

การทดสอบความไวของเชื้อรา Dermatophytes และ Non-dermatophytes
ต่อยา Amphotericin B, Terbinafine HCL, Griseofulvin, Ketoconazole
และ Itraconazole ณ สถาบันโรคผิวหนัง

กัญญาณัฐ ครองบุญ ปร.ด.*, พรชัย สิริศรีธัญญกุล พ.บ.*, อริยา จินตามพร ปร.ด.**,

สิริดา ยังฉิม ปร.ด.***, นวพร วรศิลป์ชัย วท.ด.****,*****,

พัชรินทร์ ธรรมสิทธิ์ วท.ด.***, ศิริพร จอแง วท.บ.***

*ภาควิชาเวชศาสตร์ป้องกันและสังคม คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย แขวงปทุมวัน
เขตปทุมวัน กรุงเทพฯ 10330

**ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย แขวงปทุมวัน เขตปทุมวัน
กรุงเทพฯ 10330

***ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ตำบลศรีภูมิ อำเภอเมือง
จังหวัดเชียงใหม่ 50200

****ภาควิชาเวชศาสตร์การธนาคารเลือดและจุลชีววิทยาคลินิก คณะสหเวชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์
มหาวิทยาลัย แขวงวังใหม่ เขตปทุมวัน กรุงเทพฯ 10330

*****Research Unit of Medical Mycology Diagnosis คณะสหเวชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
แขวงวังใหม่ เขตปทุมวัน กรุงเทพฯ 10330

Antifungal Susceptibility of Dermatophytes and Non-dermatophytes to
Amphotericin B, Terbinafine HCL, Griseofulvin, Ketoconazole and Itraconazol
at Institute of Dermatology

Kunyanat Krongboon, Ph.D.*, Pornchai Sithisarankul, M.D.*, Ariya Chindamporn, Ph.D.**,

Sirida Youngchim, Ph.D.***, Navaporn Worasilchai, Ph.D.****,*****,

Patcharin Thammasit, Ph.D.***, Siriporn Chongkae, B.Sc.***

*Department of Preventive and Social Medicine, Faculty of Medicine, Chulalongkorn
University, Pathumwan, Pathumwan, Bangkok, 10330, Thailand

**Department of Microbiology, Faculty of Medicine, Chulalongkorn University, Pathumwan,
Pathumwan, Bangkok, 10330, Thailand

***Department of Microbiology Faculty of Medicine, Chiang Mai University, Sri Phum,
Mueang, ChiangMai, 50200, Thailand

****Department of Transfusion Medicine and Clinical Microbiology, Faculty of Allied Health
Sciences,

Chulalongkorn University, Wang Mai, Pathumwan, Bangkok, 10330, Thailand

*****Research Unit of Medical Mycology Diagnosis, Faculty of Allied Health Sciences,
Chulalongkorn University, Wang Mai, Pathumwan, Bangkok, 10330, Thailand

(E-mail: k_d5058@hotmail.com)

(Received: 18 October, 2023; Revised: 17 January, 2024; Accepted: 14 June, 2024)

Abstract

Background: Superficial Fungal infections are showing an escalating resistance to existing antifungal drugs. Effectively choosing an antifungal treatment for a persistent infection relies on identifying the infectious organism(s) and conducting susceptibility testing of the organism(s) to antifungal medications. **Objective:** The study was aimed at evaluating the susceptibility of dermatophytes and non-Dermatophytes, isolated from patients at the Institute of Dermatology in Thailand, to antifungal agents including amphotericin B (AMP B), terbinafine HCL (TER), griseofulvin (GF), ketoconazole (KCZ), and itraconazole (ITR). **Method:** The research was conducted following the protocols of Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI), USA. A total of 50 isolates were examined using ITS-PCR sequencing to identify fungal species, including 17 from tinea corporis/cruris, 6 from tinea pedis, and 27 from onychomycosis. **Result:** The minimal inhibitory concentration (MIC) of AMP B, TER, GF, KCZ, and ITR against dermatophytes ranged from 0.25-4, 0.015-16, 0.06-8, 0.03-8, and 0.007-4 $\mu\text{g/ml}$, respectively. The minimal fungicidal concentration (MFC) ranges of AMP B, TER, GF, KCZ, and ITR were 0.5-4, 0.015->16, 0.06-16, 0.03->16, and 0.015-8 $\mu\text{g/ml}$, respectively. For non-dermatophytes, the MIC of AMP B, TER, GF, KCZ, and ITR ranges were 0.003->16, 0.03->16, 16->64, 0.125->16, and 0.25->16 $\mu\text{g/ml}$, while the MFC ranged from 0.03->16, 0.03->16, 16->64, 0.125->16, and 0.25->16 $\mu\text{g/ml}$, respectively. **Conclusion:** The findings suggest that non-dermatophytes, particularly *Neoscytalidium dimidiatum*, necessitate higher antifungal concentrations than dermatophytes. Terbinafine HCL may be a suitable choice for treating tinea infections caused by both dermatophytes and non-dermatophytes. The correlation between MIC and clinical outcome still needs to be determined for optimal laboratory results interpretation.

Keywords: Dermatophytes, Non-dermatophyte, Antifungal

บทคัดย่อ

ภูมิหลัง: ปัจจุบันโรคติดเชื้อราที่ผิวหนังชั้นตื้นมีการดื้อต่อยาที่ใช้รักษาเพิ่มมากขึ้น ประสิทธิภาพของการเลือกยาที่ใช้ในการรักษาขึ้นอยู่กับวิธีการวินิจฉัยชนิดและการทดสอบความไวของเชื้อต่อยาที่ใช้รักษา **วัตถุประสงค์:** การวิจัยนี้ต้องการศึกษาความไวต่อยา amphotericin B (AMP B), terbinafine HCL (TER), griseofulvin (GF), ketoconazole (KCZ) และ itraconazole (ITR) ในเชื้อรากลุ่ม dermatophytes (DMP) และ non-dermatophytes (NDM) จากผู้ป่วย ณ สถาบันโรคผิวหนัง ประเทศไทย **วิธีการ:** ทดสอบตามมาตรฐานของ CLSI สหรัฐอเมริกา เชื้อราที่ใช้ทดสอบ 50 ตัวอย่าง วินิจฉัยชนิดของเชื้อรา ด้วยวิธี ITS-PCR sequencing ประกอบด้วย 17 ตัวอย่างจากโรค tinea corporis/cruris, 6 ตัวอย่างจากโรค tinea pedis, และ 27 ตัวอย่างจากโรค onychomycosis **ผล:** ผลการศึกษาพบว่าความเข้มข้นต่ำที่สุดที่ยับยั้งการเจริญของเชื้อ (MIC) ของยา AMP B, TER, GF, KCZ, และ ITR ต่อเชื้อรากลุ่ม DMP มีค่าอยู่ในช่วง 0.25-4, 0.015-16, 0.06-8, 0.03-8, และ 0.007-4 $\mu\text{g/ml}$ ตามลำดับ และค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่ฆ่าเชื้อได้ (MFC) ของยา AMP B, TER, GF, KCZ, and ITR มีค่าอยู่ในช่วง 0.5-4, 0.015->16, 0.06-16, 0.03->16, และ 0.015-8 $\mu\text{g/ml}$ ตามลำดับ สำหรับ NDM พบว่า

ค่า MICs ของยา AMP B, TER, GF, KCZ และ ITR มีค่าอยู่ในช่วง 0.003->16, 0.03->16, 16->64, 0.125->16, และ 0.25->16 $\mu\text{g/ml}$ ในขณะที่ค่า MFCs อยู่ในช่วง 0.03->16, 0.03->16, 16->64, 0.125->16, และ 0.25->16 $\mu\text{g/ml}$ ตามลำดับ **สรุป:** ผลการวิจัยชี้ให้เห็นว่า NDM โดยเฉพาะ *Neoscytalidium dimidiatum* ต้องใช้ความเข้มข้นของยาสูงกว่า DMP อนึ่ง Terbinafine HCL อาจเป็นทางเลือกในการรักษาการติดเชื้อราที่ผิวหนังและเล็บที่เกิดจากเชื้อรากลุ่ม DMP และ NDM อย่างไรก็ตามความสัมพันธ์ระหว่างผลความไวของยาด้านเชื้อราและผลลัพธ์ทางคลินิกมีความจำเป็นต้องศึกษาต่อเพื่อความเหมาะสมในการตีความของผลทดสอบทางห้องปฏิบัติการ **คำสำคัญ:** เดอร์มาโทไฟท์, นอน-เดอร์มาโทไฟท์, ความไวของเชื้อราต่อยา

บทนำ (Introduction)

โรคกลากหมายถึงโรคที่เกิดจากการติดเชื้อรา โดยจะระบุบริเวณที่ติดเชื้อ เช่น โรคกลากที่ลำตัว หรือ โรคกลากที่เท้า โรคกลากที่เล็บมักถูกเรียกว่าโรค onychomycosis ในขณะที่โรคติดเชื้อรา dermatophytes ให้ความหมายเฉพาะเจาะจงชนิดเชื้อรากลุ่ม dermatophytes ที่ก่อให้เกิดโรค โดยมักจะก่อให้เกิดความผิดปกติบริเวณ ผื่น เล็บ และผิวหนัง

ชั้นนอกสุดซึ่งส่งผลไม่ตึงต่อการรักษาด้วยยาต้านเชื้อรา โดยเชื้อราในกลุ่ม dermatophytes ประกอบด้วย 3 genus คือ Trichophyton, Microsporum, และ Epidermophyton โรคกลากที่ลำตัว โรคกลากที่ขาหนีบ และโรคกลากที่เท้า มักให้การตอบสนองที่ดีต่อยาทาภายนอก เช่น terbinafine cream หรือ butenafine cream แต่ในกรณีที่มีโรคมีการลุกลาม ไม่ตอบสนองต่อยาทา ในผู้ป่วยภูมิคุ้มกันบกพร่อง หรือโรคกลากที่เท้าที่เป็นรุนแรง มักต้องใช้การรักษาด้วยยารับประทาน โดยยารับประทานชนิด terbinafine เป็นยาหลักที่ใช้ในการรักษาโรคกลากที่ศีรษะและโรคกลากที่เล็บซึ่งให้ผลที่ดีต่อการรักษารวมถึงมีราคาที่ไม่สูงนัก แต่อย่างไรก็ตามในกรณีโรคกลากที่ศีรษะมีการอักเสบรุนแรงจนเป็นหนองรวมตัวกันเป็นก้อน (kerion) ควรรักษาด้วยยา griseofulvin รวมทั้งหากเชื้อที่ก่อโรคคือ Trichophyton การรักษา kerion ที่ล่าช้าจะทำให้เกิดแผลเป็นและทำให้ผมไม่ขึ้นอย่างถาวรได้¹ นอกจากนี้ระยะเวลาที่ใช้ในการรักษาโรคเชื้อราที่เล็บมักต้องใช้ระยะเวลานานส่วนใหญ่มักใช้เวลา 3 ถึง 6 เดือน และมักไม่ตอบสนองต่อการรักษา โดย 50% ของผู้ป่วยมักจะกลับมาเป็นซ้ำ² โดยส่วนใหญ่การรักษาด้วยยารับประทานชนิด terbinafine จะให้ผลการรักษาที่ดี³ และมีราคาที่เหมาะสม^{2, 4-8} นอกจากนั้นการยืนยันการรักษาโรคเชื้อราที่เล็บต้องใช้การติดตามเป็นระยะเวลานาน 9 ถึง 12 เดือน เนื่องจากเล็บที่งอกขึ้นต้องใช้ระยะเวลาในการเจริญ¹ จึงทำให้การรักษาโรคเชื้อราที่เล็บต้องใช้ระยะเวลานานในการรักษา อีกทั้งการใช้ยาต้านเชื้อราที่มากขึ้นทำให้พบการดื้อต่อยาที่ใช้รักษามากขึ้น⁹ การขาดประสิทธิภาพในการใช้ยาในการรักษา รวมถึงการพบการติดเชื้อร่วมกันระหว่างเชื้อ dermatophytes กับ non-dermatophytes หรือเชื้อราชนิดยีสต์ที่พบสูงมากขึ้น ทำให้การประเมินประสิทธิภาพของยาที่จะนำมาใช้มีความจำเป็นอย่างยิ่งต่อการเลือกใช้ยาในการรักษา¹⁰ ถึงแม้ว่าการทดสอบความไวต่อยาต้านเชื้อราไม่ได้ถูกกำหนดให้เป็นมาตรฐานในการรักษา แต่การทดสอบจะทำให้ทราบถึงความไวหรือความดื้อของเชื้อต่อยาที่ใช้ในการรักษา โดยจะให้ผลความเข้มข้นของยาคต่ำที่สุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ (MIC) ส่งผลให้สามารถวางแผนการรักษาได้อย่างมีประสิทธิภาพ¹¹⁻¹³ ดังนั้นการศึกษาความไวต่อยา amphotericin B, terbinafine HCL, griseofulvin, ketoconazole และ itraconazole ในเชื้อราในกลุ่ม dermatophytes และ non-dermatophytes จึงมีความจำเป็นต้องมีการทดสอบ ซึ่งดำเนินการศึกษาตามแนวทางของ Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) ประเทศสหรัฐอเมริกา¹⁴

วัตถุและวิธีการ (Materials and Method)

รูปแบบการวิจัย (research design) เป็นการวิจัยเชิงทดลอง (experimental study) มีวัตถุประสงค์เพื่อการศึกษาความไวต่อยา amphotericin B, terbinafine HCL, griseofulvin, ketoconazole และ itraconazole ในเชื้อราในกลุ่ม dermatophytes และ non-dermatophytes ตามแนวทางของ CLSI ประเทศสหรัฐอเมริกา¹⁵ โดยมีกลุ่มตัวอย่างเป็นเชื้อรา 50 ตัวอย่าง ที่ใช้ในการศึกษาได้มาจากผู้ป่วยโรคเชื้อรา ณ สถาบันโรคผิวหนัง ตัวอย่างถูกเก็บไว้ในช่วงเดือนมกราคม พ.ศ. 2561 ถึง ธันวาคม พ.ศ. 2565 ประกอบด้วยเชื้อรา 17 ตัวอย่างจากโรค tinea corporis/cruris, 6 ตัวอย่างจากโรค tinea pedis, และ 27 ตัวอย่างจากโรค onychomycosis กลุ่มตัวอย่างประกอบด้วยเชื้อกลุ่ม dermatophytes 25 ตัวอย่าง โดยเป็นเชื้อ *Trichophyton interdigitale* 5 ตัวอย่าง, เชื้อ *Trichophyton mentagrophytes* 12 ตัวอย่าง, เชื้อ *Trichophyton rubrum* 6 ตัวอย่าง, เชื้อ *Epidermophyton floccosum* และ *Microsporum canis* 1 ตัวอย่าง และเชื้อกลุ่ม non-dermatophytes 25 ตัวอย่าง โดยเป็นเชื้อ *Neoscytalidium dimidiatum* 25 ตัวอย่าง โดยวินิจฉัยชนิดของเชื้อด้วยวิธี ITS-PCR sequencing ตามกระบวนการของ White และคณะ¹⁵ โดยใช้ universal primer ที่จำเพาะต่อ fungal ITS1 region ที่ประกอบด้วย ITS-1 forward (5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3') และ ITS-2 reverse primer (5'-GCTGCGTTCTTCATCGATGC-3') นำ PCR product ไปเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 4°C ต่อไป จากนั้นนำ PCR product ที่ได้ไปแยกใน 2% agarose gel ใน 0.5X Tris-borate-EDTA (TBE) ด้วยวิธี gel electrophoresis ใช้กระแสไฟฟ้า 100 โวลต์ จากนั้น ย้อมแถบ DNA ด้วย Ethidium bromide (1 µg/ml) นาน 5 นาที หลังจากนั้น สังเกตภายใต้แสง ultraviolet ด้วยเครื่อง Syngene G Box Gel documentation system (Syngene, Frederick, MD) และเปรียบเทียบขนาดของแถบ DNA กับ low molecular weight DNA ladder (New England Biolabs, England) และนำ ITS1 DNA ที่ได้ไปวิเคราะห์ลำดับเบส (DNA sequence) (3500 Genetic analyzer, Applied Biosystemstm, USA) จากนั้น ทำการเปรียบเทียบ DNA sequence กับฐานข้อมูล GENBANK ด้วย BLASTN (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) และระบุชนิดเชื้อได้จากเชื้อราในฐานข้อมูลที่มี ITS1 DNA sequence คล้ายกันโดยมีค่า similarity ไม่น้อยกว่า 95%¹⁶ และทำการควบคุมคุณภาพวิธีการทดสอบด้วยเชื้อมาตรฐาน (ATCC) ประกอบด้วย *Aspergillus fumigatus* ATCC MYA-3626, *Trichophyton mentagrophyte* MRL1957 ATCC

MYA-4439 และ *Candida krusei* ATCC 625817 โดยยาด้านเชื้อราที่ใช้ในการทดสอบ (antifungal drugs) ประกอบด้วย ยา amphotericin B (AMP B), terbinafine HCL (TER), ketoconazole (KCZ) และ itraconazole (ITR) จาก Sigma-Aldrich และยา griseofulvin (GF) จาก Alfa Aesar โดยยาทั้งหมดใช้ DMSO จาก Sigma-Aldrich เป็นตัวทำละลาย โดยช่วงของยาที่ใช้ทดสอบค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่ยับยั้งการเจริญของเชื้อ (MIC) ของยา amphotericin B และ ketoconazole อยู่ระหว่าง 0.03 ถึง 16 $\mu\text{g/ml}$, ยา itraconazole และ terbinafine HCL อยู่ระหว่าง 0.001 ถึง 16 $\mu\text{g/ml}$ และยา griseofulvin อยู่ระหว่าง 0.125 to 64 $\mu\text{g/ml}$ ตามแนวทางของ CLSI M38¹⁴ รวมทั้งใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ RPMI-1640 ที่ประกอบไปด้วย glutamine and phenol red และไม่มี bicarbonate โดยทำการเติมบัฟเฟอร์ชนิด 0.165 mol/L 3-(N-morpholino) propanesulfonic acid (MOPS) ทำการกรองด้วยเครื่องกรองสุญญากาศ ปรับค่า pH ให้เท่ากับ 7.0. และเก็บไว้ที่ 4°C¹⁴ และทำการเตรียมเชื้อเพื่อทำการทดสอบ (inoculum preparation) โดยนำเชื้อรากลุ่ม dermatophytes และ non-dermatophytes มาเพาะเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อชนิด potato dextrose agar (PDA) ที่อุณหภูมิ 30, 35 °C ตามลำดับ เป็นเวลา 7 วัน จากนั้นนำโคนิตีของเชื้อมาปรับความเข้มข้นสุดท้าย (final concentration) โดยการใช้ hemacytometer ให้ได้ $1-3 \times 10^3$ CFU/ml สำหรับเชื้อกลุ่ม dermatophytes และ $0.4-5 \times 10^4$

CFU/ml สำหรับเชื้อกลุ่ม non-dermatophytes¹⁴ และทำการทดสอบความไวต่อยาด้านเชื้อรา (MIC and MFC susceptibility testing) โดยการทดสอบความไวต่อยาด้านเชื้อราทำในงานเลี้ยงเชื้อชนิด 96 หลุมกันตัว U ที่ไม่มีสาร polystyrene และทำการทดสอบตามแนวทางของ clinical and laboratory standards institute ประเทศสหรัฐอเมริกา (M38 ed3: Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of filamentous fungi)¹⁵ โดยปริมาตรรวมของแต่ละหลุมเท่ากับ 200 μl ประกอบด้วยยาด้านเชื้อรา 100 μl และเชื้อ 100 μl จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35°C สำหรับเชื้อกลุ่ม dermatophytes ใช้เวลาบ่ม 5 วัน และเชื้อกลุ่ม non-dermatophytes ใช้เวลาบ่ม 2 วัน จากนั้นอ่านผลค่าการยับยั้งการเจริญเติบโตในหลุมที่มีความเข้มข้นน้อยที่สุดที่ไม่มีการเจริญ (MIC)¹⁴ จากนั้นทำการทดสอบค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อ (MFC) ด้วยการนำตัวอย่างจากหลุมที่ไม่มีการเจริญของเชื้อ ทุกหลุมมาเพาะเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อชนิด potato dextrose agar (PDA) จากนั้นทำการบ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 35°C เป็นเวลา 7 วัน และอ่านผลที่ความเข้มข้นของยาน้อยที่สุดที่ไม่มีการเจริญโดยเชื้อ 1 เชื้อทำการทดสอบ 3 ครั้ง และทำการวิเคราะห์ข้อมูลด้วยสถิติค่านิยาม (mode) นำเสนอข้อมูลด้วยค่าช่วง (range) และค่าความถี่ของการกระจายของข้อมูล อนึ่งการศึกษานี้ได้รับการอนุมัติจากคณะกรรมการวิจัยและจริยธรรม สถาบันโรคผิวหนัง (เลขเอกสาร IRB 035/2564)

ผล (Results)

ตารางที่ 1 การแสดงผลช่วงและฐานนิยมของค่า MIC และ MFC ของยา amphotericin B, ketoconazole, itraconazole, terbinafine HCL และ griseofulvin และการกระจายตัวของค่าความเข้มข้นต่ำที่สุดที่ยับยั้งการเจริญของเชื้อ (MIC) ต่อเชื้อรา 50 ตัวอย่างจากผู้ป่วย ณ สถาบันโรคผิวหนัง ประเทศไทย

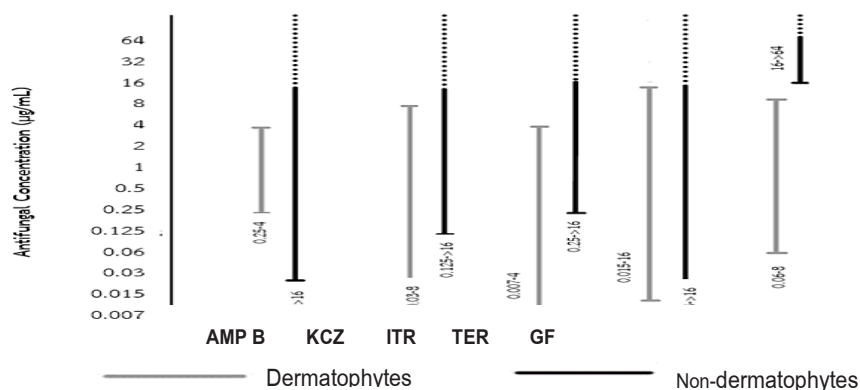
Genus/species of fungus (n = 50)		Antifungal Concentration ($\mu\text{g/ml}$)				
		AMP B	KCZ	ITR	TER	GF
Dermatophytes (n = 25)	MIC range	0.25-4	0.03-8	0.007-4	0.015-16	0.06-8
	MIC mode	1	0.5, 1	0.5	0.015	2
	MFC range	0.5-4	0.03->16	0.015-8	0.015->16	0.06-16
	MFC mode	1	16	1, 2	0.015	2
<i>T. interdigitale</i> (n = 5)	MIC range	0.25-4	0.25-2	0.125-1	0.015-16	1-4
	MIC mode	2	1	0.5, 1	0.015	2
	MFC range	1-4	0.03->16	1-8	0.015->16	2-8
	MFC mode	1, 2	0.03, 4, 8, 16, >16	8	0.015, 0.03, 0.125, 0.25, >16	2

Genus/species of fungus (n = 50)		Antifungal Concentration ($\mu\text{g/mL}$)				
		AMP B	KCZ	ITR	TER	GF
T. mentagrophytes (n = 12)	MIC range	0.5-4	0.03-4	0.007-4	0.03-16	0.06-8
	MIC mode	5	1	0.25, 0.5	0.125	4
	MFC range	0.5-4	0.06->16	0.015-8	0.06-8	0.06-16
	MFC mode	5	0.5	0.25	0.125	2, 8
T. rubrum (n = 6)	MIC range	0.5-2	0.125-8	0.125-1	0.015-0.06	0.25-2
	MIC mode	4	0.5	0.5, 1	0.015	2
	MFC range	0.5-2	0.5->16	0.125-2	0.015-0.06	0.5-2
	MFC mode	4	16	1	0.015	2
E. floccosum (n = 1)	MIC range	1	0.06	0.125	0.03	1
	MIC mode	1	0.06	0.125	0.03	1
	MFC range	1	0.06	0.125	0.03	1
	MFC mode	1	0.06	0.125	0.03	1
M. canis (n = 1)	MIC range	4	4	0.5	0.06	2
	MIC mode	4	4	0.5	0.06	2
	MFC range	4	4	0.5	0.06	2
	MFC mode	4	4	0.5	0.06	2
Non-dermatophytes (n = 25)	MIC range	0.03->16	0.125->16	0.25->16	0.03->16	16->64
	MIC mode	0.25, 4	>16	>16	2	>64
	MFC range	0.03->16	0.125->16	0.25->16	0.03->16	16->64
	MFC mode	0.25, 4	>16	>16	4	>64
N. dimidiatum (n = 25)	MIC range	0.03->16	0.125->16	0.25->16	0.03->16	16->64
	MIC mode	0.25, 4	>16	>16	2	>64
	MFC range	0.03->16	0.125->16	0.25->16	0.03->16	16->64
	MFC mode	0.25, 4	>16	>16	4	>64

Amphotericin B (AMP B), Ketoconazole (KCZ), Itraconazole (ITR), Terbinafine HCL (TER), Griseofulvin (GF), $\mu\text{g/ml}$: micrograms per milliliters

ค่าความเข้มข้นต่ำที่สุดของยา amphotericin B (AMP B) ที่ยับยั้งการเจริญของเชื้อกลุ่ม dermatophytes (MIC) มีช่วงอยู่ระหว่าง 0.25 ถึง 4 $\mu\text{g/ml}$ โดยเชื้อ *T. interdigitale* มีค่า MIC อยู่ระหว่าง 0.25 ถึง 4 $\mu\text{g/ml}$, *T. mentagrophytes* มีค่า MIC อยู่ระหว่าง 0.5 ถึง 4 $\mu\text{g/ml}$, และ *T. rubrum* มีค่า MIC อยู่ระหว่าง 0.5 ถึง 2 $\mu\text{g/ml}$ ค่าความเข้มข้นต่ำที่สุดของยา AMP B ที่สามารถฆ่าเชื้อกลุ่ม dermatophytes (MFC) มีค่าอยู่ระหว่าง 0.5 ถึง 4 $\mu\text{g/ml}$ โดยเชื้อ *T. interdigitale* มีค่าอยู่ระหว่าง 1 ถึง 4 $\mu\text{g/ml}$, *T. mentagrophytes* และ *T. rubrum* มีค่าเท่ากับ MIC สำหรับเชื้อในกลุ่ม non-dermatophytes ซึ่งประกอบไปด้วย เชื้อ *N. dimidiatum* จำนวน 25 เชื้อ ให้ค่า MIC และ MFC สำหรับยา AMP B อยู่ระหว่าง 0.03 ถึง >16 $\mu\text{g/ml}$ (ตารางที่ 1, รูปที่ 1)

ค่าความเข้มข้นต่ำที่สุดของยา ketoconazole (KCZ) ที่ยับยั้งการเจริญของเชื้อกลุ่ม dermatophytes (MIC) มีช่วงอยู่ระหว่าง 0.03 ถึง 8 $\mu\text{g/ml}$ โดยเชื้อ *T. interdigitale* มีค่า MIC อยู่ระหว่าง 0.25 ถึง 2 $\mu\text{g/ml}$, *T. mentagrophytes* มีค่า MIC อยู่ระหว่าง 0.03 ถึง 4 $\mu\text{g/ml}$, และ *T. rubrum* มีค่า MIC อยู่ระหว่าง 0.125 ถึง 8 $\mu\text{g/ml}$ ค่าความเข้มข้นต่ำที่สุดของยา KCZ ที่สามารถฆ่าเชื้อ กลุ่ม dermatophytes (MFC) มีค่าอยู่ระหว่าง 0.03 ถึง >16 $\mu\text{g/ml}$ โดยเชื้อ *T. interdigitale* มีค่าอยู่ระหว่าง 0.03 ถึง >16 $\mu\text{g/ml}$, *T. mentagrophytes* มีค่าอยู่ระหว่าง 0.06 ถึง >16 $\mu\text{g/ml}$ และ *T. rubrum* มีค่าอยู่ระหว่าง 0.5 ถึง >16 $\mu\text{g/ml}$ สำหรับเชื้อในกลุ่ม non-dermatophytes ซึ่งประกอบไปด้วยเชื้อ *N. dimidiatum* จำนวน 25 เชื้อ ให้ค่า MIC และ MFC สำหรับยา KCZ อยู่ระหว่าง 0.125 ถึง >16 $\mu\text{g/ml}$ (ตารางที่ 1, รูปที่ 1)



: Amphotericin B (AMP B), Ketoconazole (KCZ), Itraconazole (ITR), Terbinafine HCL (TER), Griseofulvin (GF), µg/ml: micrograms per milliliters

รูปที่ 1 การแสดงผลช่วงของค่า MIC ของยา amphotericin B, ketoconazole, itraconazole, terbinafine HCL และ griseofulvin ต่อเชื้อราในกลุ่ม Dermatophytes และ Non-dermatophytes จำนวน 50 ตัวอย่างจากผู้ป่วย ณ สถาบันโรคผิวหนัง

ค่าความเข้มข้นต่ำที่สุดของยา itraconazole (ITR) ที่ยับยั้งการเจริญของเชื้อกลุ่ม dermatophytes (MIC) มีช่วงอยู่ระหว่าง 0.007 ถึง 4 µg/ml โดยเชื้อ *T. interdigitale* มีค่า MIC อยู่ระหว่าง 0.125 ถึง 1 µg/ml, *T. mentagrophytes* มีค่า MIC อยู่ระหว่าง 0.007 ถึง 4 µg/ml, และ *T. rubrum* มีค่า MIC อยู่ระหว่าง 0.125 ถึง 1 µg/ml ค่าความเข้มข้นต่ำที่สุดของยา ITR ที่สามารถฆ่าเชื้อกลุ่ม dermatophytes (MFC) มีค่าอยู่ระหว่าง 0.015 ถึง 8 µg/ml โดยเชื้อ *T. interdigitale* มีค่าอยู่ระหว่าง 1 ถึง 8 µg/ml, *T. mentagrophytes* มีค่าอยู่ระหว่าง 0.015 ถึง 8 µg/ml และ *T. rubrum* มีค่าอยู่ระหว่าง 0.125 ถึง 2 µg/ml สำหรับเชื้อในกลุ่ม non-dermatophytes ซึ่งประกอบไปด้วยเชื้อ *N. dimidiatum* จำนวน 25 เชื้อ ให้ค่า MIC และ MFC สำหรับยา ITR อยู่ระหว่าง 0.125 ถึง >16 µg/ml (ตารางที่ 1, รูปที่ 1)

ค่าความเข้มข้นต่ำที่สุดของยา terbinafine hydrochloride (TER) ที่ยับยั้งการเจริญของเชื้อกลุ่ม dermatophytes (MIC) มีช่วงอยู่ระหว่าง 0.015 ถึง 16 µg/ml โดยเชื้อ *T. interdigitale* มีค่า MIC อยู่ระหว่าง 0.015 ถึง 16 µg/ml, *T. mentagrophytes* มีค่า MIC อยู่ระหว่าง 0.03 ถึง 16 µg/ml, และ *T. rubrum* มีค่า MIC อยู่ระหว่าง 0.015 ถึง 0.06 µg/ml ค่าความเข้มข้นต่ำที่สุดของยา TER ที่สามารถฆ่าเชื้อ *T. interdigitale* และ *T. rubrum* (MFC) มีค่าเท่ากับ MIC, *T. mentagrophytes* มีค่า MFC อยู่ระหว่าง 0.06 ถึง 8 µg/ml สำหรับเชื้อในกลุ่ม non-dermatophytes ซึ่งประกอบไปด้วยเชื้อ *N. dimidiatum* จำนวน 25 เชื้อ ให้ค่า MIC และ MFC สำหรับยา TER อยู่ระหว่าง 0.03 ถึง >16 µg/ml (ตารางที่ 1, รูปที่ 1)

ค่าความเข้มข้นต่ำที่สุดของยา griseofulvin (GF) ที่ยับยั้งการเจริญของเชื้อกลุ่ม dermatophytes (MIC) มีช่วงอยู่ระหว่าง 0.06 ถึง 8 µg/ml โดยเชื้อ *T. interdigitale* มีค่า MIC อยู่ระหว่าง 1 ถึง 4 µg/ml, *T. mentagrophytes* มีค่า MIC อยู่ระหว่าง 0.06 ถึง 8 µg/ml, และ *T. rubrum* มีค่า MIC อยู่ระหว่าง 0.25 ถึง 2 µg/ml ค่าความเข้มข้นต่ำที่สุดของยา GF ที่สามารถฆ่าเชื้อกลุ่ม dermatophytes (MFC) มีค่าอยู่ระหว่าง 0.06 ถึง 16 µg/ml โดยเชื้อ *T. interdigitale* มีค่าอยู่ระหว่าง 2 ถึง 8 µg/ml, *T. mentagrophytes* มีค่าอยู่ระหว่าง 0.06 ถึง 16 µg/ml และ *T. rubrum* มีค่าอยู่ระหว่าง 0.5 ถึง 2 µg/ml สำหรับเชื้อในกลุ่ม non-dermatophytes ซึ่งประกอบไปด้วยเชื้อ *N. dimidiatum* จำนวน 25 เชื้อ ให้ค่า MIC และ MFC สำหรับยา GF อยู่ระหว่าง 16 ถึง >64 µg/ml (ตารางที่ 1, รูปที่ 1)

วิจารณ์ (Discussion)

ผลการทดสอบความไวต่อยาต้านเชื้อรา กับเชื้อรา 50 ตัวอย่าง ประกอบด้วย เชื้อรา 17 ตัวอย่างจากโรค tinea corporis/cruris, 6 ตัวอย่างจากโรค tinea pedis, และ 27 ตัวอย่างจากโรค onychomycosis โดยให้ค่าความเข้มข้นต่ำที่สุดของยา amphotericin B (AMP B) ที่ยับยั้งการเจริญของเชื้อกลุ่ม dermatophytes และ non-dermatophytes (MIC) อยู่ในช่วงระหว่าง 0.25-4 µg/ml (modes: 1 µg/ml) และ 0.003 ถึง >16 µg/ml (modes: 0.25, 4 µg/ml) ตามลำดับ ซึ่งมีความแตกต่างกับ Yenisehirli และคณะ ที่ได้ทำการศึกษาในปี 2013 ได้ค่า MIC ของยา AMP B ที่ยับยั้งการเจริญของเชื้อกลุ่ม dermatophytes อยู่ในช่วงระหว่าง 0.03 ถึง 2 µg/ml¹⁸ และการศึกษาของ Singh และคณะในปี 2021

ได้ค่า MIC ของยา AMP B ที่ยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Trichophyton spp.* อยู่ในช่วงระหว่าง 0.125 ถึง 0.5 $\mu\text{g/ml}$ ¹⁹ ซึ่งได้ค่าต่ำกว่าการศึกษานี้ เช่นเดียวกับการศึกษาในปี 2011 ของ Spinel-Ingroff และคณะ ได้ค่า MIC ของยา AMP B ที่ยับยั้งการเจริญของเชื้อกลุ่ม non-dermatophytes อยู่ในช่วงระหว่าง 0.5 ถึง 2 $\mu\text{g/ml}$ ซึ่งได้ค่าต่ำกว่าการศึกษานี้เช่นกัน²⁰ ซึ่งหมายความว่าเชื้อรากลุ่ม dermatophytes และ non-dermatophytes ต้องการความเข้มข้นของยา AMP B ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อเพิ่มมากขึ้นกว่าในอดีต แต่อย่างไรก็ตามการศึกษาของ Yu และคณะในปี 2007 พบว่าเชื้อ *T.rubrum* ที่สัมผัสกับยา AMP B จะส่งผลให้เชื้อราเกิดการลดลงของการแสดงออกของยีนส์ FKS1, SUN4, DW699324, GAS1, DW681613, SPS1, DW703091, STE7, DW703091, DW695308 ส่งผลให้ผนังเซลล์ของเชื้อราไม่แข็งแรง และทำให้กระบวนการส่งสัญญาณภายในเชื้อราได้รับผลกระทบ²¹ ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Gupta และ Venkataraman ในปี 2021 ที่พบว่าการดื้อต่อยาของเชื้อราสามารถเกิดได้เองตามธรรมชาติ หรือพัฒนาให้เกิดขึ้นเมื่อได้รับการสัมผัสกับยาต้านเชื้อราอย่างต่อเนื่องทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของเชื้อราในด้านพันธุกรรม⁹ สนับสนุนภาวะเชื้อราดื้อยา AMP B ที่พบในประเทศไทย

ผลการศึกษานี้ให้ค่าความเข้มข้นต่ำที่สุดของยา terbinafine HCL (TER) ที่ยับยั้งการเจริญของเชื้อกลุ่ม dermatophytes และ non-dermatophytes (MIC) มีช่วงอยู่ระหว่าง 0.015-16 $\mu\text{g/ml}$ (modes: 0.015-0.125 $\mu\text{g/ml}$) และ 0.03-16 $\mu\text{g/ml}$ (modes: 1-2 $\mu\text{g/ml}$) ตามลำดับ ซึ่งให้ผลการศึกษาคล้ายกับ Yenisehirli และคณะ ในปี 2013 ได้ค่า MIC ของยา TER ที่ยับยั้งการเจริญของเชื้อกลุ่ม dermatophytes อยู่ในช่วงระหว่าง 0.007 ถึง 0.5 $\mu\text{g/ml}$ ¹⁸ มีความคล้ายคลึงกับผลการศึกษาของ Mukherjee และคณะในปี 2003 พบว่าเชื้อกลุ่ม dermatophytes ได้ค่า MIC ของยา TER $\leq$ 0.25 $\mu\text{g/ml}$ แต่แตกต่างกันสำหรับค่า MIC ของเชื้อ *T.rubrum* โดยได้ค่า $\geq$ 0.5 $\mu\text{g/ml}$ ²² ซึ่งให้ค่าที่สูงกว่าในการศึกษานี้ ที่ให้ค่า MIC modes ของเชื้อ *T.rubrum* เท่ากับ 0.015 $\mu\text{g/ml}$ รวมทั้งผลการศึกษาค่า MIC ของเชื้อ *N.dimidiatum* ที่ให้ค่า MIC modes เท่ากับ 2 $\mu\text{g/ml}$ ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Lacroix and de Chauvin ในปี 2008 ที่ได้ค่า MIC อยู่ระหว่าง 0.06-2 $\mu\text{g/ml}$ ²⁰ ซึ่งนับว่าเชื้อรากลุ่ม dermatophytes และ non-dermatophytes ต้องการความเข้มข้นของยา TER ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อในปริมาณที่ไม่มากขึ้น แต่อย่างไรก็ตามการศึกษาของ Gupta และ Venkataraman ในปี 2021 พบว่าการดื้อต่อยาของเชื้อราสามารถเกิดได้เองตามธรรมชาติ หรือพัฒนาให้เกิดขึ้นเมื่อได้รับการสัมผัสกับยาต้าน

เชื้อราอย่างต่อเนื่องทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของเชื้อราในด้านพันธุกรรม⁹ ซึ่งการดื้อต่อยา terbinafine HCL สามารถเกิดจากกลายพันธุ์แบบ point mutation ของยีน squalene epoxidase²³

ผลการศึกษานี้ให้ค่าความเข้มข้นต่ำที่สุดของยา griseofulvin (GF) ที่ยับยั้งการเจริญของเชื้อกลุ่ม dermatophytes และ non-dermatophytes อยู่ในช่วงระหว่าง 0.06 ถึง 8 และ 16 ถึง $> 64 \mu\text{g/ml}$ ตามลำดับ โดยผลการศึกษาของ Yenisehirli และคณะในปี 2013 ที่ได้รายงานค่า MIC ของเชื้อ *T.rubrum* อยู่ระหว่าง 0.03 ถึง 2 $\mu\text{g/ml}$ มีความคล้ายคลึงกับการศึกษานี้ที่ให้ค่า MIC mode เท่ากับ 2 $\mu\text{g/ml}$ แต่สำหรับเชื้อ *T.mentagrophyte* ให้ค่า MIC อยู่ในช่วง 0.03 ถึง 16 $\mu\text{g/ml}$ ซึ่งแตกต่างจากการศึกษานี้ที่ให้ค่าอยู่ช่วง 0.06 ถึง 8 $\mu\text{g/ml}$ ¹⁸ ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Gupta และ Venkataraman ในปี 2021 ที่พบการอุบัติของการดื้อยาแบบหลายชนิดในเชื้อ *T.mentagrophytes* และ *T.interdigitale*⁹ และสอดคล้องกับการศึกษาของ Machouart และคณะในปี 2013 ที่รายงานค่าเชื้อ *N.dimidiatum* ดื้อต่อยา GF ซึ่งการศึกษานี้ให้ค่า MIC modes $> 64 \mu\text{g/ml}$ ²⁴ ซึ่งนับว่าเชื้อรากลุ่ม non-dermatophytes ต้องการความเข้มข้นของยา GF ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อในปริมาณที่เพิ่มมากขึ้นกว่าในอดีต เช่นเดียวกับการศึกษาของ Martins และคณะ ในปี 2016 ที่ทำการศึกษาพบว่า ABC transporter genes (mdr2, mdr4) ของเชื้อในกลุ่ม *Trichophyton spp.* ทำงานสอดคล้องกันและมีผลต่อการรักษาเชื้อกลุ่มนี้ที่ดื้อต่อยา griseofulvin²⁵ ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Gupta และ Venkataraman ในปี 2021 พบว่าการดื้อต่อยาของเชื้อราสามารถเกิดได้เองตามธรรมชาติ หรือพัฒนาให้เกิดขึ้นเมื่อได้รับการสัมผัสกับยาต้านเชื้อราอย่างต่อเนื่องทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของเชื้อราในด้านพันธุกรรม⁹ สนับสนุนภาวะเชื้อราดื้อยา GF ที่อาจแพร่ขยายในประเทศตุรกี บราซิล ฝรั่งเศส รวมทั้งในประเทศไทย

ผลการศึกษานี้ให้ค่าความเข้มข้นต่ำที่สุดของยา ketoconazole (KCZ) ที่ยับยั้งการเจริญของเชื้อกลุ่ม dermatophytes และ non-dermatophytes อยู่ในช่วงระหว่าง 0.03 ถึง 8 และ 0.125 ถึง $>16 \mu\text{g/ml}$ ตามลำดับ โดยในปี 2013 Yenisehirli และคณะ ได้รายงานค่า MIC ของเชื้อ *T. rubrum* อยู่ในช่วงระหว่าง 0.03 ถึง 1 $\mu\text{g/ml}$ ซึ่งต่ำกว่าการศึกษานี้ที่ได้ผลอยู่ระหว่าง 0.125 ถึง 8 $\mu\text{g/ml}$ อีกทั้งได้รายงานผล MIC ของเชื้อ *T.mentagrophyte* ซึ่งมีค่าเท่ากับการศึกษานี้เท่ากับ 0.03 ถึง 4 $\mu\text{g/ml}$ ¹⁸ และสอดคล้องกับการศึกษาของ Machouart และคณะ ในปี 2013 ที่รายงานค่า เชื้อ *N.dimidiatum* ดื้อต่อยา KCZ ซึ่งการศึกษานี้ให้ค่า MIC modes $>64 \mu\text{g/ml}$ รวมทั้งให้ผลสอดคล้องกับการศึกษาของ Machouart และคณะ ในปี 2013 ที่รายงาน

ว่าเชื้อ *N.dimidiatum* ตื้อต่อยา KCZ ซึ่งการศึกษานี้ให้ค่า MIC modes >16 $\mu\text{g/ml}$ ²⁴ ซึ่งนับว่าเชื้อราในกลุ่ม dermatophytes และ non-dermatophytes ต้องการความเข้มข้นของยา KCZ ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อเพิ่มมากขึ้นกว่าในอดีต เช่นเดียวกับการศึกษาของ Yu และคณะในปี 2007 ที่พบว่าเชื้อ *T.rubrum* ที่สัมผัสกับยา KCZ ส่งผลให้เกิดการแสดงออกของยีนส์คือยา ABC1 ที่เพิ่มขึ้น²¹ ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Gupta และ Venkataraman ในปี 2021 พบว่าการดื้อต่อยาของเชื้อราสามารถเกิดได้เองตามธรรมชาติ หรือพัฒนาให้เกิดขึ้นเมื่อได้รับการสัมผัสกับยาด้านเชื้อราอย่างต่อเนื่องทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของเชื้อราในด้านพันธุกรรม⁹ สนับสนุนภาวะเชื้อราดื้อยา KCZ ที่อาจแพร่ขยายไปในประเทศตุรกี ฝรั่งเศส รวมทั้งในประเทศไทย

ผลการศึกษานี้ให้ค่าความเข้มข้นต่ำที่สุดของยา itraconazole (ITR) ที่ยับยั้งการเจริญของเชื้อกลุ่ม dermatophytes และ non-dermatophytes อยู่ในช่วงระหว่าง 0.007 ถึง 4 และ 0.25 ถึง >16 $\mu\text{g/ml}$ ตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Yenışehirli และคณะในปี 2013 ที่ได้รายงานค่า MIC ของยา ITR ต่อเชื้อ *T. rubrum* อยู่ระหว่าง 0.03-1 $\mu\text{g/ml}$ โดยการศึกษานี้ให้ค่าอยู่ระหว่าง 0.125-1 $\mu\text{g/ml}$ แต่ให้ผลแตกต่างกันสำหรับเชื้อ *T.mentagophyte* ที่ให้ค่าอยู่ระหว่าง 0.03-0.5 $\mu\text{g/ml}$ ¹⁸ เช่นเดียวกับการศึกษาของ Singh และคณะในปี 2021 ได้ค่า MIC ของยา ITR ที่ยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Trichophyton* spp. อยู่ในช่วงระหว่าง 0.03 ถึง 8 $\mu\text{g/ml}$ ¹⁹ ซึ่งให้ค่าที่สูงกว่าการศึกษานี้ที่ให้ค่าระหว่าง 0.007-4 $\mu\text{g/ml}$ อีกทั้งผลการศึกษานี้ให้ผลสอดคล้องกับการศึกษาของ Machouart และคณะในปี 2013 ที่รายงานว่าเชื้อ *N.dimidiatum* ตื้อต่อยา ITR ซึ่งการศึกษานี้ให้ค่า MIC modes > 16 $\mu\text{g/ml}$ ²⁴ ซึ่งนับว่าเชื้อราในกลุ่ม non-dermatophytes ต้องการความเข้มข้นของยา ITR ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อในปริมาณที่เพิ่มมากขึ้นกว่าในอดีต

ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Ksiezopolska และ Gabaldón ในปี 2018 ที่พบว่าเชื้อในกลุ่ม non-dermatophytes เกิดการดื้อต่อยาในกลุ่ม azole ตั้งเดิม ประกอบด้วยยา itraconazole และ fluconazole รวมทั้งพบการดื้อต่อยาในกลุ่ม azoles ซึ่งพบว่าการดื้อต่อยา azoles สามารถเกิดจากกลายพันธุ์แบบ point mutation ของยีน ERG 1124 สนับสนุนภาวะเชื้อราดื้อยา ITR ที่อาจแพร่ขยายไปในประเทศตุรกี ฝรั่งเศส เนเธอร์แลนด์ รวมทั้งในประเทศไทย

จากผลการศึกษานี้แสดงให้เห็นว่าเชื้อราในกลุ่ม non-dermatophytes โดยเฉพาะเชื้อ *N.dimidiatum* ต้องการความเข้มข้นของยาด้านเชื้อรามากกว่าเชื้อราในกลุ่ม dermatophytes อีกทั้งยังสอดคล้องกับการศึกษาของ Ely และคณะในปี 2014 ที่รายงานว่าการใช้ยา terbinafine HCL ทั้งชนิดทาและรับประทานเหมาะสมในการใช้รักษาหลักในโรคเชื้อราที่ศีรษะและที่เล็บซึ่งให้ผลการรักษาที่ดีและมีราคาที่ไม่สูงนัก¹

สรุป (Conclusion)

ยา terbinafine HCL อาจจะใช้เป็นยารักษาโรคติดเชื้อราที่มีสาเหตุจากเชื้อราในกลุ่ม dermatophytes และ non-dermatophytes แต่อย่างไรก็ตามควรมีการศึกษาค้นคว้าความสัมพันธ์ระหว่างผลความไวของยาด้านเชื้อราทางห้องปฏิบัติการและผลลัพธ์ทางคลินิก เพื่อให้เกิดประโยชน์สูงสุดในการรักษาโรคเชื้อราต่อไป

กิตติกรรมประกาศ (Acknowledgements)

การวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนจากทุนวิจัยรัชดาภิเษก สมโภช คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย และกองทุนสนับสนุนงานวิชาการ กรมการแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข

เอกสารอ้างอิง (References)

1. Ely JW, Rosenfeld S, Seabury Stone M. Diagnosis and management of tinea infections. *Am Fam Physician* 2014;90(10):702-10.
2. Sigurgeirsson B, Olafsson JH, Steinsson JB, Paul C, Billstein S, Evans EG. Long-term effectiveness of treatment with terbinafine vs itraconazole in onychomycosis: a 5-year blinded prospective follow-up study. *Arch Dermatol* 2002;138(3):353-7.
3. Volk B, Tiu A, St Anna L. Clinical Inquiry: which oral antifungal works best for toenail onychomycosis? *J Fam Pract*. 2013;62(2):100-1.
4. Crawford F, Young P, Godfrey C, Bell-Syer SE, Hart R, Brunt E, et al. Oral treatments for toenail onychomycosis: a systematic review. *Arch Dermatol* 2002;138(6):811-6.
5. Epstein E. How often does oral treatment of toenail onychomycosis produce a disease-free nail? An analysis of published data. *Arch Dermatol* 1998;134(12):1551-4.
6. Evans EG, Sigurgeirsson B. Double blind, randomised study of continuous terbinafine compared with intermittent itraconazole in treatment of toenail onychomycosis. The LION Study Group. *Bmj* 1999;318(7190):1031-5.
7. Gupta AK, Cooper EA, Lynde CW. The efficacy and safety of terbinafine in children. *Dermatol Clin* 2003;21(3):511-20.
8. Gupta AK, Cooper EA, Paquet M. Recurrences of dermatophyte toenail onychomycosis during long-term follow-up after successful treatments with mono- and combined therapy of terbinafine and itraconazole. *J Cutan Med Surg* 2013;17(3):201-6.
9. Gupta AK, Venkataraman M. Antifungal resistance in superficial mycoses. *J Dermatolog Treat* 2022;33(4):1888-95.
10. Gupta AK, Renaud HJ, Quinlan EM, Shear NH, Piguat V. The growing problem of antifungal resistance in onychomycosis and other superficial mycoses. *Am J Clin Dermatol* 2021;22(2):149-57.
11. Badali H, Mohammadi R, Mashedi O, de Hoog GS, Meis JF. In vitro susceptibility patterns of clinically important Trichophyton and Epidermophyton species against nine antifungal drugs. *Mycoses* 2015;58(5):303-7.
12. Dogra S, Shaw D, Rudramurthy SM. Antifungal drug susceptibility testing of dermatophytes: laboratory findings to clinical implications. *Indian Dermatol Online J* 2019;10(3):225-33.
13. Rezaei-Matehkolaei A, Khodavaisy S, Alshahni MM, Tamura T, Satoh K, Abastabar M, et al. In vitro antifungal activity of novel triazole efinaconazole and five comparators against dermatophyte Isolates. *Antimicrob Agents Chemother* 2018;62(5):e02423-17.
14. CLSI. Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Filamentous Fungi. 3rd ed. Pennsylvania (PA): CLSI; 2017.
15. White TJ, Bruns T, Lee S, Taylor J. 38 - AMPLIFICATION AND DIRECT SEQUENCING OF FUNGAL RIBOSOMAL RNA GENES FOR PHYLOGENETICS. In: Innis MA, Gelfand DH, Sninsky JJ, White TJ, editors. *PCR Protocols*. San Diego: Academic Press; 1990. p. 315-22.
16. Jang JH, Lee JH, Ki CS, Lee NY. Identification of clinical mold isolates by sequence analysis of the internal transcribed spacer region, ribosomal large-subunit D1/D2, and β -tubulin. *Ann Lab Med* 2012;32(2):126-32.
17. CLSI. Performance Standards for Antifungal Susceptibility Testing of Filamentous Fungi. 1st ed. CLSI supplement M61. Pennsylvania (PA): CLSI; 2017.
18. Yenişehirli G, Tunçoğlu E, Yenişehirli A, Bulut Y. In vitro activities of antifungal drugs against dermatophytes isolated in Tokat, Turkey. *Int J Dermatol* 2013;52(12):1557-60.

เอกสารอ้างอิง (References)

19. Singh A, Singh P, Meis JF, Chowdhary A. In vitro activity of the novel antifungal olorofim against dermatophytes and opportunistic moulds including *Penicillium* and *Talaromyces* species. *J Antimicrob Chemother*. 2021;76(5):1229-33.
20. Espinel-Ingroff A, Cuenca-Estrella M, Fothergill A, Fuller J, Ghannoum M, Johnson E, et al. Wild-type MIC distributions and epidemiological cutoff values for amphotericin B and *Aspergillus* spp. for the CLSI broth microdilution method (M38-A2 document). *Antimicrob Agents Chemother* 2011;55(11):5150-4.
21. Yu L, Zhang W, Wang L, Yang J, Liu T, Peng J, et al. Transcriptional profiles of the response to ketoconazole and amphotericin B in *Trichophyton rubrum*. *Antimicrob Agents Chemother* 2007;51(1):144-53.
22. Mukherjee PK, Leidich SD, Isham N, Leitner I, Ryder NS, Ghannoum MA. Clinical *Trichophyton rubrum* strain exhibiting primary resistance to terbinafine. *Antimicrob Agents Chemother* 2003;47(1):82-6.
23. Santos HL, Lang EAS, Segato F, Rossi A, Martinez-Rossi NM. Terbinafine resistance conferred by multiple copies of the salicylate 1-monooxygenase gene in *Trichophyton rubrum*. *Med Mycol* 2018;56(3):378-81.
24. Machouart M, Menir P, Helenon R, Quist D, Desbois N. Scytalidium and scytalidiosis: what's new in 2012? *J Mycol Med* 2013;23(1): 40-6.
25. Martins MP, Franceschini ACC, Jacob TR, Rossi A, Martinez-Rossi NM. Compensatory expression of multidrug-resistance genes encoding ABC transporters in dermatophytes. *J Med Microbiol* 2016;65(7):605-10.