kondori N, Abrahamsson AL, Ataollahy N, Wenneras C. Comparison of a new commercial test, Dermatophyte- PCR kit, with conventional methods for rapid detection and identification of Trichophyton rubrum in nail specimens. Med Mycol 2010;48:1005-8.

49. Litz CE, Cavagnolo RZ. Polymerase chain reaction in the diagnosis of onychomycosis: a large, single-institute study. Br J Dermatol 2010;163:511-4.

50. Luk NM, Hui M, Cheng TS, Tang LS, Ho KM. Evaluation of PCR for the diagnosis of dermatophytes in nail specimens from patients with suspected onychomycosis. Clin Exp Dermatol 2012;37:230-4.

51. Pankewitz F, Nenoff P, Uhrlass S, Bezold G, Winter I, Graser Y. Development of a novel polymerase chain reaction- enzyme- linked immunosorbent assay for the diagnosis of Trichophyton rubrum onychomycosis. Br J Dermatol 2013;168:1236-42.

52. Spiliopoulou A, Bartzavali C, Jelastopulu E, Anastassiou ED, Christofidou M. Evaluation of a commercial PCR test for the diagnosis of dermatophyte nail infections. J Med Microbiol 2015;64:25-31.

53. United Nations. World Population Ageing 2015. Report. New York, Division DoEaSAP; 2015.

54. Robinson RC. A Concise Introduction to Logic, 12th edition, by Patrick Hurley. Teaching Philosophy 2015;38:132-6.

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ภาคผนวก

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ภาคผนวก ก

แบบบันทึกข้อมูล

PARTICIPANT INFORMATION			
Participant Code	Habitat		
Occupation	Gender	Age	
Date of Informed Consent	Date of Enrolment		
Diabetes	1. Yes	2. No	9. Unknown
HIV	1. Yes	2. No	9. Unknown
Immunosuppressive Agent	1. Yes	2. No	9. Unknown
Remarkable Nail Habit	1. Yes, specify		2. No
Previous Treatment within 1 Year	1. Yes, specify		2. No
PARTICIPANT PHYSICAL FINDINGS			
Cutaneous Fungal Co-Infection	1. Yes, specify		2. No
Alopecia	1. Yes, specify		2. No
Type of Dystrophic Nail	DLSO / PSO / WSO / TDO		
DERMOSCOPIC PATTERN			
Jagged proximal edge with spikes of the onycholytic area		1. Yes	2. No
Distal to proximal subungual longitudinal striae		1. Yes	2. No
"Ruin appearance" subungual keratosis		1. Yes	2. No
Distal irregular termination		1. Yes	2. No

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

DIAGNOSTIC TEST			
Direct Microscopy (KOH Preparation)	1. Positive	2. Negative	9. Not Done
Fungal Culture	1. Positive	2. Negative	9. Not Done
HPE-PAS	1. Positive	2. Negative	9. Not Done
HPE-GMS	1. Positive	2. Negative	9. Not Done
PCR	1. Positive	2. Negative	9. Not Done
DIAGNOSIS OF ONYCHOMYCOSIS			
Meet Criteria for Onychomycosis		1. Yes	2. No

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์

ชื่อ เรืออากาศเอก ชญานนท์ ชัชวาลวานิช

วันเดือนปีเกิด วันที่ 22 สิงหาคม พ.ศ. 2526 กรุงเทพมหานคร

การศึกษา

พ.ศ. 2544 มัธยมศึกษาตอนปลายโรงเรียนสาธิตแห่งมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

พ.ศ. 2550 ปริญญาแพทยศาสตรบัณฑิต วิทยาลัยแพทยศาสตร์พระมงกุฎเกล้า

พ.ศ. 2551 ประกาศนียบัตรสำเร็จหลักสูตรแพทย์เวชศาสตร์การบิน

พ.ศ. 2556 วุฒิบัตรแสดงความรู้ความชำนาญในการประกอบวิชาชีพเวชกรรม สาขาอายุรศาสตร์

พ.ศ. 2557 ประกาศนียบัตรสำเร็จหลักสูตรนายทหารชั้นผู้บังคับฝูง

การทำงาน

พ.ศ. 2550-2551 แพทย์เพิ่มพูนทักษะ โรงพยาบาลจันทรุเบกษา

พ.ศ. 2551-2553 แพทย์ใช้ทุน โรงพยาบาลกองบิน 7 สุราษฎร์ธานี

พ.ศ. 2553-2556 แพทย์ประจำบ้านอายุรกรรม โรงพยาบาลภูมิพลอดุลยเดช

พ.ศ. 2556-2558 อายุรแพทย์ โรงพยาบาลจันทรุเบกษา นครปฐม

พ.ศ. 2558-2560 นิสิตแพทย์ปริญญาโท สาขาตจวิทยา จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย