

อภิปรายผลการทดลอง

โรคราในเล็บเป็นโรคที่พบได้บ่อยทั่วโลก ในปัจจุบันมีอุบัติการณ์ 10-15% (Clayton, 1992) มีโรคเล็บหลายชนิดที่ให้ลักษณะทางคลินิกคล้ายกับการติดเชื้อราในเล็บ เช่นโรคสะเก็ดเงิน ผื่นแพ้ที่ปลายนิ้ว ดังนั้นหากต้องการการวินิจฉัยที่ถูกต้องควรจะต้องตรวจให้พบเชื้อราในเล็บร่วมด้วยก่อนที่จะเริ่มต้นการรักษาเนื่องจากยาฆ่าเชื้อราเหล่านั้นมีราคาแพงและต้องให้ติดต่อกันเป็นเวลานาน ทำให้ผู้ป่วยต้องเสียค่าใช้จ่ายมากและมีความเสี่ยงต่อการเกิดผลข้างเคียงจากยา

ในปัจจุบันวิธีการตรวจหาเชื้อราในเล็บที่เป็นวิธีที่ใช้กันทั่วไปมีสองวิธีคือการตรวจโดย Direct microscopic examination ร่วมกับการเพาะเชื้อ มีรายงานว่าการศึกษาตรวจหาเชื้อราในเล็บโดยใช้ทั้งสองวิธีร่วมกันสามารถตรวจพบเชื้อได้เพียง 30%-70% (Suarez, Silvers, Scher, Pearl, and Averbach, 1991) ส่วนวิธีการอื่นที่ใช้ในการตรวจหาเชื้อราในเล็บเช่น nail biopsy ไม่เป็นที่นิยมเนื่องจากเป็นวิธีที่ยุ่งยาก ทำให้ผู้ป่วยเจ็บ และอาจทำให้เกิด permanent nail dystrophy ได้

วัตถุประสงค์ของการวิจัยนี้คือหาวิธีที่จะตรวจหาเชื้อราในเล็บให้ได้มากขึ้นโดยการตัดแผ่นเล็บไปตรวจโดยวิธีทางห้องปฏิบัติการที่ง่าย ราคาถูก ได้ผลการตรวจเร็ว คือการใช้ 10% KOH with DMSO เพื่อเตรียมแผ่นเล็บให้อ่อนตัวก่อนนำไปย้อม PAS แล้วตรวจหาเชื้อราโดยวิธีทางพยาธิวิทยาเพื่อค้นหาผู้ป่วยที่มีเชื้อราในเล็บ โดยเฉพาะในกรณีที่ตรวจหาเชื้อไม่พบด้วยวิธีทั่วไป ทำให้สามารถค้นหาผู้ป่วยที่ติดเชื้อราในแผ่นเล็บได้เพิ่มขึ้น ซึ่งจะมีประโยชน์ในการวางแผนการรักษาต่อไป

ได้ทำการตัดเล็บ 100 แผ่น จากผู้ป่วย 100 คน (ผู้ป่วยหนึ่งคนได้รับการตัดแผ่นเล็บคนละหนึ่งแผ่น) โดยผู้ป่วยทุกคนมีลักษณะของเล็บเข้าได้กับการติดเชื้อราที่เล็บแบบ DSO เพียงแบบเดียวเนื่องจากการติดเชื้อราที่เล็บแบบอื่นไม่สามารถตัดแผ่นเล็บมาตรวจได้

แผ่นเล็บที่ทำการศึกษาทุกแผ่นจะได้รับการตรวจหาเชื้อราทางห้องปฏิบัติการสามวิธีพบว่า direct microscopic examination สามารถตรวจพบเชื้อราได้เพียง 30% ซึ่งอาจมีสาเหตุมาจากวิธีการเก็บตัวอย่างส่งตรวจไม่สามารถเก็บตรงบริเวณที่เชื้ออาศัยอยู่เนื่องจากเชื้อราส่วนใหญ่มักอาศัยอยู่ใน nail bed และ nail plate บริเวณที่ติดกับ nail bed ดังนั้นวิธีการเก็บส่งตรวจควรต้องใช้ใบมีดชุดให้ได้ขุยใต้แผ่นเล็บที่อยู่ลึกที่

สุด แต่อาจทำให้ผู้ป่วยเจ็บจึงไม่สามารถเก็บสิ่งส่งตรวจได้เพียงพอ เมื่อเปรียบเทียบผลการตรวจหาเชื้อราโดยวิธี direct microscopic examination กับวิธีทางพยาธิวิทยา จากการคำนวณทางสถิติ โดยหาค่า $Kappa = 0.32$ หมายความว่าผลการตรวจหาเชื้อราทั้งสองวิธี มีความสอดคล้องกันน้อย และเมื่อใช้ Mc Nemar's test เพื่อดูความแตกต่างของผลการตรวจโดยวิธีทั้งสองพบว่าผลการตรวจหาเชื้อราโดยวิธีทางพยาธิวิทยานั้นมีความแตกต่างจากวิธี direct microscopic examination จริงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความมีนัยสำคัญที่ 0.05

จากการตรวจหาเชื้อราโดยวิธีการเพาะเชื้อ สามารถตรวจพบเชื้อได้เพียง 25% และพบว่าขึ้นเป็น *Candida spp.* 80% ซึ่งมีแผ่นเล็บ 1 แผ่นเมื่อตรวจโดยวิธีทางพยาธิวิทยาพบเป็น hyphae อาจเป็นไปได้ว่าผู้ป่วยรายนี้ติดเชื้อสองอย่าง (mixed infection) ซึ่งเคยมีรายงานมาก่อน (Hay, 1993) หรือสายราที่พบเป็น pseudohyphae เนื่องจากผู้ป่วยรายนี้ไม่มาตามนัด จึงไม่ได้ทำการเพาะเชื้อซ้ำ

สาเหตุที่ตรวจไม่พบเชื้อในการเพาะเชื้ออาจเนื่องมาจากเชื้อที่อยู่ในสิ่งส่งตรวจ เป็นเชื้อที่ตายแล้ว ไม่สามารถเจริญเติบโตได้จึงทำให้ผลการเพาะเชื้อเป็นลบ และยังพบว่าการเพาะเชื้อนั้นมักมีแบคทีเรียและเชื้อราปนเปื้อน (contaminate) เจริญบนจานเพาะเชื้อพร้อมด้วย ซึ่งจะยับยั้งไม่ให้เชื้อก่อโรค (pathogen) เจริญขึ้นมา จากการคำนวณทางสถิติโดยคำนวณค่า $Kappa$ เพื่อดูความสอดคล้องของผลการตรวจหาเชื้อราในเล็บ ระหว่างวิธีการเพาะเชื้อและวิธีทางพยาธิวิทยาพบว่า $Kappa = 0.09$ แสดงว่าผลการตรวจหาเชื้อราจากทั้งสองวิธีให้ผลสอดคล้องกันน้อยมาก และเมื่อใช้ Mc Nemar's test เพื่อดูความแตกต่างของผลการตรวจโดยวิธีทั้งสองพบว่าผลการตรวจโดยวิธีทางพยาธิวิทยานั้นมีความแตกต่างจากวิธีการเพาะเชื้ออย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความมีนัยสำคัญที่ 0.05

การตรวจหาเชื้อราในเล็บโดยวิธีทางพยาธิวิทยา การเก็บตัวอย่างส่งตรวจควรตัดแผ่นเล็บให้มีขนาดใหญ่ที่สุดเพียงแผ่นเดียวโดยมีพื้นที่มากกว่า 3 mm. เพราะจะทำให้มีโอกาสตรวจพบเชื้อได้ง่าย ในการศึกษาครั้งนี้ไม่สามารถตัดแผ่นเล็บได้ตามขนาดที่กำหนดไว้ เนื่องจากผู้ป่วยบางรายได้ตัดเล็บก่อนมาพบแพทย์ซึ่งอาจเป็นสาเหตุหนึ่งที่ทำให้ตรวจไม่พบเชื้อเนื่องจากได้แผ่นเล็บที่มีขนาดเล็กเกินไป การเตรียมแผ่นเล็บโดยใช้ 10% KOH with DMSO โดยนำแผ่นเล็บที่ตัดได้มาแช่ในสารละลายนี้เป็นเวลานาน 30 นาที เกลี่ยแล้วใช้น้ำยาประมาณ 1-2 cc. ต่อแผ่นเล็บหนึ่งแผ่น สารละลายนี้สามารถทำให้แผ่นเล็บอ่อนตัวลงแต่ยังคงรูป โดยไม่ละลายเป็นขุย หากแช่แผ่นเล็บไว้นานกว่า 30 นาที จะทำให้แผ่นเล็บละลายเป็นขุยซึ่งไม่สามารถนำมาแยกและตรวจหาเชื้อราได้ การใช้ 10% KOH with DMSO เพื่อเตรียมแผ่นเล็บให้อ่อนตัวนั้นเป็นวิธีที่ง่าย ให้ผลรวดเร็วกว่าวิธีเดิมและราคาถูก

การตรวจหาเชื้อราในเล็บโดยวิธีทางพยาธิวิทยา นอกจากจะตรวจพบเชื้อแล้วยังสามารถบอกชนิดของเชื้อได้ว่าเป็นเชื้อกลุ่มไหน เช่น เชื้อกลากจะพบเป็นสายราซึ่งมีผนังกันส่วนยีสต์อาจพบเป็นสปอร์ซึ่งมีรูปร่างกลมรี บางครั้งอาจพบเป็น pseudohyphae ซึ่งคล้ายกับสายรา ดังนั้นการตรวจหาเชื้อและบอกชนิดของเชื้อต้องอาศัยผู้มีประสบการณ์จึงจะได้การวินิจฉัยอย่างถูกต้อง

เมื่อเปรียบเทียบการตรวจหาเชื้อราในแผ่นเล็บทั้งสามวิธีพบว่า การตรวจโดยวิธีทางพยาธิวิทยา มีโอกาสตรวจพบเชื้อได้มากที่สุด 53% เมื่อเทียบกับวิธีเพาะเชื้อและ direct microscopic examination ร่วมกัน ซึ่งพบเชื้อเพียง 43%

เมื่อเปรียบเทียบผลการตรวจหาเชื้อราในแผ่นเล็บโดยวิธีทั่วไป (direct microscope and culture) กับวิธีทางพยาธิวิทยาว่าให้ผลการตรวจสอบคล่องกันหรือไม่ จากการคำนวณทางสถิติโดยใช้ค่า Kappa พบว่า $Kappa = 0.34$ แสดงว่าผลการตรวจหาเชื้อราในเล็บโดยวิธีทั่วไปกับวิธีทางพยาธิวิทยาให้ผลสอดคล้องกันน้อย และเมื่อใช้ Mc Nemar's test เพื่อดูความแตกต่างของผลการตรวจโดยวิธีทั้งสองพบว่าผลการตรวจหาเชื้อโดยวิธีทางพยาธิวิทยานั้นไม่มีความแตกต่างจากวิธีทั่วไปจริงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความมีนัยสำคัญที่ 0.05

ในผู้ป่วย 53 ราย ที่ตรวจพบเชื้อราโดยวิธีทางพยาธิวิทยาสามารถเพาะเชื้อได้ 16 ราย ได้รับการรักษาด้วยยาฆ่าเชื้อราและหายจากโรค 11 ราย ที่เหลือ 26 รายไม่มาตรวจตามนัด จึงได้รับการรักษาไม่ต่อเนื่อง แต่แผ่นเล็บของผู้ป่วย 26 รายนี้สามารถตรวจพบเชื้อรา ซึ่งแทรกอยู่ในแผ่นเล็บและยังพบพยาธิสภาพในแผ่นเล็บคือ scale-crust, clump of bacteria, parakeratosis, collection of neutrophils ร่วมด้วยจึงน่าจะสรุปได้ว่าเชื้อราที่พบเป็นสาเหตุทำให้เกิดพยาธิสภาพที่เล็บจริง ไม่ใช่เป็นเพียงเชื้อปนเปื้อน ซึ่งมักจะพบอยู่ขอบแผ่นเล็บ

ลักษณะแผ่นเล็บที่ตรวจพบเชื้อรา มักจะพบมีพยาธิสภาพร่วมด้วย ในการศึกษานี้พบว่าแผ่นเล็บทุกแผ่นที่ตรวจพบเชื้อราจะพบพยาธิสภาพร่วมด้วย 100% ซึ่งอาจพบเป็น scale-crust, clump of bacteria, parakeratosis, collection of neutrophils และมักจะตรวจพบเชื้อในบริเวณที่มีพยาธิสภาพเหล่านี้ ดังนั้นการตรวจพบพยาธิสภาพในแผ่นเล็บที่สงสัยการติดเชื้อราจะเป็นสิ่งช่วยในการตรวจหาเชื้อได้ง่ายขึ้น

การตรวจหาเชื้อราในแผ่นเล็บโดยวิธีทางพยาธิวิทยาร่วมกับการใช้ 10% KOH with DMSO เพื่อเตรียมแผ่นเล็บให้อ่อนตัวนั้นเป็นวิธีที่ท่าง่าย ราคาไม่แพง ได้ผลการตรวจเร็วกว่าวิธีเพาะเชื้อโดยใช้เวลาเพียง 2 วัน และที่สำคัญสามารถตรวจพบเชื้อได้ดีกว่าวิธีมาตรฐาน นอกจากนี้ยังสามารถบอกได้ว่าเชื้อที่พบนั้นเป็น

เชื้อที่ก่อโรคซึ่งจะพบเชื้อแทรกอยู่ในเนื้อเส้นหรือเป็นเพียงเชื้อปนเปื้อน และยังสามารถบอกได้ว่าเชื้อที่พบนั้น เป็นเชื้อกลุ่มใด ซึ่งมีประโยชน์ในการวางแผนการรักษาต่อไป